

DERIVADOS DE PIPERIDINILPIRIDINILCARBONITRILLO COMO INHIBIDORES DE LA GLUTAMINIL-PÉPTIDO CICLOTRANSFERASA Y PROTEÍNA SIMILAR A GLUTAMINIL-PÉPTIDO CICLOTRANSFERASA

CAMPO TÉCNICO

La presente divulgación provee ciertos derivados de piperidinilpiridinilcarbonitrilo, y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, que son inhibidores de la glutaminil-péptido ciclotransferasa (QPCT) y proteína similar a glutaminil-péptido ciclotransferasa (QPCTL), y por lo tanto son útiles para el tratamiento de enfermedades tratables por inhibición de QPCT/L. También se proveen composiciones farmacéuticas que los contienen, y procesos para preparar dichos compuestos.

ANTECEDENTES

La glutaminil-péptido ciclotransferasa (QPCT) y la proteína similar a glutaminil-péptido ciclotransferasa (QPCTL) catalizan la ciclización intramolecular de residuos glutamina N-terminal (Q) para dar ácido piroglutámico (pE) liberando amoníaco [Stephan Schilling et al., “Identification of Human Glutaminyl Cyclase as a Metalloenzyme POTENT INHIBITION BY IMIDAZOLE DERIVATIVES AND HETEROCYCLIC CHELATORS,” *Journal of Biological Chemistry* 278, nro. 50 (2003): 49773–79, <https://doi.org/10.1074/jbc.m309077200>; Holger Cynis et al., “Isolation of an Isoenzyme of Human Glutaminyl Cyclase: Retention in the Golgi Complex Suggests Involvement in the Protein Maturation Machinery,” *Journal of Molecular Biology* 379, nro. 5 (2008): 966–80, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2008.03.078>; Anett Stephan et al., “Mammalian Glutaminyl Cyclases and Their Isoenzymes Have Identical Enzymatic Characteristics,” *FEBS Journal* 276, nro. 22 (2009): 6522–36, <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07337.x>]. Mientras que QPCT es una proteína secretada, QPCTL es retenida dentro del complejo de Golgi. Ambas enzimas comparten una alta homología en el sitio activo y una especificidad catalítica similar. A causa de la alta homología en el sitio activo, la inhibición del sitio activo bloquea la actividad enzimática de ambas enzimas: QPCT y QPCTL. Entonces el término “QPCT/L” describe a ambas enzimas a la vez. Debido a su localización celular diferente, se han observado diferencias en su relevancia en la modificación de sustratos biológicos. Los sustratos conocidos de QPCTL intracelular y/o QPCT extracelular son CD47 [Meike E. W. Logtenberg et al., “Glutaminyl Cyclase Is an Enzymatic Modifier of the CD47- SIRPα Axis and a

Target for Cancer Immunotherapy,” *Nature Medicine* 25, nro. 4 (2019): 612–19, <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0356-z>], diferentes quimiocinas (como por ejemplo CCL2 y 7 o CX3CL1) [Rosa Barreira da Silva et al., “Loss of the Intracellular Enzyme QPCTL Limits Chemokine Function and Reshapes Myeloid Infiltration to Augment Tumor Immunity,” *Nature Immunology* 23, nro. 4 (2022): 568–80, <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01153-x>; Astrid Kehlen et al., “N-Terminal Pyroglutamate Formation in CX3CL1 Is Essential for Its Full Biologic Activity,” *Bioscience Reports* 37, nro. 4 (2017): BSR20170712, <https://doi.org/10.1042/bsr20170712>], péptidos beta amiloides [Cynis et al., “Isolation of an Isoenzyme of Human Glutaminyl Cyclase: Retention in the Golgi Complex Suggests Involvement in the Protein Maturation Machinery.”] u hormonas como TRH [Andreas Becker et al., “IsoQC (QPCTL) Knock-out Mice Suggest Differential Substrate Conversion by Glutaminyl Cyclase Isoenzymes,” *Biological Chemistry* 397, nro. 1 (2016): 45–55, <https://doi.org/10.1515/hsz-2015-0192>]. La modificación de glutamina N-terminal a piroglutamato en los sustratos tiene consecuencias funcionales para las proteínas y podría impactar sobre diferentes mecanismos patológicos en diversas enfermedades. CD47 se expresa en la superficie celular de casi todas las células del organismo, incluyendo células apoptóticas, células senescentes y células cancerosas. [Meike E.W. Logtenberg, Ferenc A. Scheeren, and Ton N. Schumacher, “The CD47-SIRPα Immune Checkpoint,” *Immunity* 52, nro. 5 (2020): 742–52, <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.04.011>]. El ligando principal para CD47 es la proteína alfa reguladora de señal (SIRPα), un receptor transmembrana inhibitorio presente en las células mieloides, como por ejemplo macrófagos, monocitos, neutrófilos, células dendríticas y otras. La modificación mediada por QPCTL de piroglutamato N-terminal en CD47 es necesaria para la unión a SIRPα [Deborah Hatherley et al., “Paired Receptor Specificity Explained by Structures of Signal Regulatory Proteins Alone and Complexed with CD47,” *Molecular Cell* 31, nro. 2 (2008): 266–77, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.05.026>; Meike E. W. Logtenberg et al., “Glutaminyl Cyclase Is an Enzymatic Modifier of the CD47- SIRPα Axis and a Target for Cancer Immunotherapy,” *Nature Medicine* 25, nro. 4 (2019): 612–19, <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0356-z>]. Este eje de señalización induce una señal de “no me comas”, evadiendo la fagocitosis de células que expresan CD47 por parte de macrófagos. De este modo, la alta expresión de CD47 está relacionada con la patogénesis del cáncer [Logtenberg et al., “Glutaminyl Cyclase Is an Enzymatic Modifier of the CD47- SIRPα Axis and a Target for Cancer Immunotherapy,” 2019; Meike E.W. Logtenberg, Ferenc A. Scheeren, and Ton N. Schumacher, “The CD47-SIRPα Immune

Checkpoint,” *Immunity* 52, nro. 5 (2020): 742–52, <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.04.011>.], COVID-19 [Katie-May McLaughlin et al., “A Potential Role of the CD47/SIRPalpha Axis in COVID-19 Pathogenesis,” *Current Issues in Molecular Biology* 43, nro. 3 (2021): 1212–25, <https://doi.org/10.3390/cimb43030086>.], fibrosis pulmonar [Gerlinde Wernig et al., “Unifying Mechanism for Different Fibrotic Diseases,” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114, nro. 18 (2017): 4757–62, <https://doi.org/10.1073/pnas.1621375114>; Lu Cui et al., “Activation of JUN in Fibroblasts Promotes Pro-Fibrotic Programme and Modulates Protective Immunity,” *Nature Communications* 11, nro. 1 (2020): 2795, <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16466-4>.], esclerosis sistémica [Wernig et al., “Unifying Mechanism for Different Fibrotic Diseases”; Tristan Lerbs et al., “CD47 Prevents the Elimination of Diseased Fibroblasts in Scleroderma,” *JCI Insight* 5, nro. 16 (2020): e140458, <https://doi.org/10.1172/jci.insight.140458>.] y fibrosis hepática [Taesik Gwag et al., “Anti-CD47 Antibody Treatment Attenuates Liver Inflammation and Fibrosis in Experimental Non-alcoholic Steatohepatitis Models,” *Liver International* 42, nro. 4 (2022): 829–41, <https://doi.org/10.1111/liv.15182>.]. Dado que la expresión aumentada de CD47 bloquea la eliminación de la células apoptóticas, se acumulan células epiteliales pulmonares apoptóticas, conduciendo a un estímulo profibrótico y acelerando la inflamación y fibrosis pulmonar [Alexandra L. McCubrey and Jeffrey L. Curtis, “Efferocytosis and Lung Disease,” *Chest* 143, nro. 6 (2013): 1750–57, <https://doi.org/10.1378/chest.12-2413>; Brennan D. Gerlach et al., “Efferocytosis Induces Macrophage Proliferation to Help Resolve Tissue Injury,” *Cell Metabolism*, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.10.015>.]. Debido a que la vida media y función de CD47 depende mayormente de la actividad enzimática de QPCTL, la inhibición de QPCTL y QPCTL podría ser un mecanismo adecuado como tratamiento de fibrosis pulmonar, como por ejemplo IPF o SSC-ILD [Lerbs et al., “CD47 Prevents the Elimination of Diseased Fibroblasts in Scleroderma.”], solo o combinado con un fármaco estándar actual para fibrosis pulmonar como Nintedanib [Luca Richeldi et al., “Efficacy and Safety of Nintedanib in Idiopathic Pulmonary Fibrosis,” *The New England Journal of Medicine* 370, nro. 22 (2014): 2071–82, <https://doi.org/10.1056/nejmoa1402584>; Kevin R Flaherty et al., “Nintedanib in Progressive Fibrosing Interstitial Enfermedades pulmonares,” *New England Journal of Medicine* 381, nro. 18 (2019): 1718–27, <https://doi.org/10.1056/nejmoa1908681>.] o tratamientos futuros como un inhibidor de PDE4 [Luca Richeldi et al., “Trial of a Preferential

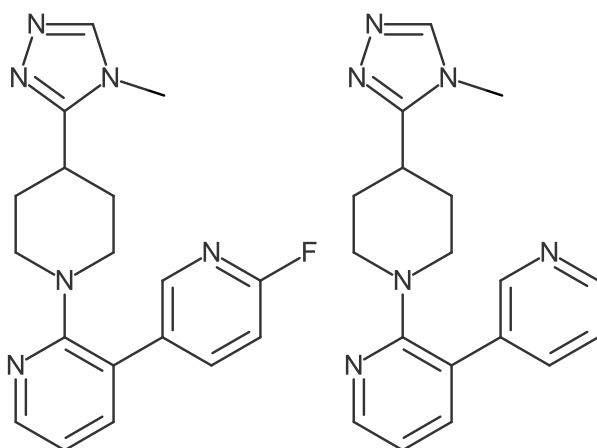
Phosphodiesterase 4B Inhibitor for Idiopathic Pulmonary Fibrosis,” *New England Journal of Medicine* 386, nro. 23 (2022): 2178–87, <https://doi.org/10.1056/nejmoa2201737>].

Por expresión de CD47, las células cancerosas pueden evadir la destrucción por parte del sistema inmunológico o evadir la vigilancia inmunológica, por ejemplo evadiendo la fagocitosis por parte de células inmunes [Stephen B. Willingham et al., “The CD47-Signal Regulatory Protein Alpha (SIRPa) Interaction Is a Therapeutic Target for Human Solid Tumors,” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, nro. 17 (2012): 6662–67, <https://doi.org/10.1073/pnas.1121623109>].

Además de CD47, se han identificado quimiocinas, como por ejemplo CCL2 y CX3CL1, como sustratos de QPCTL y/o QPCT [Holger Cynis et al., “The Isoenzyme of Glutaminyl Cyclase Is an Important Regulator of Monocyte Infiltration under Inflammatory Conditions,” *EMBO Molecular Medicine* 3, nro. 9 (2011): 545–58, <https://doi.org/10.1002/emmm.201100158>]. Se ha demostrado que la formación de pGlu N-terminal aumentó la actividad *in vivo*, tanto proporcionando resistencia a las aminopeptidasas como aumentando su capacidad para inducir la señalización de receptores de quimioquina. Dos importantes quimioatrayentes de monocitos, CCL2 y CCL7, son insensibles a la inactivación por DPP4 *in vivo* a causa de un mecanismo intracelular de ciclización N-terminal mediado por la enzima asociada a Golgi QPCTL. Se ha demostrado que QPCTL es un regulador crítico de la migración de monocitos hacia tumores sólidos [Kaspar Bresser et al., “QPCTL Regulates Macrophage and Monocyte Abundance and Inflammatory Signatures in the Tumor Microenvironment,” *Oncoimmunology* 11, nro. 1 (2022): 2049486, <https://doi.org/10.1080/2162402x.2022.2049486>; Rosa Barreira da Silva et al., “Loss of the Intracellular Enzyme QPCTL Limits Chemokine Function and Reshapes Myeloid Infiltration to Augment Tumor Immunity,” *Nature Immunology*, 2022, 1–13, <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01153-x>]. Hce tiempo se considera al direccionamiento de quimiocinas como una estrategia potencial para modular el tráfico celular en diferentes situaciones de enfermedad.

Por lo tanto es deseable proveer inhibidores potentes de QPCT/L.

Jimenez-Sanchez, et al., *Nature Chemical Biology*, 2015, 11, 347-357, (en adelante “J-S, NCB 2015”) describe los inhibidores de la glutaminil ciclasa humana (hQC) SEN177 y SEN180:



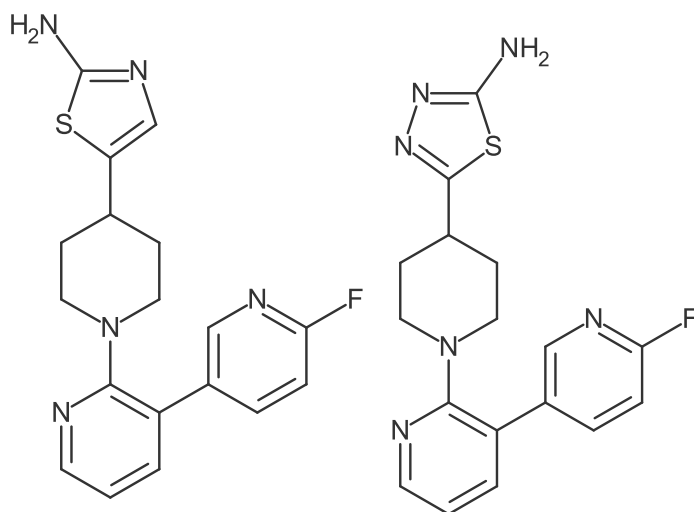
SEN177

SEN180

En la misma se divulga (información suplementaria) que SEN177 tiene un IC_{50} sobre hQC aislada de 53 nM y sobre QPCTL aislada de 13 nM. En la misma se divulga (información suplementaria) que SEN180 tiene un IC_{50} sobre hQC de 170 nM y sobre QPCTL de 58 nM.

Pozzi, C, et al, Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2018, 23, (8), 1219-1226, (en adelante “P, JBIC 2018”), describe adicionalmente SEN177 y su forma de unión dentro de la pocillo de hQC. En la misma se divulga que SEN177 tiene un K_i sobre hQC aislado de 20 nM.

WO 2018/178384 describe inhibidores de QPCTL de la fórmula general A-B-D-E, que incluyen los ejemplos 1094 y 1095 (Fórmula (XIIa) en la página 123 y la tabla en la página 125):

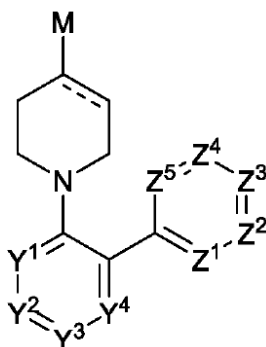


1094

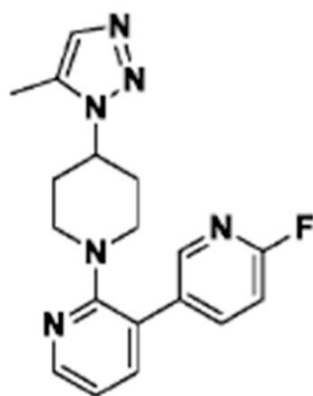
1095

WO 2018/178384 no divulga datos biológicos para los ejemplos 1094 y 1095.

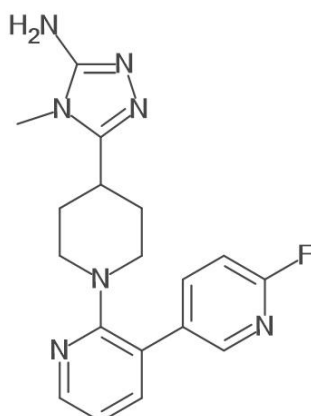
WO 2022/086920 describe inhibidores de QPCTL de la fórmula general



que incluyen los compuestos 3 y 6:

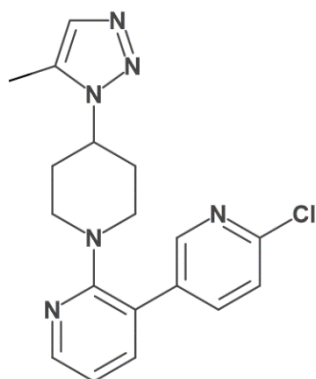


Compuesto 3



Compuesto 6

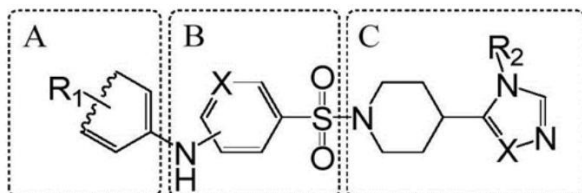
El nombre químico del Compuesto 3 se divulga en WO 2022/086920 como “1-(1-(6'-cloro-[3,3'-bipiridin]-2-il)piperidin-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-amina” que no corresponde a la estructura química divulgada en el mismo, sino a una estructura alternativa en donde el átomo de flúor se reemplaza por cloro:



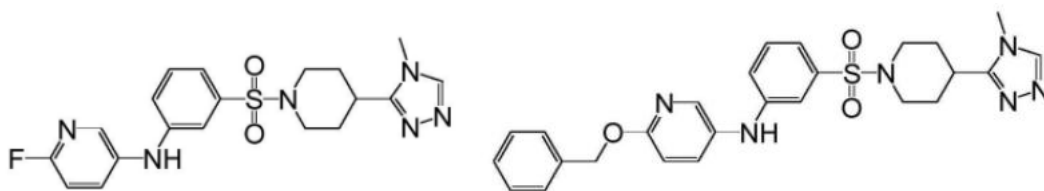
Compuesto alternativo 3

Los Compuestos 3 (incluyendo el compuesto alternativo 3) y 6 de WO 2022/086920 se describen en la misma [00343] con una actividad inhibitoria sobre QPCTL aislado de $IC_{50} < 1\mu M$.

CN 114874186 describe inhibidores de la isoenzima glutamina acil ciclasa de la fórmula general



que incluyen los ejemplos 21 y 23 (tabla en la página 17):



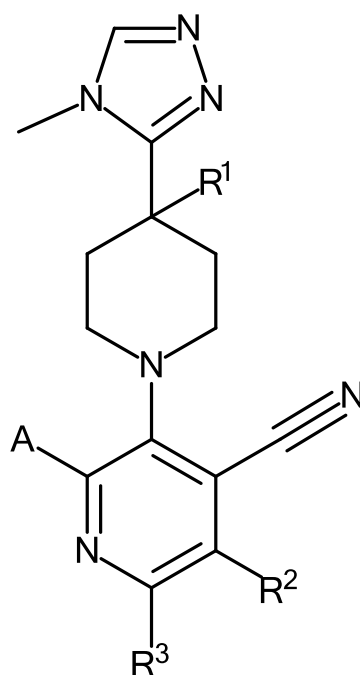
Ejemplo 21

Ejemplo 23

Los IC_{50} que se proveen en CN 114874186 para los ejemplos 21 y 23 son 29,22 nM y 11,26 nM respectivamente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención describe derivados novedosos de piperidinilpiridinilcarbonitrilo de fórmula (I)



(I)

que son inhibidores de la glutaminil-péptido ciclotransferasa (QPCT) y proteína similar a glutaminil-péptido ciclotransferasa (QPCTL), y poseen propiedades farmacológicas y farmacocinéticas apropiadas que posibilitan su uso como medicamentos para el tratamiento de condiciones médicas y/o enfermedades tratables por inhibición de QPCT/L.

Los compuestos de la presente invención pueden proporcionar distintas ventajas, como por ejemplo potencia mejorada, potencia celular, alta estabilidad metabólica y/o química, alta selectividad, seguridad y tolerabilidad, solubilidad mejorada, permeabilidad mejorada, unión a proteína plasmática deseable, biodisponibilidad mejorada, perfiles farmacocinéticos adecuados, y la posibilidad de formar sales estables.

Compuestos de la invención

La presente invención provee derivados novedosos de piperidinilpiridinilcarbonitrilo que, de manera sorprendente, son inhibidores potentes de QPCT y QPCTL (Ensayo A), así como también inhibidores potentes de QPCT/L en células relevantes, de manera no limitante, para enfermedades pulmonares o cáncer, (Ensayo B).

Además, los presentes derivados novedosos de piperidinilpiridinilcarbonitrilo tienen una permeabilidad de membrana apropiada y un eflujo *in vitro* bajo (Ensayo C).

En consecuencia, los compuestos de la presente invención son más viables para uso humano.

Los compuestos de la presente invención difieren estructuralmente de SEN177 y SEN180 de J-S, NCB 2015, en que un sustituyente carbonitrilo se une en posición orto relativa a la posición de unión al anillo piperidinilo del anillo piridilo. Además, el anillo piridilo, incluyendo el anillo piperidinilo al que se une, en total está trisustituido o tetrasustituido. Adicionalmente, **R**¹ no se encuentra limitado a hidrógeno, y **A** representa sistemas de anillos heterocíclicos sustituidos más allá de piridinilo.

Los compuestos de la presente invención difieren estructuralmente de los ejemplos 1094 y 1095 de WO 2018/178384 en que un sustituyente carbonitrilo se une en posición orto relativa a la posición de unión al anillo piperidinilo del anillo piridilo. Además, el anillo piridilo, incluyendo el anillo piperidinilo al que se une, en total está trisustituido o tetrasustituido. Adicionalmente, **R**¹ no se encuentra limitado a hidrógeno y **A** representa sistemas de anillos heterocíclicos más allá de piridinilo. Adicionalmente, el anillo heterocíclico de 5 miembros unido al anillo piperidinilo en posición 4 relativa al nitrógeno de piperidinilo en el ejemplo 1094 es un anillo aminotiazolilo y en el ejemplo 1095 es un anillo aminotiadiazolilo, mientras que en los compuestos de la presente invención es un anillo 4-metil-4H-1,2,4-triazolilo 3-sustituido.

Los compuestos de la presente invención difieren estructuralmente de los compuestos 3 (incluyendo el compuesto alternativo 3) y 6 de WO 2022/086920 en que un sustituyente carbonitrilo se une en posición orto relativa a la posición de unión al anillo piperidinilo del anillo piridilo. Además, el anillo piridilo, incluyendo el anillo piperidinilo al que se une, en total está trisustituido o tetrasustituido. Adicionalmente, **R**¹ no se encuentra limitado a hidrógeno, y **A** representa sistemas de anillos heterocíclicos más allá de piridinilo. Adicionalmente, el anillo heterocíclico de 5 miembros “M” de la fórmula general de WO 2022/086920 en el compuesto 3 es un regioisómero del anillo 4-metil-4H-1,2,4-triazolilo 3-sustituido de los compuestos de la presente invención, y el anillo heterocíclico de 5 miembros “M” de la fórmula general de WO 2022/086920 en el compuesto 4 es un anillo 4-metil-4H-1,2,4-triazolilo 3-sustituido como en compuestos de la presente invención, pero incluye un grupo amino.

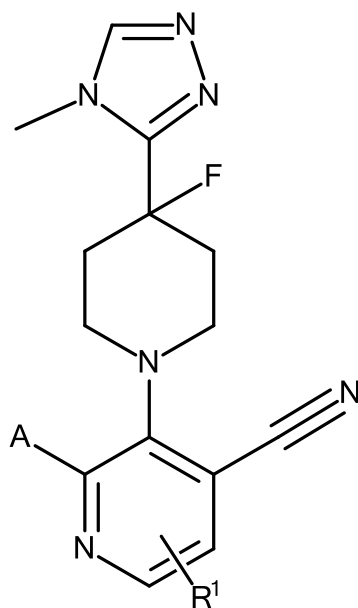
Los compuestos de la presente invención difieren estructuralmente de los compuestos 21 y 23 de CN114874186 en que la unidad sulfonamida central que une el anillo piperidinilo al anillo fenilo se reemplaza por un enlace directo y el anillo fenilo se reemplaza por un anillo piridilo. Además, un sustituyente carbonitrilo se une en posición orto relativa a la posición de unión al anillo piperidinilo de dicho anillo piridilo. Además, el anillo piridilo, incluyendo el anillo piperidinilo al que se une, en total está trisustituido o tetrasustituido. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención no contienen un ligando amino entre dicho anillo fenilo y un anillo cíclico adicional.

Estas diferencias estructurales entre los compuestos de la presente invención y el arte anterior conducen inesperadamente a una combinación favorable de (i) inhibición potente de QPCT y QPCTL, (ii) inhibición potente de QPCT/L en células relevantes, de manera no limitante, para enfermedades pulmonares o cáncer, y (iii) una permeabilidad de membrana apropiada y un eflujo *in vitro* bajo.

Los compuestos de la invención entonces son superiores a los descritos en el arte anterior en términos de combinación de los siguientes parámetros:

- inhibición potente de QPCT y QPCTL (Ensayo A)
- inhibición potente de QPCT/L en células relevantes, de manera no limitante, para enfermedades pulmonares o cáncer (Ensayo B)
- permeabilidad de membrana apropiada y eflujo *in vitro* bajo (Ensayo C)

La presente invención provee compuestos novedosos de acuerdo con la fórmula (I)



(I)

donde

A es **A1a** que es un anillo heteroarilo monocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno o dos miembros heteroatómicos seleccionados entre el grupo que consiste en nitrógeno y oxígeno;

donde al menos uno de los miembros heteroatómicos es nitrógeno;

o **A** es **A1b** que es un anillo heteroarilo bicíclico fusionado de 9 o 10 miembros que contiene entre uno y cuatro miembros heteroatómicos seleccionados entre el grupo que consiste en nitrógeno y oxígeno, donde al menos uno de los miembros heteroatómicos es nitrógeno;

y donde **A** está opcionalmente sustituido en forma independiente con uno o dos **R**²;

R¹ se selecciona entre el grupo **R1a**, que consiste en H, C₁₋₄-alquilo, C₁₋₄-alquiloxi, hidroxi-C₁₋₄-alquilo, F₁₋₉-fluoro-C₁₋₄-alquilo y F₁₋₈-fluoro-C₃₋₅-cicloalquilo;

R² se selecciona entre el grupo **R2a**, que consiste en halo, NH₂, C₁₋₆-alquilo, F₁₋₉-fluoro-C₁₋₆-alquilo, C₁₋₄-alquil-O-H₂CH₂C-O-, F₁₋₉-fluoro-C₁₋₄-alquiloxi y CH₃S(O);

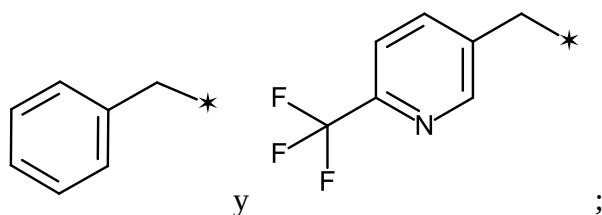
o

R² se selecciona entre el grupo **R2b**, que consiste en fenilo, piridinilo, isoxazolilo, oxazolilo, pirazolilo y tiofenilo;

donde **R2b** está opcionalmente sustituido en forma independiente con uno o dos **R**³;

o

R² se selecciona entre el grupo **R2c**, que consiste en



R³ es **R3a**, seleccionado entre halo, C₁₋₄-alquilo, C₁₋₄-alquiloxi, HO-C₁₋₄-alquilo o CN;

o una sal de los mismos, particularmente una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (**I**), donde **A** es **A2** que es un anillo heteroarilo monocíclico de 6 miembros que contiene uno o dos miembros heteroatómicos seleccionados entre nitrógeno;

donde **A** está opcionalmente sustituido en forma independiente con uno o dos **R²**;

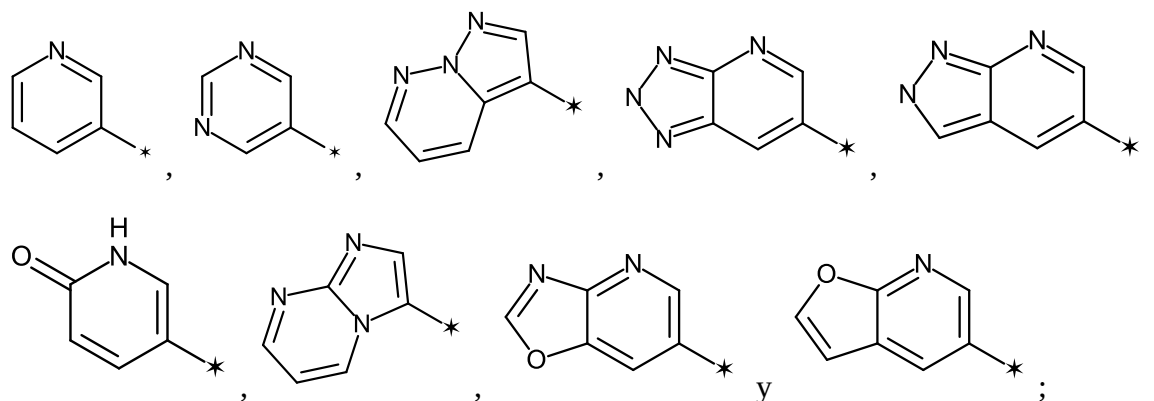
y los sustituyentes **R¹**, **R²** y **R³** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (**I**), donde **A** es el grupo **A3** que consiste en piridinilo, pirimidinilo, pirazolo[1,5-b]piridazinilo, 2H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridinilo, pirazolo[3,4-b]piridinilo, 1,2-dihidropiridin-2-onilo, imidazo[1,2-a]pirimidinilo, [1,3]oxazolo[4,5-b]piridinilo y furo[2,3-b]piridinilo;

y donde **A** está opcionalmente sustituido en forma independiente con uno o dos **R²**;

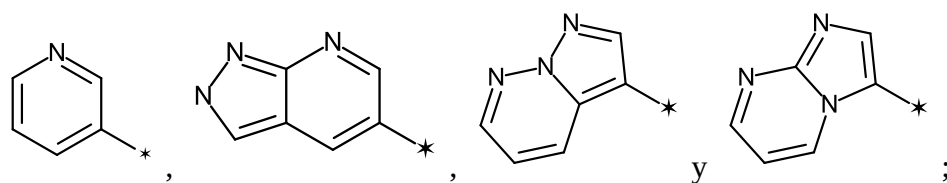
y los sustituyentes **R¹**, **R²** y **R³** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (**I**), donde **A** se selecciona entre el grupo **A4** que consiste en



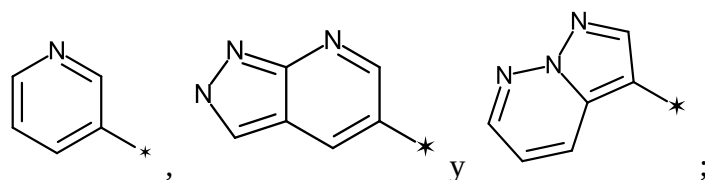
y donde **A** está opcionalmente sustituido en forma independiente con uno o dos **R²**;
y los sustituyentes **R¹**, **R²** y **R³** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (**I**), donde **A** se selecciona entre el grupo **A5** que consiste en



y donde **A** está opcionalmente sustituido en forma independiente con uno o dos **R²**;
y los sustituyentes **R¹**, **R²** y **R³** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (**I**), donde **A** se selecciona entre el grupo **A6** que consiste en

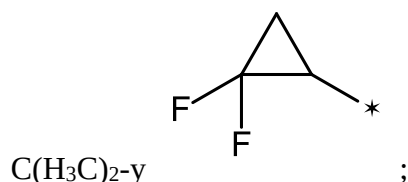


y donde **A** está opcionalmente sustituido en forma independiente con uno o dos **R²**;
y los sustituyentes **R¹**, **R²** y **R³** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

R¹ se selecciona entre el grupo **R1b**, que consiste en H, C₁₋₄-alquilo, C₁₋₄-alquiloxi, hidroxi-C₁₋₄-alquilo, F₁₋₃-fluoro-C₁₋₄-alquilo y F₁₋₃-fluoro-C₃₋₅-cicloalquilo;

y los sustituyentes **A**, **R**² y **R**³ se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (**I**), donde **R**¹ se selecciona entre el grupo **R1c**, que consiste en H, H₃C-O-, F₃C, HO-



y los sustituyentes **A**, **R**² y **R**³ se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (**I**), donde **R**² se selecciona entre el grupo **R2d**, que consiste en F, Cl, NH₂, C₁₋₆-alquilo, C₁₋₄-alquil-O-H₂CH₂C-O- y CH₃S(O);

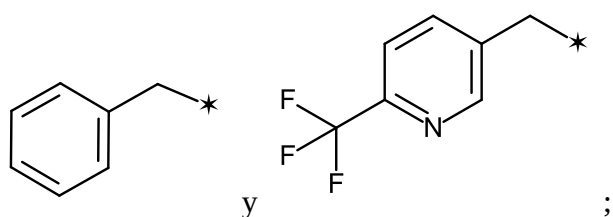
o

R² se selecciona entre el grupo **R2e**, que consiste en fenilo, piridinilo, isoxazolilo, oxazolilo, pirazolilo y tiofenilo;

donde **R2e** está opcionalmente sustituido en forma independiente con uno o dos **R**³;

o

R² se selecciona entre el grupo **R2c**, que consiste en



y los sustituyentes **A**, **R**¹ y **R**³ se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (**I**), donde **R**² se selecciona entre el grupo **R2f**, que consiste en F, Cl, NH₂, H₃C-O-H₂CH₂C-O- y CH₃S(O);

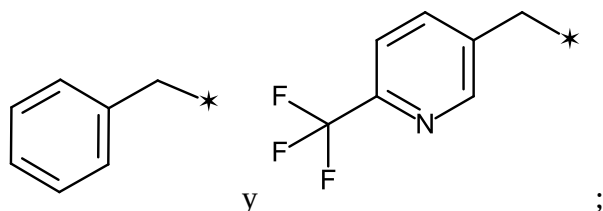
o

R² se selecciona entre el grupo **R2e**, que consiste en fenilo, piridinilo, isoxazolilo, oxazolilo, pirazolilo y tiofenilo;

donde **R2e** está opcionalmente sustituido en forma independiente con uno o dos **R³**;

o

R² se selecciona entre el grupo **R2c**, que consiste en

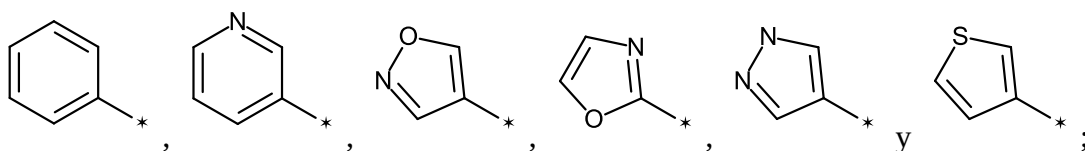


y los sustituyentes **A**, **R¹** y **R³** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (**I**), donde **R²** se selecciona entre el grupo **R2f**, que consiste en F, Cl, NH₂, H₃C-O- H₂CH₂C-O- y CH₃S(O);

o

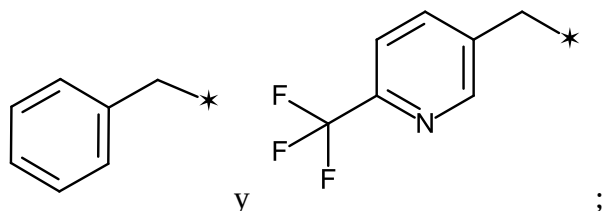
R² se selecciona entre el grupo **R2g**, que consiste en



donde **R2g** está opcionalmente sustituido en forma independiente con uno o dos **R³**;

o

R² se selecciona entre el grupo **R2c**, que consiste en

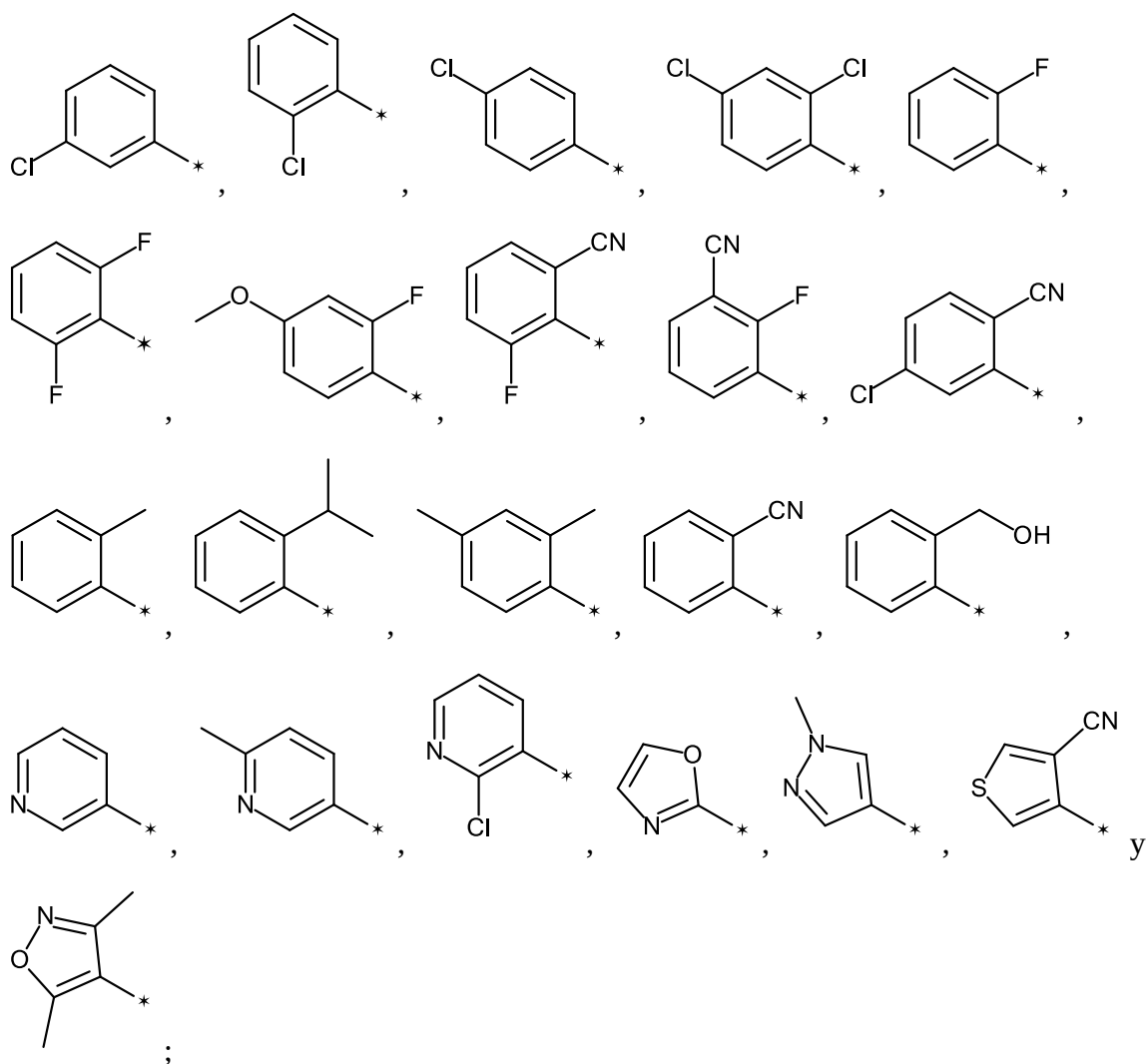


y los sustituyentes **A**, **R¹** y **R³** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (**I**), donde **R²** se selecciona entre el grupo **R2f**, que consiste en F, Cl, NH₂, H₃C-O- H₂CH₂C-O- y CH₃S(O);

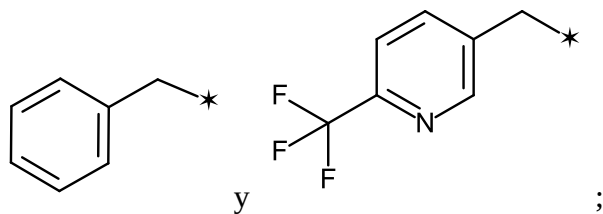
0

R² se selecciona entre el grupo **R2h**, que consiste en



0

R² se selecciona entre el grupo **R2c**, que consiste en

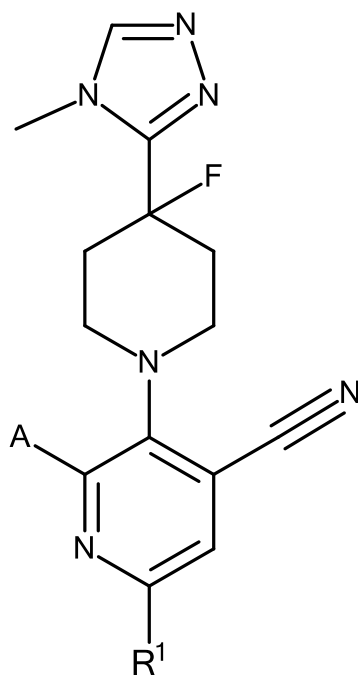


y los sustituyentes **A** y **R¹** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (I), donde **R³** es **R^{3b}**, seleccionado entre F, Cl, H₃C, isopropilo, H₃C-O-, HO-H₂C o CN;

y los sustituyentes **A**, **R¹**, y **R²** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

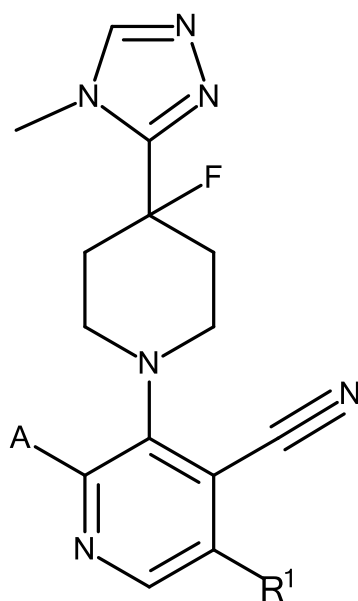
Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (I), de fórmula (1-a)



(1-a)

y los sustituyentes **A**, **R²** y **R³** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

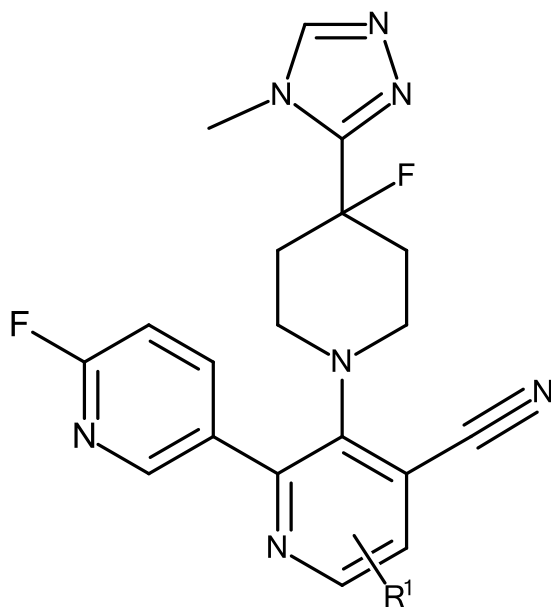
Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (I), de fórmula (1-b)



(1-b)

y los sustituyentes A , R^2 y R^3 se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

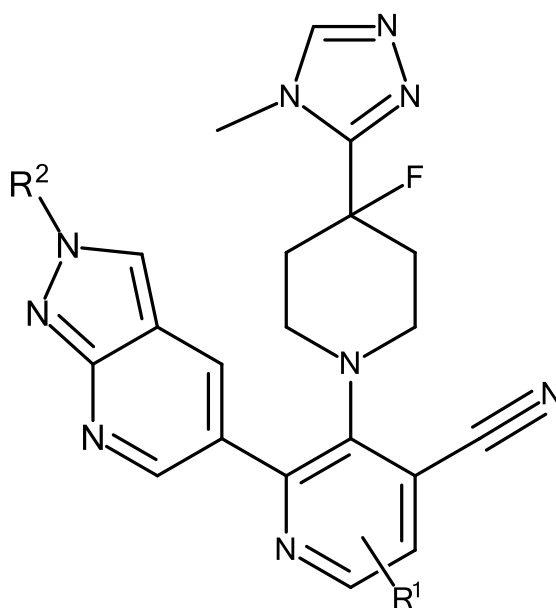
Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (I), de fórmula (1-c)



(1-c)

donde el sustituyente R^1 se define como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

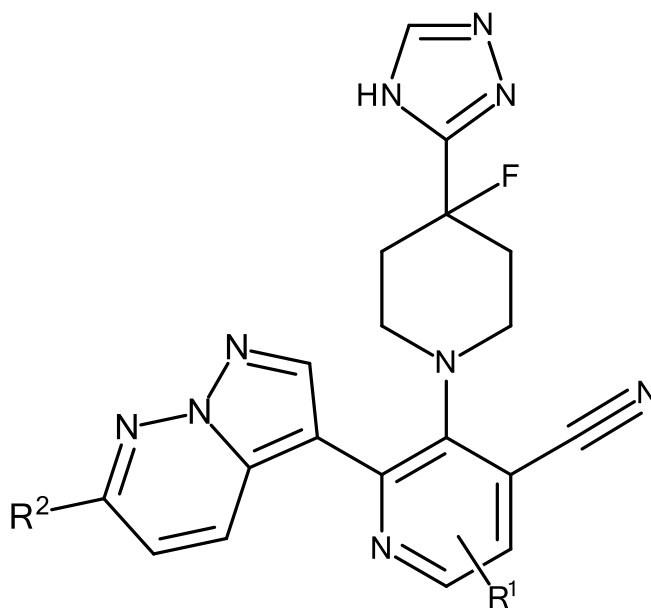
Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (I), de fórmula (1-d)



(1-d)

y los sustituyentes **R¹**, **R²** y **R³** se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

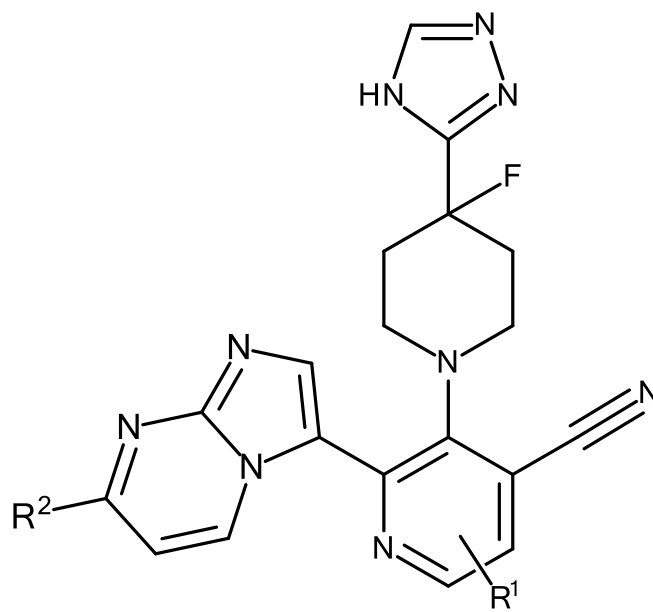
Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (I), de fórmula (1-e)



(1-e)

y los sustituyentes R^1 , R^2 y R^3 se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

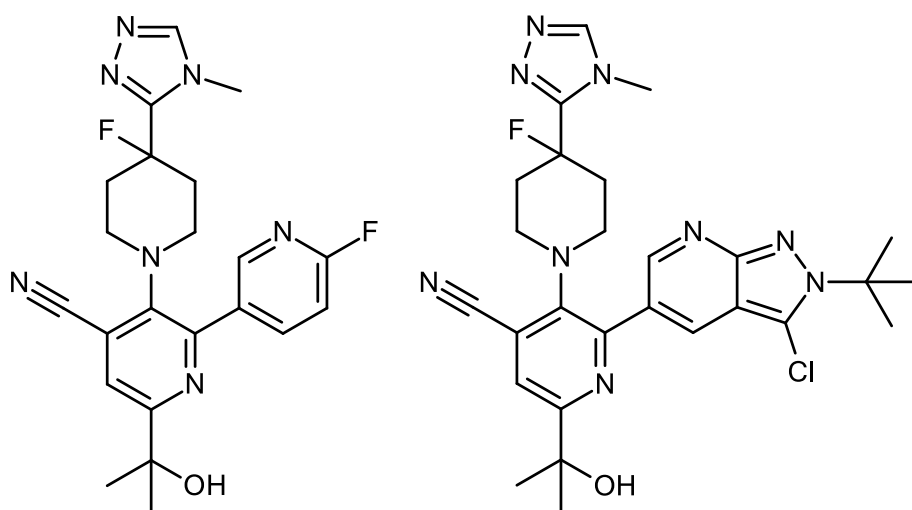
Otra forma de realización de la presente invención se relaciona con un compuesto de fórmula (I), de fórmula (1-f)

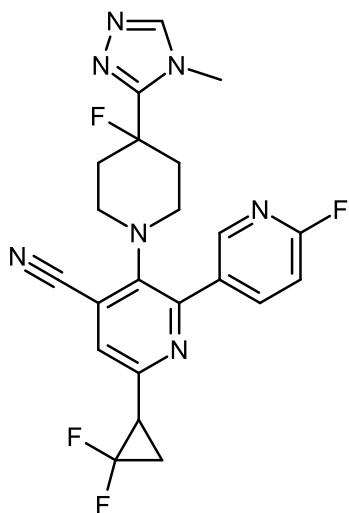


(1-f)

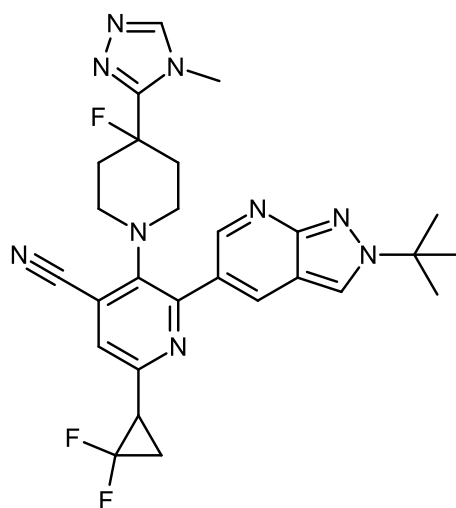
y los sustituyentes R^1 , R^2 y R^3 se definen como en cualquiera de las formas de realización precedentes.

Se prefiere particularmente el compuesto de acuerdo con la fórmula (I) seleccionado entre el grupo que consiste en

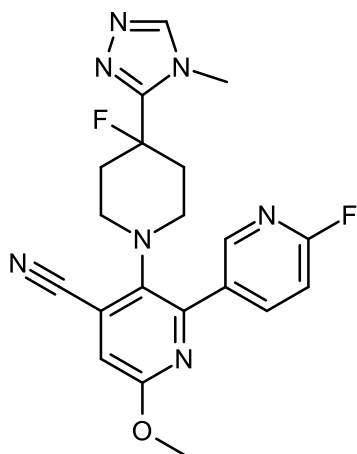




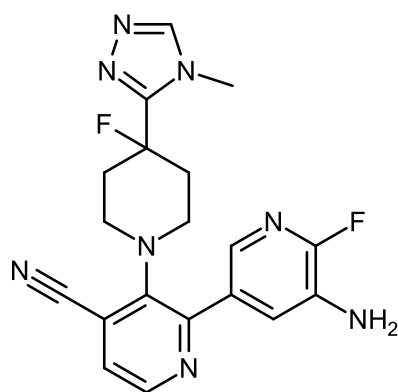
,



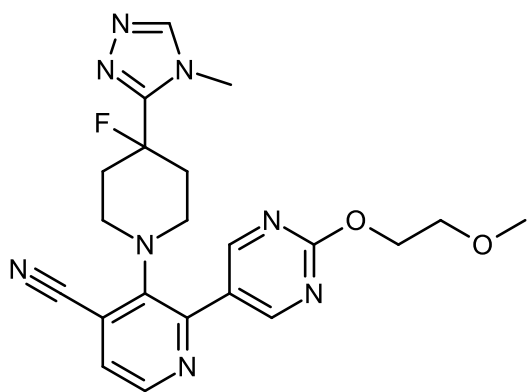
,



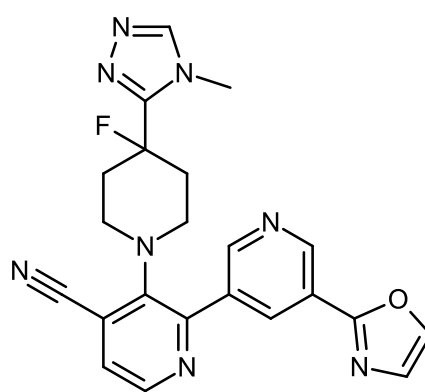
,



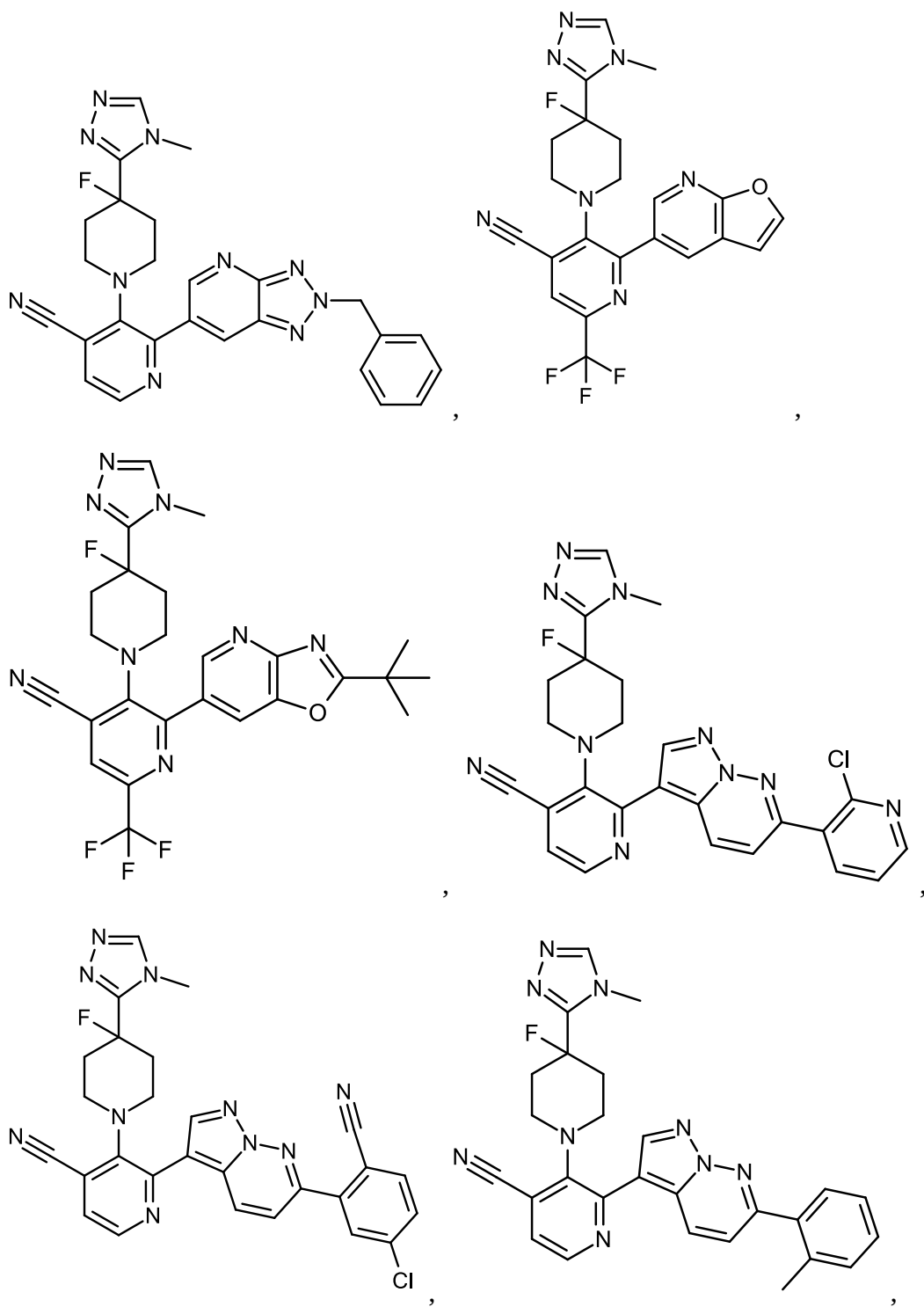
,

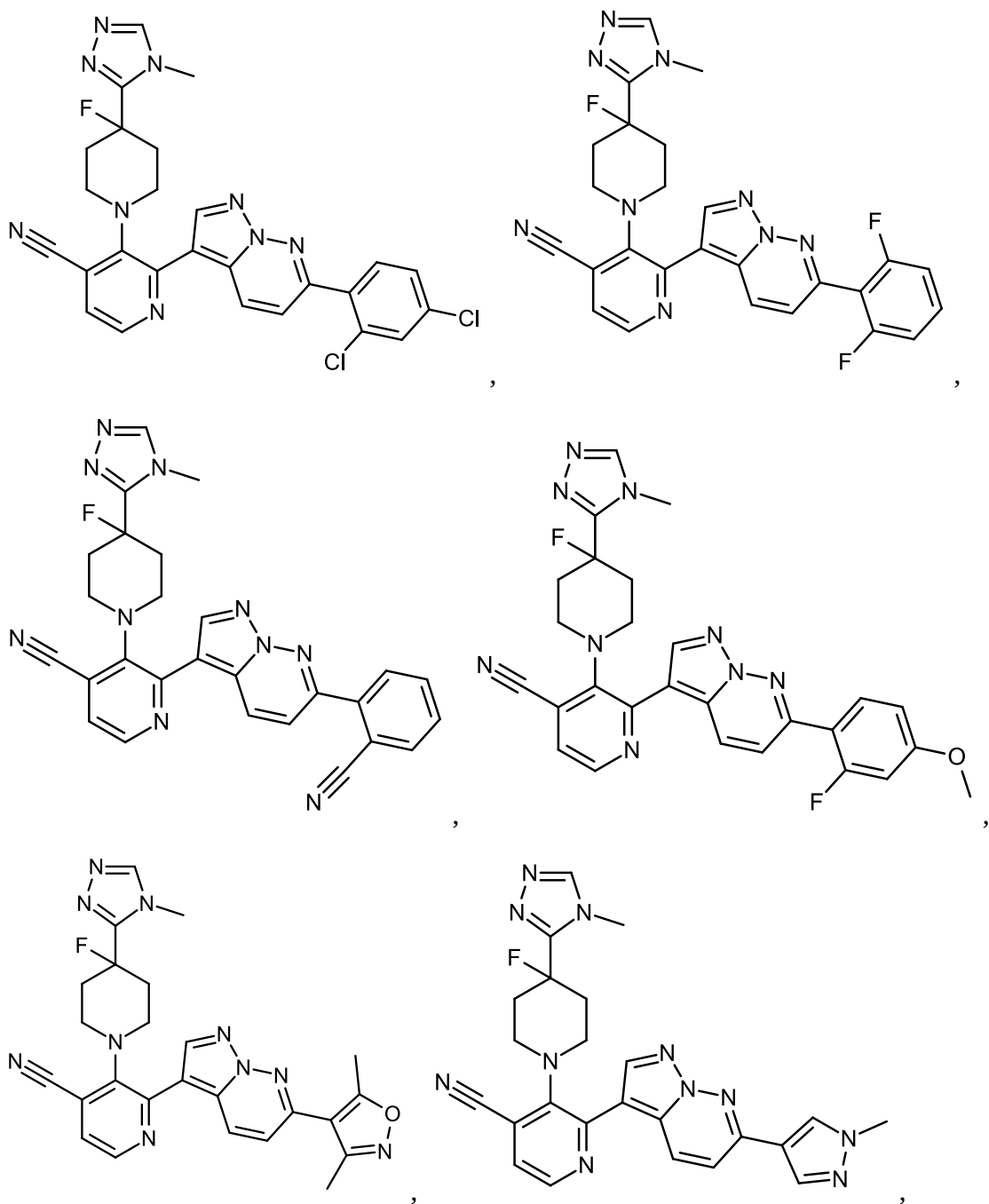


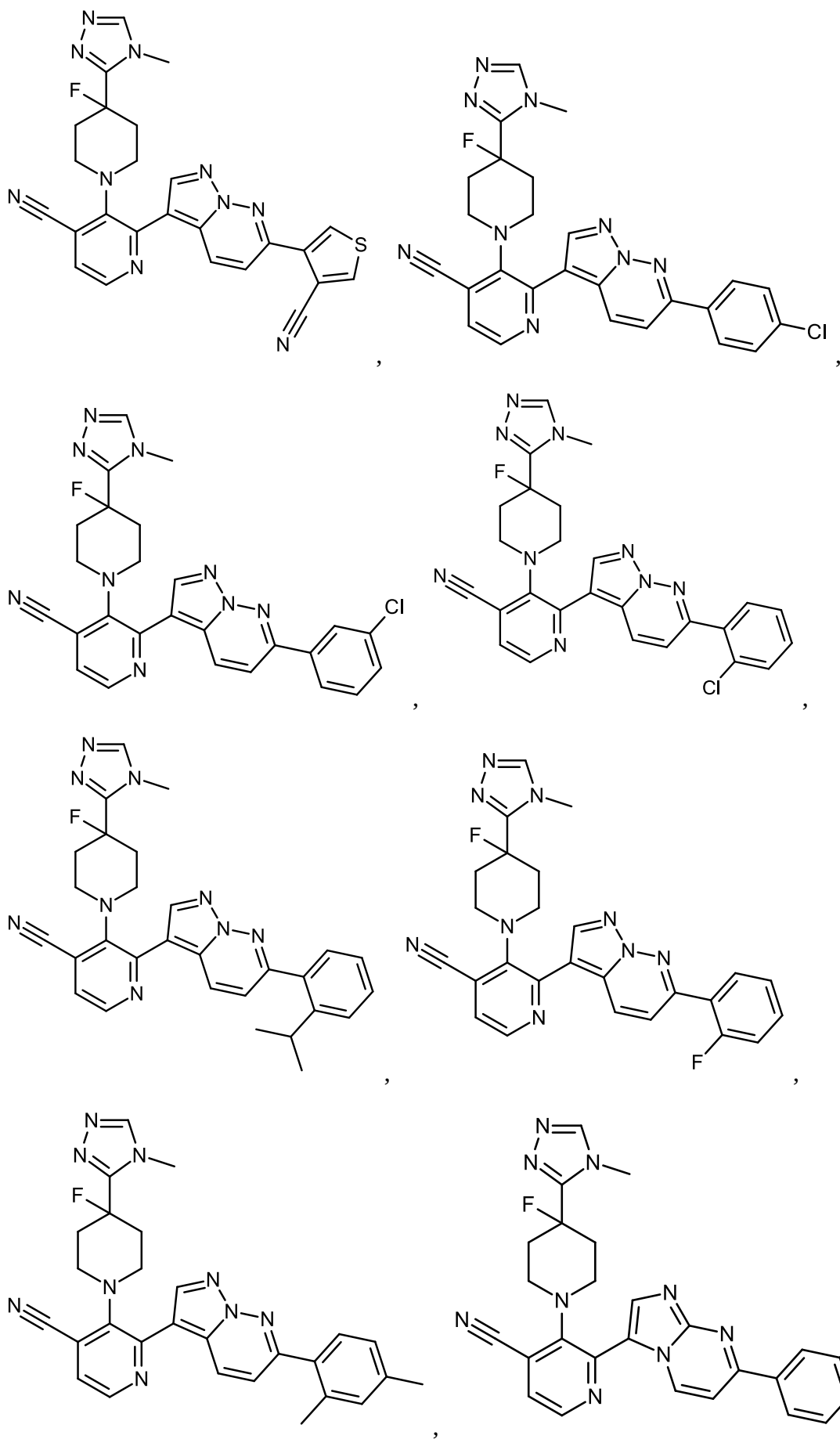
,

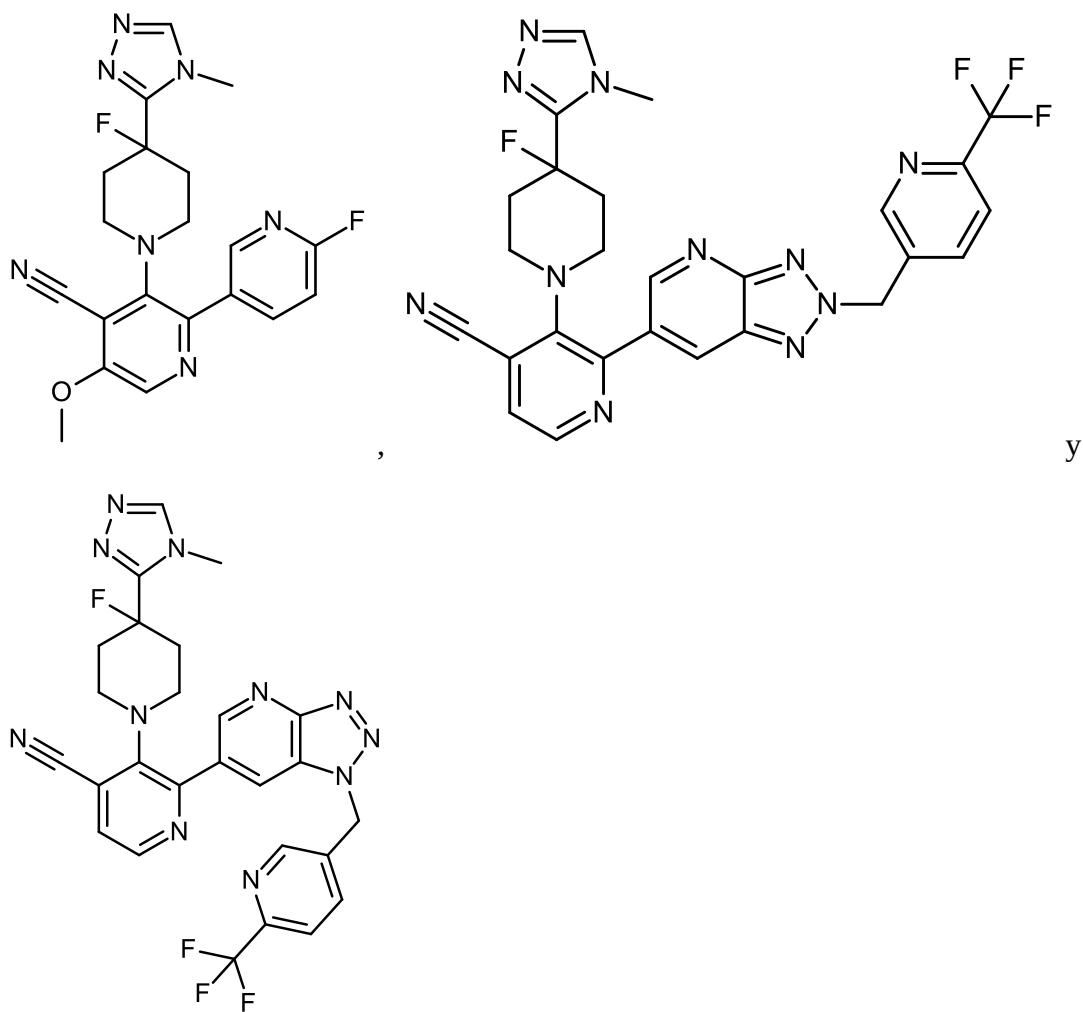


,









Se prefiere particularmente el compuesto de acuerdo con la fórmula (I) seleccionado entre el grupo que consiste en el ejemplo 1, el ejemplo 3, el ejemplo 4, el ejemplo 5, el ejemplo 26, el ejemplo 32, el ejemplo 38 y el ejemplo 40, como se describe en la presente más adelante en la sección de EJEMPLOS.

Se prefiere particularmente el compuesto de acuerdo con la fórmula (I) seleccionado entre el grupo que consiste en el ejemplo 1, el ejemplo 2, el ejemplo 3, el ejemplo 4, el ejemplo 5, el ejemplo 7, el ejemplo 9, el ejemplo 12, el ejemplo 16, el ejemplo 24, el ejemplo 25, el ejemplo 26, el ejemplo 27, el ejemplo 28, el ejemplo 29, el ejemplo 30 y el ejemplo 31, como se describe en la presente más adelante en la sección de EJEMPLOS.

La presente invención provee derivados novedosos de piperidinilpiridinilcarbonitrilo de fórmula (I) que son inhibidores de QPCT/L sorprendentemente potentes.

Otro aspecto de la invención se relaciona con los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) como inhibidores sorprendentemente potentes de QPCT/L en células relevantes, de manera no limitante, para enfermedades pulmonares o cáncer.

Otro aspecto de la invención se relaciona con los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) como inhibidores de QPCT/L celular sorprendentemente potentes que tienen una permeabilidad de membrana apropiada y un eflujo *in vitro* bajo.

Otro aspecto de la invención se relaciona con composiciones farmacéuticas, que contienen al menos un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) opcionalmente junto con uno o más vehículos y/o diluyentes inertes.

Un aspecto adicional de la presente invención se relaciona con compuestos de acuerdo con la fórmula (I), para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos asociados con la inhibición de QPCT/L.

Otro aspecto de la invención se relaciona con procesos de fabricación de los compuestos de la presente invención.

Otros aspectos de la presente invención serán evidentes para las personas especialistas en la materia directamente a partir de la descripción precedente y siguiente y en los ejemplos.

TÉRMINOS Y DEFINICIONES USADAS

Definiciones generales

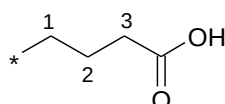
Los términos no definidos específicamente en la presente deben entenderse con el significado que le asignaría una persona especialista en la materia a la luz de la divulgación y el contexto. Como se los usa en la especificación, sin embargo, salvo que se especifique lo contrario, los siguientes términos tienen los significados indicados y las aplican las siguientes convenciones.

En los grupos, radicales, o unidades definidos más adelante, la cantidad de átomos de carbono usualmente se especifica precedentemente al grupo, por ejemplo, C₁₋₆-alquilo significa un grupo o radical alquilo que tiene entre 1 y 6 átomos de carbono. En general, en los grupos como HO, H₂N, (O)S, (O)₂S, NC (ciano), HOOC, F₃C o similares, una persona especialista en la materia puede observar el punto de unión del radical a la molécula a partir de las valencias libres del propio grupo. Para grupos combinados que comprenden dos o más subgrupos, el último grupo mencionado es el punto de unión del radical, por ejemplo, el sustituyente "aril-C₁₋₃-alquilenos" significa un grupo arilo que está unido a un grupo C₁₋₃-alquilo, donde el último está unido a la estructura central o al grupo al cual está unido el sustituyente.

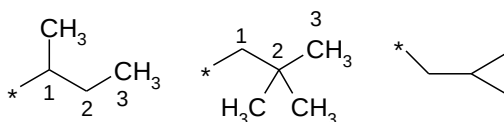
Cuando un compuesto de la presente invención se ilustra con un nombre químico y una fórmula, en caso de existir alguna discrepancia prevalece la fórmula. Puede usarse un asterisco en las subfórmulas para indicar el enlace que está conectado a la estructura central de la molécula como se define.

La numeración de los átomos de un sustituyente comienza en el átomo más cercano a la estructura central o al grupo al que está unido el sustituyente.

Por ejemplo, el término "grupo 3-carboxipropilo" representa el siguiente sustituyente:



donde el grupo carboxi se une al tercer átomo de carbono del grupo propilo. Los términos grupo "1-metilpropilo-", "2,2-dimetilpropilo-" o "ciclopropilmetilo-" representan los siguientes grupos:



Puede usarse un asterisco en las subfórmulas para indicar el enlace que está conectado a la estructura central de la molécula como se define.

El término "sustituido" como se lo utiliza en la presente significa que uno o más hidrógenos sobre el átomo designado se reemplazan por un grupo seleccionado entre un grupo definido de sustituyentes, con la condición de que no se exceda la valencia normal del átomo designado, y que la sustitución resulte en un compuesto estable. De la misma manera, el término "sustituido" puede usarse en relación a una unidad química en lugar de un átomo individual, por ejemplo "alquilo sustituido", "arilo sustituido" o similares.

Salvo que se indique lo contrario, a lo largo de la descripción y las reivindicaciones adjuntas, una fórmula o un nombre químico dado o comprende tautómeros y todos los estereoisómeros, isómeros ópticos e isómeros geométricos (por ejemplo enantiómeros, diasterómeros, isómeros E/Z etc.) y racematos del mismo, así como también mezclas en diferentes proporciones de los enantiómeros separados, mezclas de diasterómeros, o mezclas de cualquiera de las formas mencionadas precedentemente donde existen dichos isómeros y enantiómeros, así como también solvatos del mismo, como por ejemplo hidratos.

Salvo que se indique lo contrario, "sales farmacéuticamente aceptables" como se define en mayor detalle más adelante, también comprende solvatos del mismo como por ejemplo hidratos.

En general, pueden obtenerse estereoisómeros sustancialmente puros de acuerdo con principios sintéticos conocidos por las personas especialistas en la materia, por ejemplo por separación de las mezclas correspondientes, usando materiales de partida estereoquímicamente puros y/o por síntesis estereoselectiva. En la especialidad se conoce cómo preparar formas ópticamente activas, como por ejemplo por resolución de formas racémicas o por síntesis, por ejemplo comenzando a partir de materiales de partida ópticamente activos y/o usando reactivos quirales.

Los compuestos o intermediarios enantioméricamente puros de esta invención pueden prepararse por síntesis asimétrica, por ejemplo por preparación y separación consecutiva de los compuestos o intermediarios diasteroméricos apropiados, que pueden separarse por métodos conocidos (por ejemplo por separación cromatográfica o cristalización) y/o usando reactivos quirales, como por ejemplo materiales de partida quirales, catalizadores quirales o sustancias auxiliares quirales.

Las personas especialistas en la materia saben cómo preparar compuestos enantioméricamente puros a partir de las mezclas racémicas correspondientes, como por ejemplo por separación cromatográfica de las mezclas racémicas correspondientes en fases estacionarias quirales; o por resolución de una mezcla racémica usando un agente de resolución apropiado, por ejemplo por medio de formación de sales diasteroméricas del compuesto racémico con ácidos o bases ópticamente activos, resolución consecutiva de las sales y liberación del compuesto deseado de la sal; o por derivatización de los compuestos racémicos correspondientes con reactivos auxiliares quirales ópticamente activos, separación consecutiva de diasterómeros y eliminación del grupo auxiliar quiral; o por resolución cinética de un racemato (por ejemplo por resolución enzimática); por cristalización enantioselectiva a partir de un conglomerado de cristales enantiomorfos bajo condiciones adecuadas; o por cristalización (fraccionada) a partir de un solvente adecuado en presencia de un auxiliar quiral ópticamente activo.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se usa en la presente en relación a los compuestos, materiales, composiciones, y/o formas de administración que son, según un criterio médico sólido, adecuados para usarse en contacto con los tejidos de humanos si presentar una excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, presentando una relación beneficio/riesgo razonable.

Como se utiliza en la presente, "sal farmacéuticamente aceptable" hace referencia a derivados de los compuestos divulgados donde el compuesto original se modifica preparando sales ácidas o básicas del mismo. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, de manera no limitante, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos como por ejemplo aminas; sales de bases alcalinas u orgánicas de residuos ácidos como por ejemplo ácidos carboxílicos; y similares.

Por ejemplo, dichas sales incluyen sales de ácido bencensulfónico, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido etansulfónico, ácido fumárico, ácido gentísico, bromhídrico ácido, ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido málico, ácido malónico, ácido mandélico, ácido metansulfónico, ácido 4-metil-bencensulfónico, ácido fosfórico, ácido salicílico, ácido succínico, ácido sulfúrico y ácido tartárico. Otras sales farmacéuticamente aceptables pueden

formarse con cationes a partir de amoníaco, L-arginina, calcio, 2,2'-iminobis-etanol, L-lisina, magnesio, *N*-metil-D-glucamina, potasio, sodio y tris(hidroximetil)-aminometano.

Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto original que contiene una unidad básica o ácida por medio de métodos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad suficiente de la base o el ácido apropiado en agua o en un diluyente orgánico como por ejemplo éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo, o una mezcla de los mismos.

Las sales de ácidos diferentes a los mencionados precedentemente que son útiles, por ejemplo, para purificar o aislar los compuestos de la presente invención (por ejemplo sales trifluoroacetato,) también forman parte de la invención.

El término halógeno denota flúor, cloro, bromo y yodo.

El término " C_{1-n} -alquilo", donde n es un entero seleccionado entre 2, 3, 4, 5 o 6, preferiblemente 4, 5, o 6, solo en combinación con otro radical, denota un radical hidrocarbonado acíclico, saturado, ramificado o lineal con entre 1 y n átomos de C. Por ejemplo, el término C_{1-5} -alquilo abarca los radicales H_3C- , H_3C-CH_2- , $H_3C-CH_2-CH_2-$, $H_3C-CH(CH_3)-$, $H_3C-CH_2-CH_2-CH_2-$, $H_3C-CH_2-CH(CH_3)-$, $H_3C-CH(CH_3)-CH_2-$, $H_3C-C(CH_3)_2-$, $H_3C-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$, $H_3C-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-$, $H_3C-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-$, $H_3C-CH(CH_3)-CH_2-CH_2-$, $H_3C-CH_2-C(CH_3)_2-$, $H_3C-C(CH_3)_2-CH_2-$, $H_3C-CH(CH_3)-CH(CH_3)-$ y $H_3C-CH_2-CH(CH_2CH_3)-$.

El término " C_{2-m} -alquino" se usa para un grupo " C_{2-m} -alquino" donde m es un entero seleccionado entre 3, 4, 5 o 6, preferiblemente 4, 5 o 6, donde al menos dos átomos de carbono de dicho grupo se unen entre sí por medio de un enlace triple.

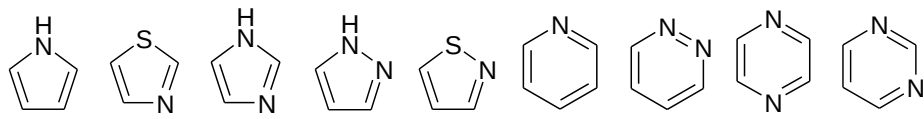
El término " C_{3-k} -cicloalquilo", donde k es un entero seleccionado entre 3, 4, 5, 7 o 8, preferiblemente 4, 5 o 6, solo en combinación con otro radical, denota un radical hidrocarbonado cíclico, saturado, no ramificado con entre 3 y k átomos de C. Por ejemplo el término C_{3-7} -cicloalquilo incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

El término "halo" incorporado a un grupo "alquilo", "alquileo" o "cicloalquilo" (saturado o insaturado) define un grupo alquilo, alquileo o cicloalquilo donde uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan por un átomo de halógeno seleccionado entre flúor, cloro o bromo, preferiblemente flúor y cloro, prefiriéndose particularmente flúor. Los ejemplos incluyen: $\text{H}_2\text{FC}-$, $\text{HF}_2\text{C}-$, $\text{F}_3\text{C}-$.

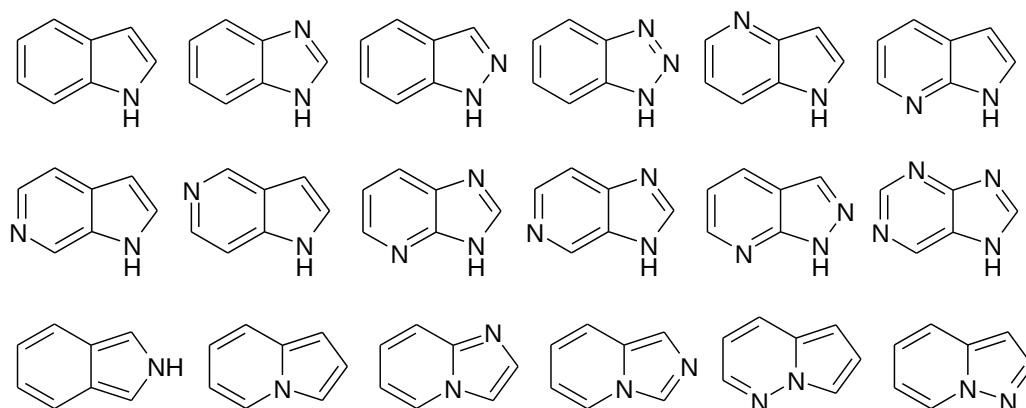
El término "anillo mono-heteroarilo" significa un sistema de anillo aromático monocíclico, que contiene uno o más heteroátomos seleccionados entre N, O o S, que consiste en 5 a 6 átomos del anillo.

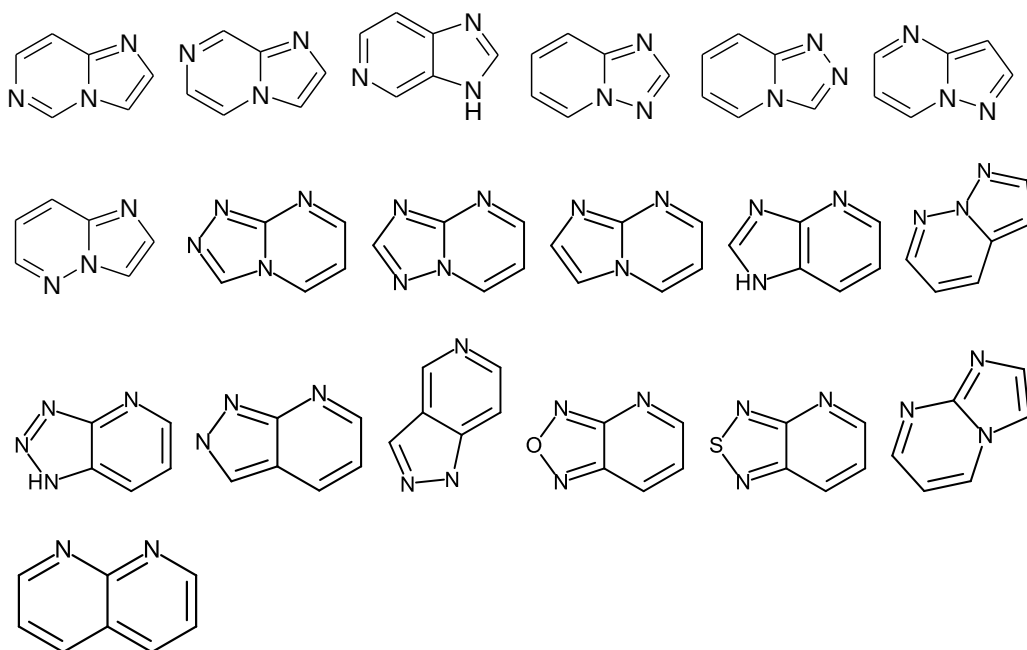
El término "anillo mono-heteroarilo" incluye todas las formas isoméricas posibles.

De este modo, el término "anillo mono-heteroarilo" incluye las siguientes estructuras de ejemplo (no ilustradas como radicales ya que cada forma se une opcionalmente a través de un enlace covalente a cualquier átomo mientras se mantengan las valencias apropiadas):

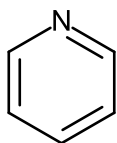


El término "anillo heteroarilo bicíclico fusionado" significa un sistema de anillos aromáticos bicíclico, que contiene uno o más heteroátomos seleccionados entre N, O o S, que consiste en 9 a 10 átomos del anillo. El término "anillo heteroarilo bicíclico fusionado" incluye todas las formas isoméricas posibles. De este modo, el término "anillo heteroarilo bicíclico" incluye las siguientes estructuras de ejemplo (no ilustradas como radicales ya que cada forma se une opcionalmente a través de un enlace covalente a cualquier átomo mientras se mantengan las valencias apropiadas):

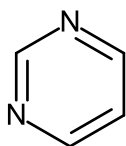




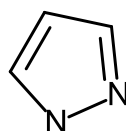
El término piridilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



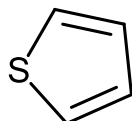
El término pirimidilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



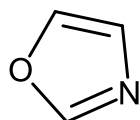
El término pirazolilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



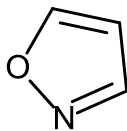
El término tiofenilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



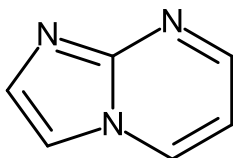
El término oxazolilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



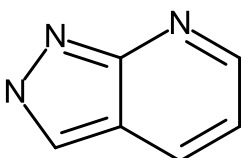
El término isoxazolilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



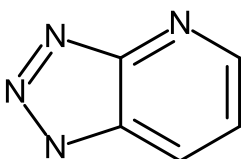
El término imidazo[1,2-a]pirimidinilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



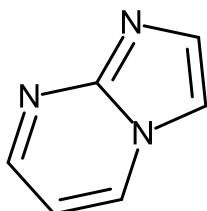
El término 2H-pirazolo[3,4-b]piridilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



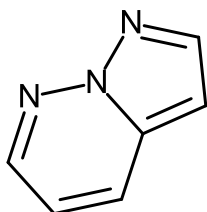
El término 1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



El término imidazo[1,2-a]pirimidinilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



El término pirazolo[1,5-b]piridazinilo hace referencia al radical del siguiente anillo:



Algunos de los términos provistos precedentemente pueden usarse repetidamente en la definición de una fórmula o un grupo, y en cada caso tienen uno de los significados provistos precedentemente, independientemente entre sí.

ENSAYOS BIOLÓGICOS

Evaluación de actividad inhibitoria de QPCT y QPCTL

Ensayo A: Ensayo Bioquímico de Actividad de QPCT y QPCTL

La actividad de los compuestos de la invención puede demostrarse usando el siguiente ensayo bioquímico de actividad enzimática:

La conversión dependiente de QPCT o QPCTL de glutamina N-terminal a piroglutamato en CD47 se monitoreó por MALDI-TOF MS. Los compuestos de ensayo se disolvieron en DMSO 100 % y se realizaron diluciones seriadas en placas microtituladoras traslúcidas de 1536 pocillos. Las reacciones enzimáticas se llevaron a cabo en amortiguador de ensayo que contenía Tris pH 7,5 20 mM, TCEP 0,1 mM, BSA 0,01%, y Tween20 0,001%. Se agregaron 2,5 µL de enzima QPCTL o QPCT (Origine #TP700028) concentrada 2x (interno) en amortiguador de ensayo (concentración final 0,5 nM, columnas 1-23) o sólo amortiguador de ensayo (columna 24) en cada pocillo. Las placas se incubaron durante 10 min en una incubadora humidificada a 24°C. Luego se agregó 2,5 µL de CD47 sustrato péptido sustituto ($^{19}\text{QLLFNKTKSVEFTFC}^{33}$) a cada pocillo (concentración final: 10 µM para QPCTL / 20 µM para QPCT). Las placas se mezclaron durante 30 s a 1000 rpm y luego se incubaron durante 40 min en una incubadora humidificada a 24°C. Después de la incubación, la reacción enzimática se detuvo agregando 1 µL de una mezcla que contenía el péptido estándar interno marcado con isótopo estable $^{19}[\text{Pyr}]\text{LLFN(K)TKSVEFTFC}^{33}$ (concentración final 4,0 µM) así como también SEN177 (concentración final 10 µM). Las placas se sellaron con una película adhesiva, se mezcló durante 30 s a 1000 rpm y se almacenó a temperatura ambiente hasta la preparación de las placas MALDI diana. Las placas MALDI diana se prepararon como se describe precedentemente. Los espectros de masa se registraron con un instrumento RapifleX MALDI-TOF/TOF monitoreando las señales del producto ($^{19}[\text{Pyr}]\text{LLFNKTKSVEFTFC}^{33}$, m/z 1,787,9037) así como también el péptido estándar interno ($^{19}[\text{Pyr}]\text{LLFN(K)TKSVEFTFC}^{33}$, m/z 1,795,9179). La actividad de QPCT o QPCTL se monitoreó calculando la relación entre las señales de producto y estándar interno, luego normalizando a controles alto (100% de actividad) y bajo (0% de actividad). La determinación de la potencia del compuesto se realizó ajustando los datos de dosis-efecto a una ecuación logística de cuatro parámetros.

Tabla 2: Datos biológicos para compuestos de la invención obtenidos en el Ensayo A.

Ejemplo	Inhibición de QPCTL: IC₅₀ [nM]	Inhibición de QPCT: IC₅₀ [nM]
1	2	3
2	1	1
3	1	4
4	1	1
5	4	9
7	8	12
9	2	4
10	8	30
11	13	48
12	3	4
13	8	24
14	3	11
15	15	58
16	1	1
17	5	5
18	2	1
19	1	1
20	2	3
21	2	1
22	2	2
23	4	4
24	14	8
25	1	6
26	3	2
27	4	3
28	1	1
29	2	1
30	2	1
31	3	3

32	1	1
33	1	2

Tabla 3: Datos biológicos para compuestos del arte anterior obtenidos en el Ensayo A.

Compuesto del arte anterior	Referencia	Inhibición de QPCTL: IC₅₀ [nM]	Inhibición de QPCT: IC₅₀ [nM]
SEN177	J-S, NCB 2015; P, JBIC 2018	17	79
SEN180	J-S, NCB 2015	39	176
1094	WO 2018/178384	111	1707
1095	WO 2018/178384	13	260
3	WO 2022/086920	52	482
3 alternativo	WO 2022/086920	837	4691
6	WO 2022/086920	1	1
21	CN 114874186	5493	1398
23	CN 114874186	4772	1845

Ensayo B: Ensayo de señalización de SIRP α (usando células Raji o A549)

La actividad de los compuestos de la invención puede demostrarse usando el siguiente ensayo de señalización de SIRP α que mide la activación de SIRP α inducida por CD47 presentado por interacción célula a célula. Se usan independientemente dos tipos celulares: la línea celular Raji (línea celular humana similar a linfoblasto derivada de linfocitos B de un paciente de linfoma de Burkitt en 1963) y células A549 (células epiteliales basales alveolares humanas de adenocarcinoma).

Los compuestos de ensayo se disolvieron en DMSO 100 % y se realizaron diluciones seriadas en una placa microtituladora de cultivo celular blanca de 384 pocillos (PerkinElmer #60076780 en el caso del ensayo con Raji; placas recubiertas con PDL Greiner #781945 en el caso del ensayo con A549). Se agregaron 5000 células Raji (ATCC #CC86) o 5000 células A549 (ATCC #CCL-185) en reactivo para placa AssayComplete 30 (DiscoverX 93-0563R30B) en cada pocillo. La placa de ensayo se incubó durante 48 h a 37 °C, 95% de

humedad y 5 % de CO₂. Se agregaron 15000 células reporteras (Jurkat PathHunter SIRP α V1, DiscoverX #93-1135C19) en cada pocillo, y la placa se incubó durante 5 h a 37 °C, 95 % de humedad y 5 % de CO₂. El reactivo de ensayo biológico 1 del kit de detección de ensayo biológico PathHunter (DiscoverX 93-0001) se agregó en cada pocillo de la placa usando una pipeta multicanal y luego se incubó durante 15 min a temperatura ambiente. Luego se agregó el reactivo de ensayo biológico 2 y se incubó durante 60 min a temperatura ambiente (incubación en la oscuridad).

El análisis de los datos se llevó a cabo usando la señal de luminiscencia generada por betagalactosidasa en la línea celular reportera PathHunter. La medición de luminiscencia se realizó usando un lector Pherastar multimodo. Las curvas de dosis-efecto y los datos de IC₅₀ se calcularon con una fórmula de dosis-efecto sigmoidea de 4 parámetros.

Tabla 4: Datos biológicos para compuestos de la invención obtenidos en el Ensayo B.

Ejemplo	Inhibición de señalización de SIRPα inducida por células Raji:	Inhibición de señalización de SIRPα inducida por células A549: IC₅₀ [nM]
1	77	41
2	20	40
3	131	40
4	15	17
5	617	60
7	568	200
9	103	39
10	536	283
11	1167	419
12	150	45
13	596	358
14	673	202
15	296	410
16	27	32
17	274	71

18	44	16
19	20	6
20	83	29
21	16	11
22	117	51
23	158	46
24	981	184
25	150	78
26	148	101
27	106	52
28	70	53
29	64	27
30	87	17
31	54	31
32	72	21
33	53	30

Tabla 5: Datos biológicos para compuestos del arte anterior obtenidos en el Ensayo B.

Compuesto del arte anterior	Referencia	Inhibición de señalización de SIRPα inducida por células Raji: IC₅₀ [nM]	Inhibición de señalización de SIRPα inducida por células A549: IC₅₀ [nM]
SEN177	J-S, NCB 2015; P, JBIC 2018	1365	214
SEN180	J-S, NCB 2015	2973	868
1094	WO 2018/178384	3240	3059
1095	WO 2018/178384	2203	161
3	WO 2022/086920	2736	921
3 alternativo	WO 2022/086920	>10000	>10000
6	WO 2022/086920	8	12

21	CN 114874186	>10000	>10000
23	CN 114874186	>10000	>10000

Evaluación de permeabilidad

Ensayo C: Permeabilidad en células CACO-2

Se siembran células caco-2 ($1 - 2 \times 10^5$ células/ 1 cm^2 de área) sobre insertos con filtro (filtros de policarbonato o PET Costar Transwell, tamaño de poro $0,4 \text{ }\mu\text{m}$) y se cultiva (DMEM) durante 10 a 25 días.

Los compuestos se disuelven en un solvente apropiado (como DMSO, soluciones madre $1 - 20 \text{ mM}$). Las soluciones madre se diluyen con amortiguador HTP-4 (NaCl $128,13 \text{ mM}$, KCl $5,36 \text{ mM}$, MgSO_4 1 mM , CaCl_2 $1,8 \text{ mM}$, NaHCO_3 $4,17 \text{ mM}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ $1,19 \text{ mM}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ $0,41 \text{ mM}$, HEPES 15 mM , glucosa 20 mM , BSA $0,25\%$, pH $7,2$) para preparar las soluciones de transporte ($0,1 - 300 \text{ }\mu\text{M}$ del compuesto, DMSO final $\leq 0,5 \%$). Las soluciones de transporte (TL) se aplican al lado donante apical o basolateral para medir la permeabilidad A-B o B-A (3 réplicas por filtro), respectivamente. Las muestras se recogen del donante al inicio y al final del experimento y en varios intervalos de tiempo durante hasta 2 horas también del lado receptor para la medición de concentración por HPLC-MS/MS o recuento de centelleo. Los volúmenes de receptor muestreados se reemplazan por nueva solución de receptor.

Relación de eflujo (ER) = permeabilidad B-A / permeabilidad A-B

Tabla 7: Datos biológicos para compuestos de la invención obtenidos en el Ensayo C.

Ejemplo	Permeabilidad A-B [10^{-6} cm/s]	Relación de eflujo
1	8,7	6,3
2	4,5	15,3
3	47,0	1,3
4	8,8	7,5
5	27,0	1,6
7	15,0	5,5
9	5,8	4,5
10	1,6	13,1

11	13,0	5,0
12	9,4	9,9
13	6,2	9,0
14	0,7	32,8
15	47,0	1,6
16	33,0	2,5
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24	16,0	4,6
25	5,3	7,7
26	7,2	11,5
27	16,0	2,2
28	28,0	0,8
29	39,0	1,7
30	46,0	0,7
31	54,0	1,2
32	60,0	0,7
33	13,0	6,2

Tabla 8: Datos biológicos para compuestos del arte anterior obtenidos en el Ensayo C.

Compuesto del arte anterior	Referencia	Permeabilidad A-B [10⁻⁶ cm/s]	Relación de eflujo
SEN177	J-S, NCB 2015; P, JBIC 2018	11,0	3,3
SEN180	J-S, NCB 2015	4,2	7,1

1094	WO 2018/178384	73	1,0
1095	WO 2018/178384	68	0,5
3	WO 2022/086920	93,0	0,8
3 alternativo	WO 2022/086920	97,0	0,7
6	WO 2022/086920	0,2	65,0
21	CN 114874186	0,7	27,3
23	CN 114874186	3,5	17,6

Evaluación de Depuración Microsomal

Depuración microsomal:

La degradación metabólica del compuesto de ensayo se evaluó a 37 °C con microsomas de hígado de distintas especies combinados. El volumen de incubación final de 60 µl por punto de tiempo contenía amortiguador TRIS pH 7,6 a temperatura ambiente (0,1 M), cloruro de magnesio (5 mM), proteína microsomal (1 mg/mL para humano y perro, 0,5 mg/mL para otras especies) y el compuesto de ensayo a una concentración final de 1 µM. Después de un breve período de preincubación a 37°C, las reacciones se iniciaron mediante la adición de beta-nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, forma reducida (NADPH, 1 mM), y se terminaron transfiriendo una alícuota al solvente a diferentes puntos de tiempo. Después de la centrifugación (10000 g, 5 min), se evaluó una alícuota del sobrenadante por LC-MS/MS para averiguar la cantidad de compuesto original. La vida media se determinó a partir de la pendiente del gráfico semilogarítmico del perfil concentración-tiempo.

La depuración intrínseca (CL_INTRINSIC) se calculó considerando la cantidad de proteína en la incubación:

$CL_INTRINSIC [\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg de proteína}] = (\ln 2 / (\text{vida media} [\text{min}] * \text{contenido de proteína} [\text{mg}/\text{ml}])) * 1000$

$CL_INTRINSIC_INVIVO [\text{ml}/\text{min}/\text{kg}] = (CL_INTRINSIC [\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg de proteína}] * MPPGL [\text{mg de proteína}/\text{g de hígado}] * \text{factor de hígado} [\text{g}/\text{kg de peso corporal}]) / 1000$

$Q_h [\%] = CL [\text{ml}/\text{min}/\text{kg}] / \text{flujo sanguíneo hepático} [\text{ml}/\text{min}/\text{kg}]$

Hepatocelularidad, humano: 120x10⁶ células / g de hígado

Factor de hígado, humano: 25,7 g / kg de peso corporal

Flujo sanguíneo, humano: 21 ml/(min x kg)

Evaluación de Depuración por Hepatocito

Depuración por hepatocito

La degradación metabólica de un compuesto de ensayo se evalúa en una suspensión de hepatocitos humanos. Después de recuperarse de la criopreservación, los hepatocitos humanos se diluyen en medio Eagle modificado de Dulbecco (suplementado con 3,5 µg de glucagon/500 mL, 2,5 mg de insulina/500 mL, 3,75 mg de hidrocortisona/500 mL, 5% de suero humano) para obtener una densidad celular final de $1,0 \times 10^6$ células/mL.

Después de una preincubación de 30 minutos en una incubadora de cultivo celular (37 °C, 10 % de CO₂), se agrega la solución del compuesto de ensayo a la suspensión de hepatocitos, para dar una concentración final de compuesto de ensayo de 1 µM y una concentración final de DMSO de 0,05 %.

La suspensión celular se incuba a 37 °C (incubadora de cultivo celular, agitador horizontal) y las muestras se retiran de la incubación después de 0, 0,5, 1, 2, 4 y 6 horas. Las muestras se detienen con acetonitrilo (que contiene estándar interno) y se granula por centrifugación. El sobrenadante se transfiere a una placa 96-Deepwell, y se prepara para el análisis de disminución de compuesto original por HPLC-MS/MS.

El porcentaje de compuesto de ensayo restante se calcula usando la relación de área de pico (compuesto de ensayo/estándar interno) de cada punto de tiempo de incubación relativa a la relación del área de pico del punto de tiempo 0. Los datos transformados por log se grafican versus el tiempo de incubación, y el valor absoluto de la pendiente obtenida por análisis de regresión lineal se usa para estimar la vida media *in vitro* (T_{1/2}).

La depuración intrínseca *in vitro* (CL_{int}) se calcula a partir de T_{1/2} *in vitro* y se escala a la totalidad del hígado usando una hepatocelularidad de 120×10^6 células/g de hígado, un hígado humano por peso corporal de 25,7 g de hígado/kg, así como también parámetros de incubación *in vitro*, aplicando la siguiente ecuación:

$$CL_INTRINSIC_IN\ VIVO\ [mL/min/kg] = (CL_INTRINSIC\ [\mu L/min/106\ células] \times hepatocelularidad\ [106\ células/g\ de\ hígado] \times factor\ de\ hígado\ [g/kg\ de\ peso\ corporal]) / 1000$$

La depuración sanguínea hepática *in vivo* (CL) se predice de acuerdo con el modelo de hígado “bien agitado” considerando un flujo sanguíneo hepático promedio (QH) de 20,7 mL/min/kg:

$$CL \text{ [mL/min/kg]} = CL_INTRINSIC_IN \text{ VIVO [mL/min/kg]} \times \text{flujo sanguíneo hepático [mL/min/kg]} / (CL_INTRINSIC_IN \text{ VIVO [mL/min/kg]} + \text{flujo sanguíneo hepático [mL/min/kg]})$$

Los resultados se expresan como porcentaje de flujo sanguíneo hepático:

$$QH [\%] = CL \text{ [mL/min/kg]} / \text{flujo sanguíneo hepático [mL/min/kg]}$$

Evaluación de unión a proteína plasmática

Se usa la técnica de diálisis en equilibrio para determinar la unión fraccional in vitro aproximada de compuestos de ensayo a proteínas plasmáticas aplicando celdas de diálisis Dianorm Teflon (micro 0,2). Cada celda de diálisis consiste en una cámara donante y una receptora, separadas por una membrana semipermeable ultrafina con un límite de peso molecular de 5 kDa. Las soluciones madre para cada compuesto de ensayo se preparan en DMSO 1 mM y se realizan diluciones seriadas para obtener una concentración final de ensayo de 1 µM. Las soluciones de diálisis consecutivas se preparan en plasma (suplementado con NaEDTA como anticoagulante), y se administran alícuotas de 200 µl de solución de diálisis de compuesto de ensayo en plasma a la cámara donante (plasma). Se administran alícuotas de 200 µl de amortiguador de diálisis (fosfato de potasio 100 mM, pH 7,4, suplementado con hasta 4,7 % de dextrano) a la cámara de amortiguador (receptora). Se incuba durante 2 horas bajo rotación a 37°C para establecer el equilibrio.

Al final del período de diálisis, se transfieren alícuotas obtenidas de las cámaras donante y receptora, respectivamente, a los tubos de ensayo, y se procesa para análisis por HPLC-MS/MS. Las concentraciones de analito se cuantifican en alícuotas de muestras por HPLC-MS/MS contra curvas de calibración.

El porcentaje de unión se calcula usando la fórmula:

$$\% \text{ de unión} = (\text{concentración plasmática} - \text{concentración en amortiguador} / \text{concentración plasmática}) \times 100$$

Evaluación de solubilidad

Se preparan soluciones saturadas en placas con pocillos (el formato depende del robot) agregando un volumen apropiado de un medio acuoso seleccionado (típicamente en el

rango de 0,25 - 1,5 ml) en cada pocillo que contiene una cantidad conocida de una sustancia farmacológica sólida (típicamente en el rango de 0,5 - 5,0 mg). Los pocillos se agitan durante un período de tiempo predefinido (típicamente en el rango de 2 - 24 h) y luego se filtra usando membranas filtrantes apropiadas (típicamente filtros PTFE con 0,45 µm de tamaño de poro). La absorción en el filtro se evita desechando las primeras gotas de filtrado. La cantidad de sustancia farmacológica disuelta se determina por espectroscopía UV. Además, el pH de la solución acuosa saturada se mide usando un medidor de pH con un electrodo de vidrio.

Evaluación de Metabolismo en hepatocitos humanos *in vitro*

Se investiga la vía metabólica de un compuesto de ensayo usando hepatocitos humanos primarios en suspensión. Después de recuperarse de la criopreservación, los hepatocitos humanos se incuban en medio Eagle modificado de Dulbecco que contiene 5% de suero humano, suplementado con 3,5 µg de glucagon/500ml, 2,5mg de insulina/500ml y 3,75 mg de hidrocortisona/500ml.

Después de preincubar durante 30 min en una incubadora para cultivo celular (37°C, 10% de CO₂), la solución de compuesto de ensayo se agrega a la suspensión de hepatocito para obtener una densidad celular final de $1,0 \times 10^6$ a $4,0 \times 10^6$ células/ml (dependiendo de la tasa metabólica del compuesto observada con hepatocitos humanos primarios), a una concentración final de compuesto de ensayo de 10 µM, y una concentración final de DMSO de 0,05%. Las células se incuban durante seis horas en una incubadora para cultivo celular sobre un agitador horizontal, y las muestras se retiran del incubadora después de 0, 0,5, 1, 2, 4 o 6 horas, dependiendo de la tasa metabólica. Las muestras se detienen con acetonitrilo y se granula por centrifugación. El sobrenadante se transfiere a una placa 96-Deepwell, se evapora bajo nitrógeno y se suspende nuevamente antes del análisis biológico mediante cromatografía líquida-espectrometría de masa de alta resolución para identificar metabolitos putativos.

Las estructuras se asignan tentativamente en base a datos de transformadas de Fourier-Transform MSⁿ. Los metabolitos se informan como porcentajes de molécula original en incubación en hepatocito humano con un umbral de $\geq 4\%$.

Evaluación de características farmacocinéticas

El compuesto de ensayo se administra en forma intravenosa u oral a la especie de ensayo respectiva. Se realizan extracciones de muestras de sangre en distintos puntos de tiempo después de la aplicación del compuesto de ensayo, se anticoagula y se centrifuga.

La concentración de analitos, es decir el compuesto administrado y/o metabolitos, se cuantifica en las muestras de plasma. Los parámetros PK se calculan usando métodos no compartimentales. AUC y Cmax se normalizan a una dosis de 1 $\mu\text{mol/kg}$.

MÉTODO DE TRATAMIENTO

La presente invención está dirigida a compuestos de fórmula general (I) que son útiles en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad y/o afección asociada a la actividad de QPCT/L o modulada por la misma, incluyendo, de manera no limitante, el tratamiento y/o la prevención del cáncer, enfermedades fibróticas, enfermedades neurodegenerativas, aterosclerosis, enfermedades infecciosas, enfermedades renales crónicas.

Los compuestos de fórmula general (I) son útiles para la prevención y/o el tratamiento de:

(1) Enfermedades fibróticas pulmonares tales como neumonitis o neumonitis intersticial asociada a colagenosis, por ejemplo lupus eritematoso, esclerodermia sistémica, artritis reumatoide, polimiositis y dermatomiositis, neumonías intersticiales idiopáticas, como fibrosis pulmonar (FPI), neumonía intersticial inespecífica, enfermedad pulmonar intersticial asociada a bronquiolitis respiratoria, neumonía intersticial descamativa, neumonía organizante criptogénica, neumonía intersticial aguda y neumonía intersticial linfocítica, Limangioleiomiomatosis, proteinosis alveolar pulmonar, histiocitosis de células de Langerhan, fibroelastosis del parénquima pleural, enfermedades pulmonares intersticiales de causa conocida, como la neumonitis intersticial debida a exposiciones ocupacionales como asbestosis, silicosis, pulmón de minero (polvo de carbón), pulmón de agricultor (heno y moho), pulmón de colombófilo (aves) u otros desencadenantes ocupacionales transmitidos por el aire como polvo metálico o micobacterias, o como resultado de un tratamiento como radiación, metotrexato, amiodarona, nitrofurantoína o fármacos quimioterapéuticos, o por una enfermedad granulomatosa, como granulomatosis con poliangitis, síndrome de Churg-Strauss, sarcoidosis, neumonitis por hipersensibilidad o neumonitis intersticial causada por diferentes orígenes, por ejemplo aspiración, inhalación de gases tóxicos, vapores, bronquitis o neumonitis o neumonitis intersticial causada por insuficiencia cardíaca, rayos X,

radiación, quimioterapia, M. Boeck o sarcoidosis, granulomatosis, fibrosis quística o mucoviscidosis, o deficiencia de alfa-I-antitripsina.

(2) Otras enfermedades fibróticas como fibrosis hepática en puente, cirrosis hepática, esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), fibrosis auricular, fibrosis endomiocárdica, infarto de miocardio antiguo, cicatriz glial, rigidez arterial, artrofibrosis, contractura de Dupuytren, queloides, esclerodermia/esclerosis sistémica, fibrosis mediastínica, mielotibrosis, enfermedad de Peyronie, fibrosis sistémica nefrogénica, fibrosis retroperitoneal, capsulitis adhesiva; exacerbaciones agudas espontáneas en fibrosis pulmonar y fibrosis pulmonar progresiva o inducidas por infección, microaspiración, biopsia pulmonar quirúrgica, resección quirúrgica, broncoscopia (BAL, criobiopsia), contaminación atmosférica, exacerbación previa y medicamentos.

(3) Leucemia, leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia promielocítica aguda (LPA), leucemia mieloide crónica (LMC), leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T), linfoma, linfoma de células B, linfoma de células T, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin (LNH), linfoma de células pilosas, linfoma de Burkett, mieloma múltiple (MM), síndrome mielodisplásico, cáncer sólido, cáncer de pulmón, adenocarcinoma, cáncer de pulmón microcítico (CPM), cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), cáncer de mediastino, cáncer peritoneal, mesotelioma, cáncer gastrointestinal, cáncer gástrico, cáncer de estómago, cáncer de intestino, cáncer de intestino delgado, cáncer de intestino grueso, cáncer de colon, adenocarcinoma de colon, adenoma de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, leiomiomasarcoma, cáncer de mama, cáncer ginecológico, cáncer genitourinario, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de cuello uterino, cáncer de próstata, cáncer de testículo, seminoma, teratocarcinoma, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer de vías biliares, cáncer de páncreas, carcinoma pancreático exocrino, cáncer de esófago, cáncer nasofaríngeo, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer de piel, cáncer escamoso, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma, melanoma maligno, xeroderma pigmentoso, queratoacantoma, cáncer óseo, sarcoma óseo, osteosarcoma, rabdomiosarcoma, fibrosarcoma, cáncer de glándula tiroidea, cáncer folicular tiroideo, cáncer de glándula suprarrenal, cáncer del sistema nervioso, cáncer cerebral, astrocitoma, neuroblastoma, glioma, schwannoma, glioblastoma o sarcoma, cáncer gastrointestinal, cáncer gástrico, cáncer de estómago, cáncer de esófago, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de intestino, cáncer de

intestino grueso, cáncer de colon, adenocarcinoma de colon, adenoma de colon, cáncer rectal, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, carcinoma pancreático exocrino, leucemia, leucemia mieloide aguda (LMA), síndrome mielodisplásico, linfoma, linfoma de células B, linfoma no Hodgkin (LNH), cáncer urotelial o cáncer peritoneal.

(4) Enfermedades y afecciones inflamatorias, autoinmunes o alérgicas como asma, asma pediátrica, bronquitis alérgica, alveolitis, vías respiratorias hiperreactivas, conjuntivitis alérgica, bronquiectasias, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, edema bronquial y pulmonar, bronquitis o neumonitis, asma no alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquitis aguda, bronquitis crónica, enfisema pulmonar; enfermedades autoinmunes, como artritis reumatoide, enfermedad de Graves, síndrome de Sjogren, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico, enfermedades inflamatorias intestinales, como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, esclerodermia, psoriasis (incluida la psoriasis mediada por células T) y dermatosis inflamatorias como dermatitis, eczema, dermatitis atópica, dermatitis alérgica de contacto, urticaria; vasculitis (por ejemplo, vasculitis necrotizante, cutánea y por hipersensibilidad) o eritemanodosis.

(5) Trastornos neurodegenerativos como la esclerosis lateral amiotrófica, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington, la atrofia multisistémica o las enfermedades priónicas.

De manera acorde, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como medicamento.

Además, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula general (I) para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad y/o afección asociada a la actividad de QPCT/L o modulada por la misma.

Además, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula general (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica del mismo para el tratamiento y/o la prevención del cáncer, enfermedades fibróticas, enfermedades neurodegenerativas, aterosclerosis, enfermedades infecciosas, enfermedades renales crónicas.

Además, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula general (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica del

mismo para el tratamiento y/o la prevención de: (1) Enfermedades fibróticas pulmonares tales como neumonitis o neumonitis intersticial asociada a colagenosis, por ejemplo lupus eritematoso, esclerodermia sistémica, artritis reumatoide, polimiositis y dermatomiositis, neumonías intersticiales idiopáticas, como fibrosis pulmonar (FPI), neumonía intersticial inespecífica, enfermedad pulmonar intersticial asociada a bronquiolitis respiratoria, neumonía intersticial descamativa, neumonía organizante criptogénica, neumonía intersticial aguda y neumonía intersticial linfocítica, limangioliomatomatosis, proteinosis alveolar pulmonar, histiocitosis de células de Langerhan, fibroelastosis del parénquima pleural, enfermedades pulmonares intersticiales de causa conocida, como neumonitis intersticial como resultado de exposiciones ocupacionales como asbestosis, silicosis, pulmón de minero (polvo de carbón), pulmón de granjero (heno y moho), pulmón de colombófilo (aves) u otros factores desencadenantes de origen ocupacional, como el polvo metálico o las micobacterias, o como resultado de tratamientos como la radiación, el metotrexato, la amiodarona, la nitrofurantoína o los fármacos quimioterapéuticos, o por enfermedades granulomatosas, como granulomatosis con poliangitis, el síndrome de Churg-Strauss, la sarcoidosis, la neumonitis por hipersensibilidad, o la neumonitis intersticial causada por distintos orígenes, por ejemplo aspiración, inhalación de gases tóxicos, vapores, bronquitis o neumonitis o neumonitis intersticial causada por insuficiencia cardíaca, rayos X, radiación, quimioterapia, M. Boeck o sarcoidosis, granulomatosis, fibrosis quística o mucoviscidosis, o deficiencia de alfa-I-antitripsina.

(2) Otras enfermedades fibróticas como fibrosis hepática en puente, cirrosis hepática, esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), fibrosis auricular, fibrosis endomiocárdica, infarto de miocardio antiguo, cicatriz glial, rigidez arterial, artrofibrosis, contractura de Dupuytren, queloides, esclerodermia/esclerosis sistémica, fibrosis mediastínica, mielotibrosis, enfermedad de Peyronie, fibrosis sistémica nefrogénica, fibrosis retroperitoneal, capsulitis adhesiva; exacerbaciones agudas espontáneas en fibrosis pulmonar y fibrosis pulmonar progresiva o inducidas por infección, microaspiración, biopsia pulmonar quirúrgica, resección quirúrgica, broncoscopia (BAL, criobiopsia), contaminación atmosférica, exacerbación previa y medicamentos.

(3) Leucemia, leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia promielocítica aguda (LPA), leucemia mieloide crónica (LMC), leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T), linfoma, linfoma de células B, linfoma de células T, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin (LNH), linfoma de células pilosas, linfoma

de Burkett, mieloma múltiple (MM), síndrome mielodisplásico, cáncer sólido, cáncer de pulmón, adenocarcinoma, cáncer de pulmón microcítico (CPM), cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), cáncer de mediastino, cáncer peritoneal, mesotelioma, cáncer gastrointestinal, cáncer gástrico, cáncer de estómago, cáncer de intestino, cáncer de intestino delgado, cáncer de intestino grueso, cáncer de colon, adenocarcinoma de colon, adenoma de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, leiomiomasarcoma, cáncer de mama, cáncer ginecológico, cáncer genitourinario, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de cuello uterino, cáncer de próstata, cáncer de testículo, seminoma, teratocarcinoma, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer de vías biliares, cáncer de páncreas, carcinoma pancreático exocrino, cáncer de esófago, cáncer nasofaríngeo, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer de piel, cáncer escamoso, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma, melanoma maligno, xeroderma pigmentoso, queratoacantoma, cáncer óseo, sarcoma óseo, osteosarcoma, rabdomiosarcoma, fibrosarcoma, cáncer de glándula tiroides, cáncer folicular tiroideo, cáncer de glándula suprarrenal, cáncer del sistema nervioso, cáncer cerebral, astrocitoma, neuroblastoma, glioma, schwannoma, glioblastoma o sarcoma, cáncer gastrointestinal, cáncer gástrico, cáncer de estómago, cáncer de esófago, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de intestino, cáncer de intestino grueso, cáncer de colon, adenocarcinoma de colon, adenoma de colon, cáncer rectal, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, carcinoma pancreático exocrino, leucemia, leucemia mieloide aguda (LMA), síndrome mielodisplásico, linfoma, linfoma de células B, linfoma no Hodgkin (LNH), cáncer urotelial o cáncer peritoneal.

(4) Enfermedades y afecciones inflamatorias, autoinmunes o alérgicas como asma, asma pediátrica, bronquitis alérgica, alveolitis, vías respiratorias hiperreactivas, conjuntivitis alérgica, bronquiectasias, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, edema bronquial y pulmonar, bronquitis o neumonitis, asma no alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquitis aguda, bronquitis crónica, enfisema pulmonar; enfermedades autoinmunes, como artritis reumatoide, enfermedad de Graves, síndrome de Sjogren, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico, enfermedades inflamatorias intestinales, como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, esclerodermia, psoriasis (incluida la psoriasis mediada por células T) y dermatosis inflamatorias como dermatitis, eczema, dermatitis atópica, dermatitis alérgica de contacto, urticaria; vasculitis (por ejemplo, vasculitis necrotizante, cutánea y por hipersensibilidad) o eritemanodosis.

(5) Trastornos neurodegenerativos como la esclerosis lateral amiotrófica, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington, la atrofia multisistémica o las enfermedades priónicas.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica del mismo para su uso en el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades y afecciones mencionadas precedentemente.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula general (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica del mismo para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades y afecciones mencionadas precedentemente.

En otro aspecto de la presente invención, la presente invención se refiere a métodos para el tratamiento o la prevención de las enfermedades y afecciones mencionadas precedentemente, donde el método comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula general (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica del mismo a un ser humano.

TERAPIA DE COMBINACIÓN

Los compuestos de la invención pueden combinarse además con uno o más agentes terapéuticos adicionales, preferiblemente uno. Según una forma de realización, el agente terapéutico adicional se selecciona entre el grupo de agentes terapéuticos útiles en el tratamiento de enfermedades o afecciones descritas anteriormente, en particular asociadas con cáncer, enfermedades fibróticas, enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis, enfermedades infecciosas, enfermedades renales crónicas y enfermedades autoinmunes.

Otros agentes terapéuticos adecuados para tales combinaciones incluyen en particular aquellos que, por ejemplo, potencian el efecto terapéutico de uno o más principios activos con respecto a una de las indicaciones mencionadas y/o permiten reducir la dosis de uno o más principios activos.

Por lo tanto, un compuesto de la invención puede combinarse con uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados entre el grupo que consiste en quimioterapia, terapia dirigida contra el cáncer, inmunoterapia contra el cáncer, irradiación, agentes antifibróticos,

agentes antitumógenos, agentes antiinflamatorios, anti dermatitis atópica y broncodilatadores.

La quimioterapia es un tipo de terapia contra el cáncer que utiliza uno o más fármacos químicos contra el cáncer, como sustancias citostáticas o citotóxicas, inhibidores de la proliferación celular, sustancias antiangiogénicas y similares. Algunos ejemplos son el ácido fólico (leucovorina), 5-fluorouracilo, irinotecán, oxaliplatino, cis-platino, azacitidina, gemcitabina, agentes de alquilación, agentes antimitóticos, taxanos y otros compuestos del estado de la técnica o estándares de tratamiento.

La terapia dirigida es un tipo de tratamiento contra el cáncer que utiliza fármacos dirigidos a genes y proteínas específicos que ayudan a las células cancerosas a sobrevivir y crecer.

La terapia dirigida incluye agentes como los inhibidores de los factores de crecimiento (por ejemplo, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF), el factor de crecimiento epidérmico humano (HER, por ejemplo HER2, HER3, HER4) y el factor de crecimiento de hepatocitos), tirosina quinasas, KRAS, BRAF, BCR-ABL, mTOR, quinasas dependientes de ciclinas o MDM2.

La inmunoterapia contra el cáncer es un tipo de terapia que utiliza sustancias para estimular o suprimir el sistema inmunitario con el fin de ayudar al organismo a combatir el cáncer. La inmunoterapia contra el cáncer incluye un anticuerpo terapéutico, como: anticuerpo anti-Her2, anticuerpo anti-EGFR y anticuerpo anti-PDGFR; anticuerpo anti-GD2 (Gangliósido G2). Los ejemplos incluyen Dinutuximab, Olaratumab, Trastuzumab, Pertuzumab, Ertumaxomab, Cetuximab, Necitumumab, Nimotuzumab, Panitumumab, o Rituximab. La inmunoterapia contra el cáncer también incluye un anticuerpo terapéutico que es un inhibidor del punto de control, como un anticuerpo anti PD1, anti PD-L1 o un inhibidor de CTLA4. Los ejemplos incluyen Atezolizumab, Avelumab y Durvalumab, Ipilimumab, Nivolumab o Pembrolizumab. La inmunoterapia contra el cáncer también incluye agentes dirigidos (inhibidores) al eje de señalización CD47-SIRP α , como agentes que se unen a CD47 o SIRP α . Los ejemplos no limitantes incluyen anticuerpos tales como anticuerpos anti-CD47 y anticuerpos anti-SIRP α , y proteínas de fusión Fc recombinantes como CD47-Fc y SIRP α -Fc. La inmunoterapia contra el cáncer también incluye agentes dirigidos contra STING o captadores de células T, como blinatumomab.

Los agentes antifibróticos son, por ejemplo, nintedanib, pirfenidona, inhibidores de la fosfodiesterasa-IV (PDE4) como roflumilast o inhibidores específicos de la PDE4b como BI 1015550, inhibidores de la autotaxina como GLPG-1690 o BBT-877; anticuerpos bloqueantes del factor de crecimiento del tejido conjuntivo (CTGF) como pamrevlumab; anticuerpos bloqueantes del receptor del factor activador de las células B (BAFF-R), como Lanalumab; inhibidores bloqueantes de alfa-V/beta-6, como BG-00011/STX-100; pentraxina-2 recombinante (PTX-2), como PRM-151; inhibidores de la c-Jun-N-terminal quinasa (JNK), como CC-90001; inhibidores de la galectina-3, como TD-139; inhibidores del receptor 84 acoplado a proteína G (GPR84); Inhibidores duales del receptor 84 acoplado a la proteína G/receptor 40 acoplado a la proteína G, como PBI-4050; inhibidores de la proteína cinasa 2 de espiral enrollada asociada a Rho (ROCK2), como KD-025; ARN de interferencia pequeño de la proteína de choque térmico 47 (HSP47), como BMS-986263/ND-L02-s0201; inhibidores de la vía Wnt, como SM-04646; inhibidores de LD4/ PDE3/4, como Tipelukast; dominios inmunomoduladores recombinantes de la histidil ARNt sintetasa (HARS), como ATYR-1923; inhibidores de la prostaglandina sintasa, como ZL-2102 /SAR-191801; ácido 15-hidroxi-eicosapentaenoico (15-HEPE), por ejemplo, DS-102; inhibidores de la lisil oxidasa tipo 2 (LOXL2) como PAT-1251, PXS-5382/PXS-5338; inhibidores duales de la fosfoinositida 3-cinasa (PI3K)/ diana de rapamicina en mamíferos (mTOR), como HEC-68498; inhibidores de la calpaína, como BLD-2660; inhibidores de la proteína cinasa cinasa cinasa activada por mitógenos (MAP3K19), como MG-S-2525; inhibidores de la quitinasa, como OATD-01; inhibidores de la proteína cinasa 2 activada por mitógenos y activada por proteína cinasa (MAPKAPK2), como MMI-0100; ARN interferente pequeño del factor de crecimiento transformante beta I (TGF-beta I), como TRKZSO/BNC-1021; o antagonistas del receptor del ácido lisofosfatídico, como BMS986278.

La dosificación para los fármacos adicionales combinados mencionados precedentemente suele ser de 1/5 de la dosis más baja normalmente recomendada hasta 1/1 de la dosis normalmente recomendada.

Por lo tanto, en otro aspecto, esta invención se refiere al uso de un compuesto de acuerdo con la invención en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales descritos precedentemente o más adelante para el tratamiento de enfermedades o afecciones que

pueden verse afectadas o que están mediadas por QPCT/L, en particular las enfermedades o afecciones descritas precedentemente o más adelante.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método para tratar una enfermedad o afección que puede verse influida por la inhibición de QPCT/L en un paciente, que incluye el paso de administrar al paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más agentes terapéuticos adicionales.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para el tratamiento de enfermedades o afecciones que pueden verse influidas por la inhibición de QPCT/L en un paciente que lo necesite.

En aun otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la actividad de QPCT/L en un paciente que incluye el paso de administrar al paciente, preferiblemente un humano, que necesita dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más agentes terapéuticos adicionales descritos precedentemente y más adelante.

El uso del compuesto de acuerdo con la invención en combinación con el agente terapéutico adicional puede ocurrir simultáneamente o en momentos distintos.

El compuesto de acuerdo con la invención y uno o más agentes terapéuticos adicionales pueden estar presentes juntos en una formulación, por ejemplo un comprimido o cápsula, o por separado en dos formulaciones idénticas o diferentes, por ejemplo como un kit, es decir un conjunto de elementos.

Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la invención y uno o más agentes terapéuticos adicionales descritos precedentemente y más adelante, opcionalmente junto con uno o más vehículos y/o diluyentes inertes

Otras características y ventajas de la presente invención se pondrán de manifiesto a partir de los siguientes ejemplos que ilustran más detalladamente, a modo de ejemplo, los principios de la invención.

PREPARACIÓN

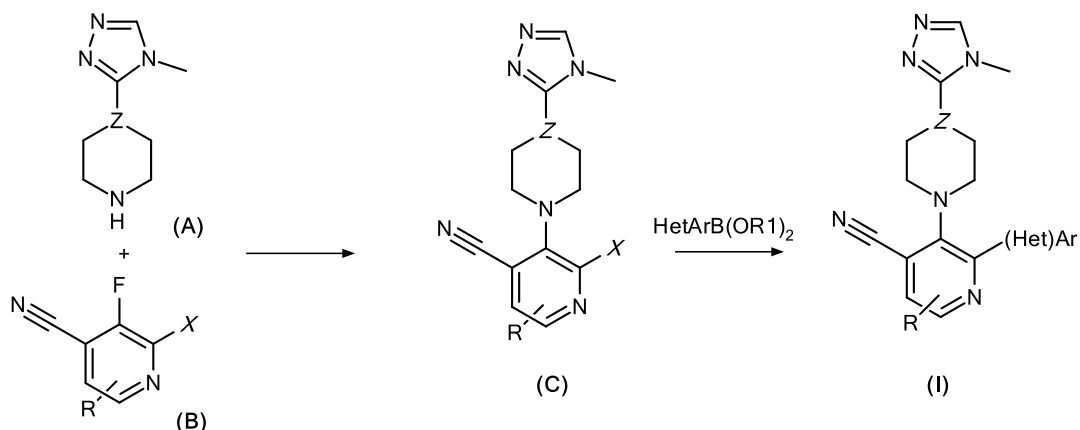
Los compuestos según la invención presente y sus intermediarios pueden obtenerse utilizando métodos de síntesis conocidos por las personas especialistas en la materia y descritos en la literatura sobre síntesis orgánica. Preferiblemente, los compuestos se obtienen en manera análoga a los métodos de preparación explicados en mayor detalle a continuación, en particular como se describe en la sección experimental. En algunos casos, puede variarse el orden de realización de los pasos de reacción. También pueden usarse variantes de los métodos de reacción conocidas por las personas especialistas en la materia pero que no se describen en detalle en la presente.

Los procesos generales para preparar los compuestos según la invención serán evidentes para las personas especialistas en la materia a la vista de los siguientes esquemas. Cualquier grupo funcional de los materiales de partida o intermediarios puede protegerse usando grupos protectores convencionales. Estos grupos protectores pueden separarse en una etapa adecuada de la secuencia de reacción usando métodos conocidos por las personas especialistas en la materia.

Los compuestos según la invención se preparan por los métodos de síntesis descritos a continuación donde los sustituyentes de las fórmulas generales tienen los significados provistos precedentemente en la presente. Estos métodos se proveen a modo ilustrativo de la invención, sin restringir su objeto ni el alcance de los compuestos reivindicados a estos ejemplos. Cuando no se describe la preparación de los compuestos de partida, éstos pueden obtenerse comercialmente o pueden prepararse de forma análoga a los compuestos o métodos conocidos descritos en la presente. Las sustancias descritas en la literatura se preparan según los métodos de síntesis publicados. Las abreviaturas son las definidas en la sección de Ejemplos.

Los ejemplos pueden prepararse como se muestra en el Esquema I a continuación.

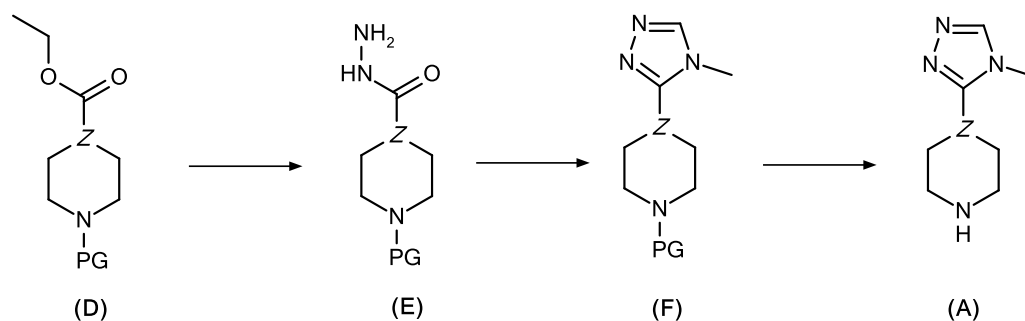
Esquema I:



En el esquema I, se somete *N*-Metil-triazolil-piperidina (Z=C-H, C-F) (A) a una sustitución aromática nucleofílica con fluoruro de heteroarilo (X= Cl, Br) (B). La reacción típicamente se realiza a temperatura ambiente o a temperatura elevada (hasta 110 °C) en presencia de una base (por ejemplo diisopropiletilamina). El intermediario (C) luego se somete a un acoplamiento cruzado de Suzuki con un derivado de ácido heteroarilborónico en presencia de un catalizador adecuado (por ejemplo Pd(dppf)Cl₂) y una base adecuada a temperatura elevada (por ejemplo 100 °C) para dar compuestos de fórmula general (I).

Los intermediarios I pueden prepararse como se muestra en Esquema II a continuación:

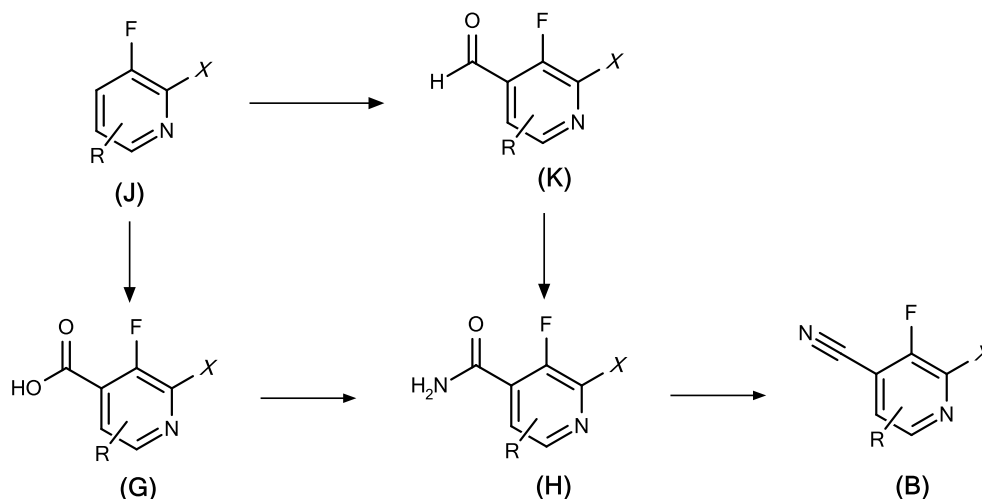
Esquema II:



Los compuestos de fórmula (A) con Z = C-F, C-H pueden prepararse a partir de los ésteres de piperidinilo (D) correspondientes unidos a un grupo protector adecuado (PG, por ejemplo Bencilo) por tratamiento con una fuente de hidrazina adecuada (por ejemplo N₂H₄·H₂O) a temperatura elevada (por ejemplo 50 °C). La hidrazida obtenida (E) luego se activa con DMF/DMA a temperatura elevada (por ejemplo 50 °C) y luego se trata con metilamina a temperatura elevada (por ejemplo 90 °C) para dar el derivado de triazol (F). Los compuestos de fórmula (A) pueden obtenerse separando el grupo protector bajo condiciones adecuadas (por ejemplo H₂, Pd/C 10 %, EtOH).

Los Intermediarios II.2 – II.6 pueden prepararse como se muestra en el Esquema III a continuación:

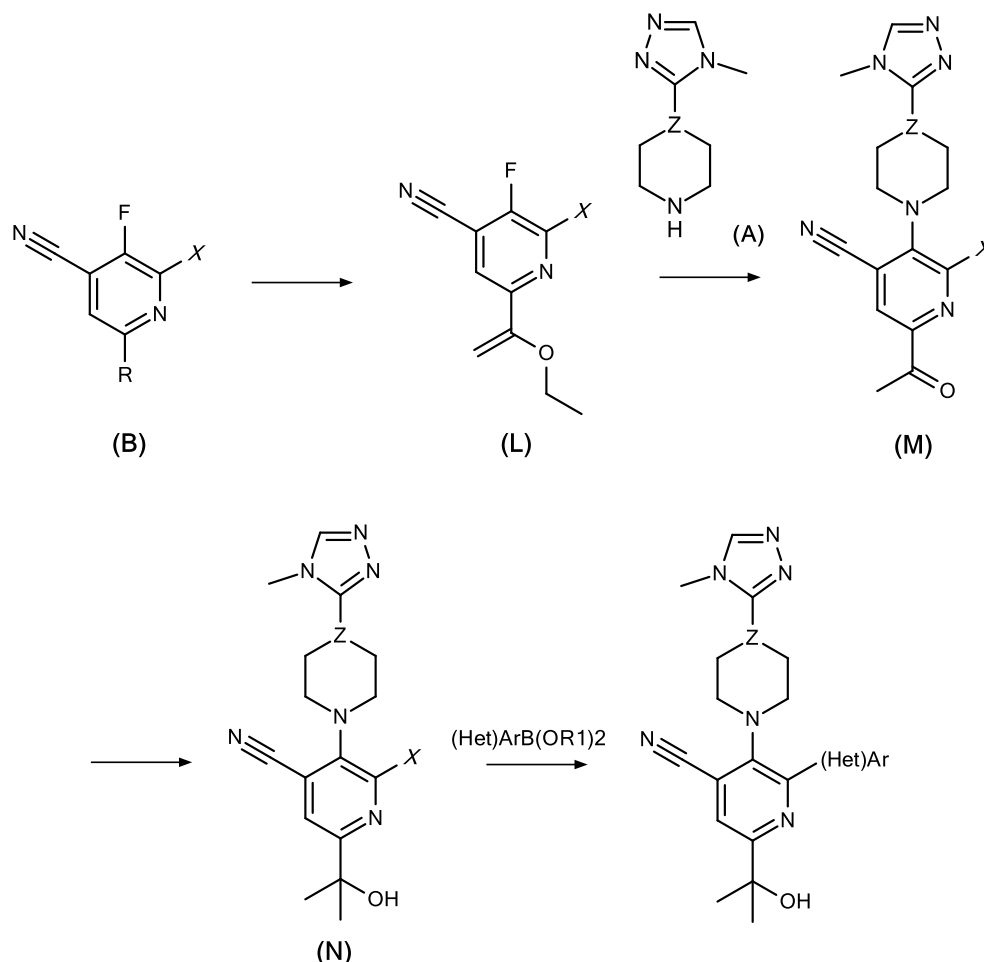
Esquema III:



En el caso de R=H, los intermediarios de fórmula (B) pueden prepararse a partir de los ácidos carboxílicos correspondientes (G). En el caso de R=Cl, el ácido carboxílico (G) puede prepararse a partir de la piridina correspondiente (J) por desprotonación con una base fuerte (por ejemplo LDA) a baja temperatura (por ejemplo -70°C) y finalizando con un reactivo adecuado (por ejemplo dióxido de carbono). La unidad ácido carboxílico se transforma a la amida correspondiente (H) usando una combinación de reactivos adecuada, por ejemplo 1,1'-carbonildiimidazol y amoníaco a temperatura ambiente. Los compuestos de fórmula (B) luego se obtienen por tratamiento de (H) con un agente deshidratante adecuado, por ejemplo reactivo de Burgess a temperatura ambiente. En el caso de R = Me o CF₃, se desprotona la piridina (J) a baja temperatura (por ejemplo -65 °C) y se detiene con DMF para dar los aldehídos correspondientes (K). En el caso de R = CF₃, el aldehído (K) puede transformarse a la amida (H) usando un reactivo adecuado, por ejemplo tribromuro de feniltrimetilamonio, a temperatura ambiente, y adicionalmente al nitrilo (B) como se describe precedentemente para R=H.

Los Ejemplos 1 y 2 pueden prepararse como se muestra en el Esquema IV a continuación:

Esquema IV:



Los intermediarios piridonitrilo (B) con R=Br y X=Cl pueden prepararse de acuerdo con el Esquema III y además pueden convertirse a enoléter (L) usando un reactivo de acoplamiento adecuado (por ejemplo tributil(1-etoxietenil)estannano) y un catalizador adecuado (por ejemplo Pd(dppf)Cl₂) a temperatura elevada (por ejemplo 70 °C). Después de la reacción con piperidina (A) a una temperatura adecuada (por ejemplo 15 °C) seguida por tratamiento ácido usando un ácido adecuado (por ejemplo HCl en dioxano), puede obtenerse la cetona (M). Ésta a su vez puede convertirse al alcohol terciario (N) después de la reacción con un reactivo organometálico adecuado (por ejemplo MeMgBr). El intermediario (N) luego se somete a un acoplamiento cruzado de Suzuki con un derivado de ácido heteroarilborónico en presencia de un catalizador adecuado (por ejemplo Pd(dppf)Cl₂) y una base adecuada a temperatura elevada (por ejemplo 100 °C) para dar los Ejemplos 1 o 2.

EJEMPLOS

Preparación

Los compuestos de acuerdo con la invención y sus intermediarios pueden obtenerse usando métodos de síntesis conocidos por las personas especialistas en la materia y descritos en la literatura sobre síntesis orgánica, por ejemplo usando métodos descritos en “Comprehensive Organic Transformations”, 2da Edición, Richard C. Larock, John Wiley & Sons, 2010, y “March’s Advanced Organic Chemistry”, 7ma Edición, Michael B. Smith, John Wiley & Sons, 2013. Preferiblemente los compuestos se obtienen de manera análoga a los métodos de preparación descritos más detalladamente a continuación, en particular como se describe en la sección experimental. En algunos casos, la secuencia adoptada para realizar los esquemas de reacción puede variarse. También pueden usarse variantes de estas reacciones conocidas por las personas especialistas en la materia pero que no se describen en detalle en la presente. Los procesos generales para preparar los compuestos de acuerdo con la invención serán evidentes para las personas especialistas en la materia a la vista de los siguientes esquemas. Los compuestos de partida están disponibles comercialmente o pueden prepararse por métodos descritos en la literatura o en la presente, o pueden prepararse de manera análoga o similar. Antes de llevar a cabo la reacción, cualquier grupo funcional correspondiente de los materiales de partida puede protegerse usando grupos protectores convencionales. Estos grupos protectores pueden separarse en una etapa adecuada de la secuencia de reacción usando métodos conocidos por las personas especialistas en la materia y descritos en la literatura, por ejemplo en “Protecting Groups”, 3ra Edición, Philip J. Kocienski, Thieme, 2005, y “Protective Groups in Organic Synthesis”, 4ta Edición, Peter G. M. Wuts, Theodora W. Greene, John Wiley & Sons, 2006. Los términos "temperatura ambiente" y "rt" se usan en forma intercambiable y designan una temperatura de aproximadamente 20 °C, por ejemplo entre 19 y 24 °C.

Abreviaturas:

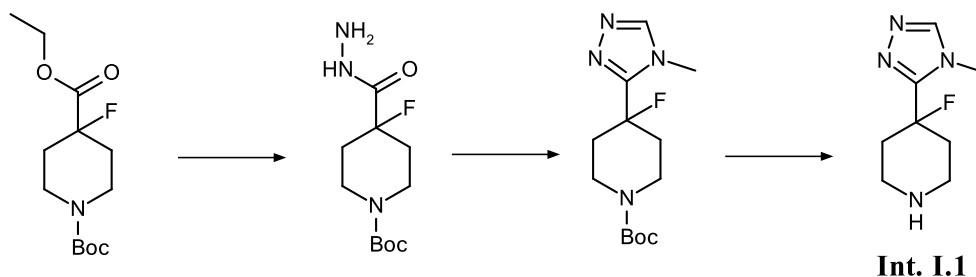
ACN	acetonitrilo
Ac.	acuoso
salmuera	solución acuosa saturada de NaCl
°C	grados Celsius
CyH/CH	ciclohexano

CO ₂	dióxido de carbono
conc.	concentrado
Cs ₂ CO ₃	carbonato de cesio
DCM	diclorometano
DIPA	N,N-diisopropilamina
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
ESI-MS	ionización por electroaspersión - espectrometría de masa
EtOAc/EA	acetato de etilo
EtOH	etanol
Ej.	ejemplo
eq	equivalente
FA	ácido fórmico
h	hora
H ₂ O	agua
HCl	ácido clorhídrico
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
Int.	intermediario
K ₂ CO ₃	carbonato de potasio
K ₃ PO ₄	fosfato de tripotasio
KOAc	acetato de potasio
KOH	hidróxido de potasio
L	litro
LDA	diisopropilamida de litio
LiOH	hidróxido de litio
M	Molar (mol/L)
MeOH	metanol
MeTHF	metiltetrahidrofurano
MgSO ₄	sulfato de magnesio
min	minuto
mL	mililitro

MTBE	metil-tert-butiléter
μL	microlitro
N_2	nitrógeno
n-BuLi	n-butillitio
NBS	N-bromosuccinimida
NCS	N-clorosuccinimida
Na_2CO_3	carbonato de sodio
NaHCO_3	bicarbonato de sodio
NH_3	amoníaco
NH_4Cl	cloruro de amonio
NaOH	hidróxido de sodio
Na_2SO_4	sulfato de sodio
$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	dicloruro de Bis(trifenilfosfino)paladio(II)
$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$	dicloruro de 1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno paladio(II)
$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	tetrakis(trifenilfosfin)paladio(0)
PE	éter de petróleo
Prep.	preparativa
RP	fase reversa
RT/rt	temperatura ambiente (aproximadamente 20°C)
sat.	saturado
SFC	cromatografía en fluido supercrítico
SiO_2	sílice
TEA	trietilamina
TFA	ácido trifluoroacético
TFAA	anhídrido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
Xphos Pd G3	metansulfonato de (2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropil-1,1'-bifenil)[2-(2'-amino-1,1'-bifenil)]paladio(II)

Preparación de intermediarios

Síntesis del Intermediario I.1



4-fluoro-4-(hidrazincarbonil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo

Se suspende 4-fluoropiperidin-1,4-dicarboxilato de 1-*tert*-butilo 4-etilo (160 g, 0,58 mol) en etanol (640 mL) en un balón. Se agrega hidrato de hidrazina (70,6 mL, 1,16 mol) a la mezcla a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calienta a 50 °C y se agita durante 12 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se concentra bajo presión reducida para dar 4-fluoro-4-(hidrazincarbonil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo con 80% de pureza.

C₁₁H₂₀FN₃O₃ (M = 261,3 g/mol)

ESI-MS: 284,2 [M+Na]⁺

Rt (HPLC): 0,62 min (método A)

4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo

4-fluoro-4-(hidrazincarbonil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (135 g, 0,413 mol, 80% de pureza) se mezcla con dioxano (945 mL) en un balón. Se agrega *N,N*-dimetilformamido-dimetilacetal (137 mL, 1,03 mol) a la mezcla a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calienta a 50 °C y se agita durante 1 h. Se agrega una solución de metilamina (299 g, 30% en EtOH, 2,89 mol) y ácido acético (165 mL, 2,89 mol) a la mezcla. La mezcla de reacción resultante se calienta a 90 °C y se agita durante 11 h. La mezcla se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, PE/EtOAc gradiente 20:1 a 0:1) para obtener 4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo.

C₁₃H₂₁FN₄O₂ (M=284,3 g/mol)

ESI-MS: 285,1 [M+H]⁺

Rt (HPLC): 0,77 min (método A)

Intermediario I.1: 4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidina

Se combina 4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (90 g, 0,32 mol) con metanol (90 mL) en un balón. Una solución de HCl (4 m en MeOH, 450 mL, 1,8 mol) se agrega lentamente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción

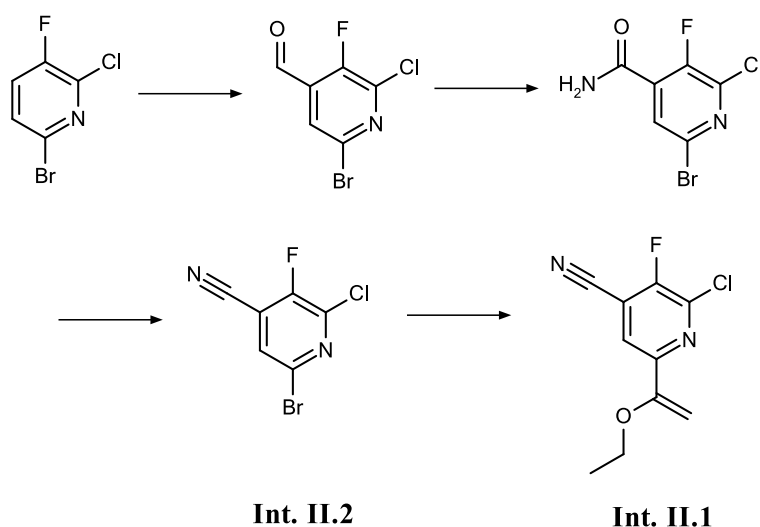
resultante se agita a temperatura ambiente durante 12 h. El producto deseado se recoge mediante filtración, se lava con metanol, y se seca para dar sal clorhidrato de 4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidina.

La sal clorhidrato (13,5 g) se agrega a una solución de amoníaco en metanol (7 M, 150 mL) y se purifica mediante cromatografía en columna (cartucho Biotage SNAP KP-NH 110 g, gradiente DCM/MeOH 4:1 a 7:3) para dar el compuesto del título.

$C_8H_{13}FN_4$ (M=184,2 g/mol)
ESI-MS: 185 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,20 min (método B)

La 4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidina (MFCD09055373, CAS: 297172-18-0) se obtiene de un proveedor comercial.

Síntesis de Intermediarios II.1 y II.2



6-Bromo-2-cloro-3-fluoropiridin-4-carbaldehído

Bajo una atmósfera de argón, se agrega 6-bromo-2-cloro-3-fluoropiridina (6,80 g, 30,7 mmol) a THF (30 mL), y la mezcla resultante se enfría a $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$. Una solución de diisopropilamida de litio (1 M en THF, 30,7 mL, 30,7 mmol) se agrega por goteo, y la mezcla se agita durante 1 h a $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se agrega DMF (2,83 mL, 36,8 mmol) por goteo. La mezcla se agita durante otras 2 h a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. La reacción se detiene mediante la adición de ácido acético (2,64 mL) y se diluye con agua/salmuera 1/1 y acetato de etilo y se dejó calentar a temperatura ambiente. La fase orgánica se separa, se seca sobre Na_2SO_4 , y se concentra. El residuo

se purifica mediante cromatografía en columna (SiO_2 , gradiente de CyH/EtOAc 1:0 a 1:1) para dar 6-bromo-2-cloro-3-fluoropiridin-4-carbaldehído.

$\text{C}_6\text{H}_2\text{BrClFNO}$ (M=238,4 g/mol)
ESI-MS: masa no detectada
Rt (HPLC): 0,44 min (método B)

6-Bromo-2-cloro-3-fluoropiridin-4-carboxamida

Se mezcla acetato de amonio (12,0 g, 15,5 mmol) y 6-Bromo-2-cloro-3-fluoropiridin-4-carbaldehído (3,70 g, 15,5 mmol), y se agrega acetonitrilo (50 mL). Se agrega tribromuro de feniltrimetilamonio (12,0 g, 31,0 mmol) en pequeñas porciones, y la mezcla de reacción resultante se agita durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla se filtra, y el residuo se lava con acetonitrilo, se purifica mediante cromatografía en columna (carga seca, SiO_2 , gradiente de CyH/EtOAc 1:0 a 1:1) para dar el producto deseado.

$\text{C}_6\text{H}_3\text{BrClFN}_2\text{O}$ (M=253,5 g/mol)
ESI-MS: 251 / 253 $[\text{M}-\text{H}]^-$
Rt (HPLC): 0,41 min (método B)

Intermediario II.2: 6-Bromo-2-cloro-3-fluoropiridin-4-carbonitrilo

Se suspende 6-bromo-2-cloro-3-fluoropiridin-4-carboxamida (510 mg, 2,01 mmol) en diclorometano (10 mL), y se agrega reactivo de Burgess (CAS: 29684-56-8, 742 mg, 3,02 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agita durante 16 h y luego se purifica directamente mediante cromatografía en columna (SiO_2 , gradiente de CyH/EtOAc 1:0 a 9:1) para dar el compuesto del título.

$\text{C}_6\text{H}_4\text{BrClFN}_2$ (M=235,4 g/mol)
ESI-MS: masa no detectada
Rt (HPLC): 0,61 min (método B)
 ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8,45 (d, $J=3,8$ Hz, 1 H).

Intermediario II.1: 2-Cloro-6-(1-etoxietenil)-3-fluoropiridin-4-carbonitrilo

Bajo una atmósfera de argón, se suspende Int. II.3 (50,0 mg, 0,21 mmol) y tributil(1-etoxietenil)estano (87,9 μL , 0,23 mmol) en 1,4-dioxano (0,5 mL). Luego se agrega [1,1'-Bis(difenilfosfino)-ferrocen]-dicloro-paladio(II) ($\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$, CAS: 72287-26-4) (15,5 mg, 0,02 mmol), y la mezcla después se desgasifica durante 5 min. La mezcla de reacción se

calienta a 70 °C durante 10 h. La mezcla se concentra y el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (carga seca, SiO₂, gradiente de CyH/EtOAc 1:0 a 9:1) para dar el compuesto del título.

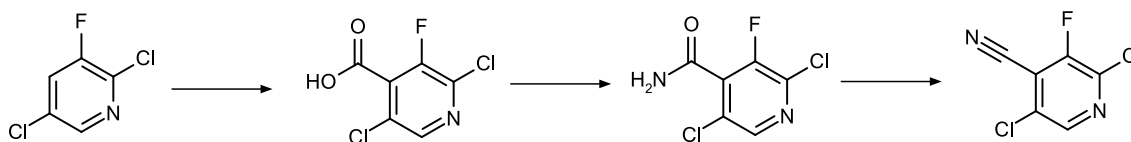
C₁₀H₈ClFN₂O (M=226,6 g/mol)

ESI-MS: masa no detectada

Rt (HPLC): 0,80 min (método B)

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,08 (d, J=4,1 Hz, 1 H), 5,31 (d, J=2,3 Hz, 1 H), 4,62 (d, J=2,3 Hz, 1 H), 3,97 (q, J=6,8 Hz, 2 H), 1,38 (t, J=7,0 Hz, 3 H).

Síntesis del Intermediario II.4



Int. II.4

ácido 2,5-dicloro-3-fluoropiridin-4-carboxílico

A una mezcla de 2,5-dicloro-3-fluoropiridina (10,00 g, 60,2 mmol) y DIPA (7,5 mL, 66,3 mmol) en THF (100 mL) se agrega n-BuLi (5,7 mL, 60,2 mmol) a -70 °C bajo N₂. La mezcla se agita a -70 °C durante 2 h. Luego se agrega CO₂ sólido recién picado (13,3 g, 301 mmol) en porciones a -70 °C. La mezcla resultante se agita a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se detiene mediante la adición de NH₄Cl (500 mL), se diluye con H₂O (500 mL), y se extrae con EtOAc (2 x 500 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (200 mL), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, PE/EtOAc gradiente 1:0 a 0:1) para dar ácido 2,5-dicloro-3-fluoropiridin-4-carboxílico.

C₆H₂Cl₂FNO₂ (M=210,0 g/mol)

ESI-MS: 210 [M+H]⁺

Rt (HPLC): 0,26 min (método D)

2,5-Dicloro-3-fluoropiridin-4-carboxamida

A una mezcla de ácido 2,5-dicloro-3-fluoropiridin-4-carboxílico (6,00 g, 28,6 mmol) en DCM (60 mL) se agrega cloruro de oxalilo (21,8 g, 171 mmol) bajo N₂ a 0 °C. Luego de 2 h, la mezcla de reacción se concentra bajo presión reducida, y el residuo se suspende en DCM (60 mL). Luego la mezcla de reacción se vierte lentamente sobre NH₃/H₂O (50 mL) y

se agita a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se filtra y se concentra bajo presión reducida para dar 2,5-dicloro-3-fluoropiridin-4-carboxamida.

$C_6H_3Cl_2FN_2O$ (M=209,0 g/mol)

ESI-MS: masa no detectada

Rt (HPLC): 0,40 min (método D)

Intermediario II.4: 2,5-dicloro-3-fluoropiridin-4-carbonitrilo

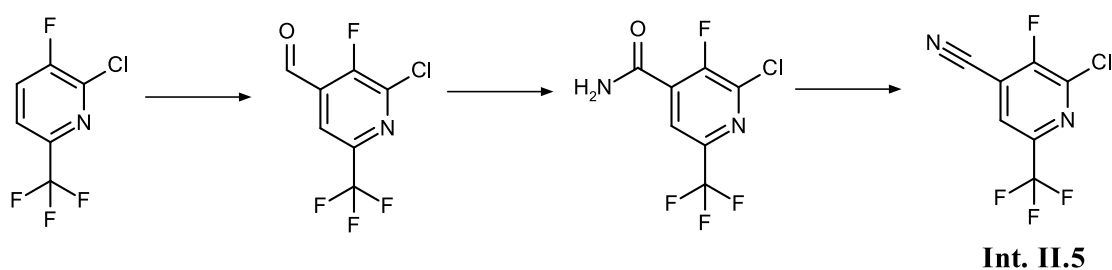
A una mezcla de 2,5-dicloro-3-fluoropiridin-4-carboxamida (3,00 g, 14,4 mmol) en DCM (30mL) se agrega TEA (3,19 g, 31,6 mmol) y TFAA (3,32 g, 15,8 mmol) bajo N_2 a 0 °C. La mezcla se agita a 10 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se diluye con H_2O (100 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 100 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (100 mL), se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO_2 , PE/EtOAc gradiente 1:0 a 3:1) para dar el compuesto del título.

$C_6HCl_2FN_2$ (M=191,0 g/mol)

ESI-MS: 190 [M-H]-

Rt (GCMS): 6,40 min (método E)

Síntesis del Intermediario II.5



2-Cloro-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carbaldehído

Bajo una atmósfera de argón, 2-cloro-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridina (14,2 g, 69,7 mmol) se agrega a THF (330 mL), y la mezcla resultante se enfría a -75 °C. Una solución de diisopropilamida de litio (1 M en THF, 77,0 mL, 77,0 mmol) se agrega por goteo en un periodo de 90 min, y la mezcla se agita durante 60 min a -75 °C. Se agrega DMF (6,44 mL, 83,7 mmol) por goteo. La mezcla se agita durante otros 30 min a -75 °C. La reacción se detiene mediante la adición de ácido acético de concentración media (40 mL) y se diluye con agua y EtOAc. La fase orgánica se separa, se lava con salmuera, se seca, y se concentra. El residuo

se purifica mediante cromatografía en columna (SiO_2 , CyH/EtOAc gradiente 100:0 a 85:15) para dar el compuesto deseado.

$\text{C}_7\text{H}_2\text{ClF}_4\text{NO}$ (M=227,5 g/mol)

EI-MS: 227 M^{*+}

Rt (HPLC): 0,48 min (método B)

2-Cloro-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carboxamida

Se mezcla acetato de amonio (47,1 g, 611 mmol) y 2-cloro-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carbaldehído (13,9 g, 61,1 mmol), y se agrega acetonitrilo (300 mL). Se agrega tribromuro de feniltrimetilamonio (47,4 g, 122 mmol) en pequeñas porciones, y la mezcla de reacción resultante se agita a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se filtra a través de una almohadilla de sílice, y el residuo se lava con acetonitrilo, se purifica mediante cromatografía en columna (SiO_2 , CyH/EtOAc gradiente 1:0 a 7:3) para dar el producto deseado.

$\text{C}_7\text{H}_3\text{ClF}_4\text{N}_2\text{O}$ (M=242,6 g/mol)

ESI-MS: 241 $[\text{M}-\text{H}]^-$

Rt (HPLC): 0,47 min (método B)

Intermediario II.6: 2-cloro-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carbonitrilo

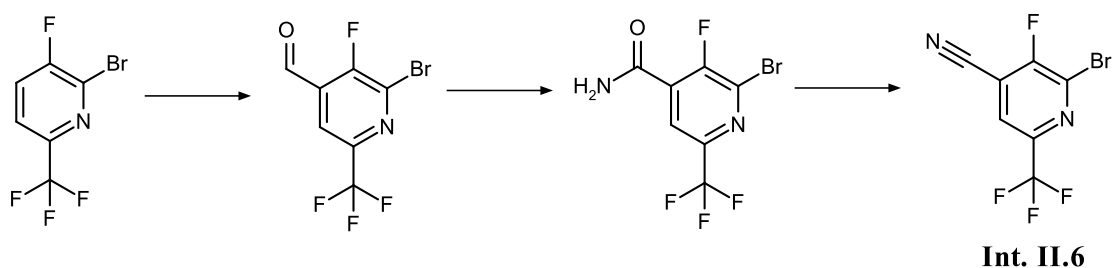
El producto del paso previo, 2-cloro-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carboxamida (5,10 g, 21,0 mmol) se suspende en diclorometano (400 mL), y se agrega reactivo de Burgess (CAS: 29684-56-8, 8,75 g, 35,6 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agita durante 40 h y luego se purifica directamente mediante cromatografía en columna (SiO_2 , CyH/EtOAc gradiente 100:0 a 95:5) para dar el compuesto del título.

$\text{C}_7\text{HClF}_4\text{N}_2$ (M=224,5 g/mol)

ESI-MS: 225 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Rt (HPLC): 0,57 min (método F)

Síntesis del Intermediario II.6



2-Bromo-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carbaldehído

Bajo una atmósfera de argón, 2-bromo-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridina (3,08 g, 12,6 mmol) se agrega a THF (75 mL), y la mezcla resultante se enfría a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Una solución de diisopropilamida de litio (1 M en THF, 13,9 mL, 13,9 mmol) se agrega por goteo, y la mezcla se agita durante 90 min a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se agrega DMF (1,17 mL, 15,1 mmol) por goteo. La mezcla se agita durante otros 30 min a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. La reacción se detiene mediante la adición de ácido acético de concentración media (800 μL) y se diluye con agua y EtOAc. La fase orgánica se separa, se seca sobre MgSO_4 , y se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO_2 , CyH/EtOAc gradiente 1:0 a 4:1) para dar 2-bromo-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carbaldehído.

$\text{C}_7\text{H}_2\text{BrF}_4\text{NO}$ (M=272,0 g/mol)

ESI-MS: masa no detectada

Rt (HPLC): 0,51 min (método B)

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 10,19 (s, 1 H), 8,26 (d, $J=4,3$ Hz, 1 H).

2-Bromo-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carboxamida

Se mezcla acetato de amonio (5,53 g, 71,8 mmol) y 2-bromo-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carbaldehído (2,17 g, 7,18 mmol), y se agrega acetonitrilo (44 mL). Se agrega tribromuro de feniltrimetilamonio (5,57 g, 14,4 mmol) en pequeñas porciones, y la mezcla de reacción resultante se agita durante 72 h a temperatura ambiente. La mezcla se filtra, y el residuo se lava con acetonitrilo, se purifica mediante cromatografía en columna (carga seca con Celite®, SiO_2 , CyH/EtOAc gradiente 1:0 a 7:3) para dar el producto deseado.

$\text{C}_7\text{H}_3\text{BrF}_4\text{N}_2\text{O}$ (M=287,0 g/mol)

ESI-MS: 285 / 287 $[\text{M}-\text{H}]^-$

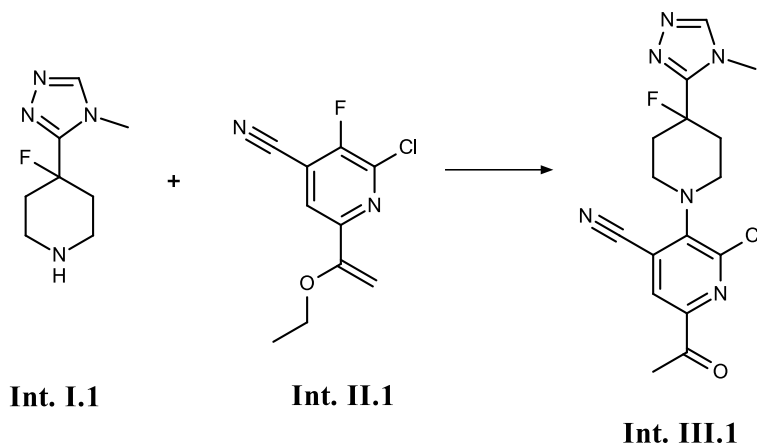
Rt (HPLC): 0,50 min (método B)

Intermediario II.6: 2-bromo-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carbonitrilo

El producto del paso previo, 2-bromo-3-fluoro-6-(trifluorometil)piridin-4-carboxamida (975 mg, 3,40 mmol), se suspende en diclorometano (80 mL), y se agrega reactivo de Burgess (CAS: 29684-56-8, 1,25 g, 5,10 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agita durante 40 h y luego se purifica directamente mediante cromatografía en columna (carga seca, SiO_2 , CyH/EtOAc gradiente 1:0 a 9:1) para dar el compuesto del título.

$C_7HBrF_4N_2$ (M=268,9 g/mol)
 ESI-MS: 268 / 270 $[M+H]^+$
 Rt (HPLC): 0,59 min (método C)

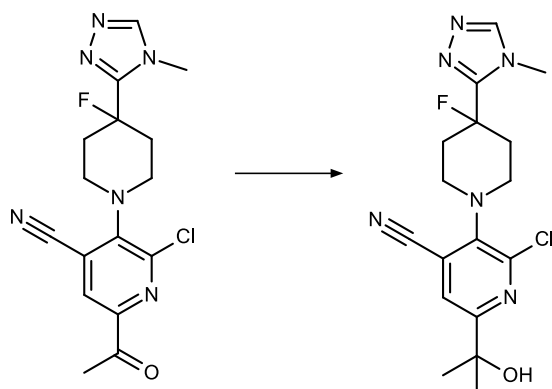
Intermediario III.1: 6-acetil-2-cloro-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]piridin-4-carbonitrilo



Se suspende el Int. II.1 (481 mg, 2,12 mmol) en DMSO (2,4 mL) y DIPEA (734 μ L, 4,25 mmol). A 15 °C, se agrega el Int. I.1 (586 mg, 3,18 mmol), y la mezcla resultante se agita a 15 °C durante 18 h. La mezcla se diluye con agua y el precipitado formado se filtra. El residuo se diluye con 1,4-dioxano y HCl en 1,4-dioxano 4 M (2,0 mL) y se agita a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se concentra y se tritura con una solución acuosa de K_2CO_3 a la mitad de la saturación. El precipitado formado se filtra, se lava con agua y MTBE, y se seca para dar el compuesto del título.

$C_{16}H_{16}ClFN_6O$ (M=362,8 g/mol)
 ESI-MS: 363 $[M+H]^+$
 Rt (HPLC): 0,66 min (método G)

Intermediario III.2: 2-cloro-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-6-(2-hidroxipropan-2-il)piridin-4-carbonitrilo

**Int. III.1****Int. III.2**

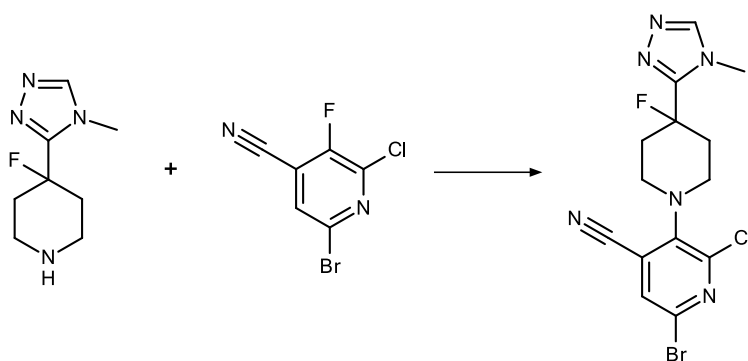
Bajo una atmósfera de argón, se suspende el Int. III.1 (265 mg, 0,73 mmol) en THF (4,0 mL). Se agrega bromuro de metilmagnesio (3,2 M en MeTHF, 274 μ L, 0,88 mmol) por goteo a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se detiene por adición de agua (100 μ L), se concentra, y se purifica mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de acetonitrilo/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto deseado.

$C_{17}H_{20}ClFN_6O$ (M=378,8 g/mol)

ESI-MS: 379 [M+H]⁺

Rt (HPLC): 0,56 min (método B)

Intermediario III.3: 6-bromo-2-cloro-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]piridin-4-carbonitrilo

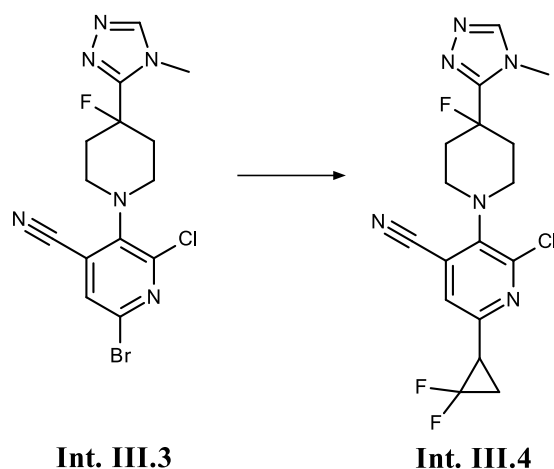
**Int. I.1****Int. II.2****Int. III.3**

El Int. II.2 (1,00 g, 4,25 mmol) se suspende en DMSO (4,0 mL) y DIPEA (1,47 mL, 8,50 mmol). A 15 °C, se agrega el Int. I.1 (900 mg, 4,89 mmol), y la mezcla resultante se agita a 15 °C durante 2 h. La mezcla se diluye con ACN/agua y se purifica mediante HPLC

preparativa (Sunfire C18, gradiente de acetonitrilo/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto deseado.

$C_{14}H_{13}BrClFN_6$ (M=399,6 g/mol)
ESI-MS: 399 / 401 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,75 min (método G)

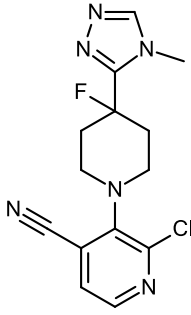
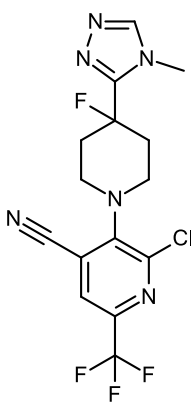
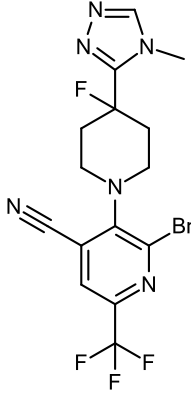
Intermediario III.4: 2-cloro-6-(2,2-difluorociclopropil)-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]piridin-4-carbonitrilo



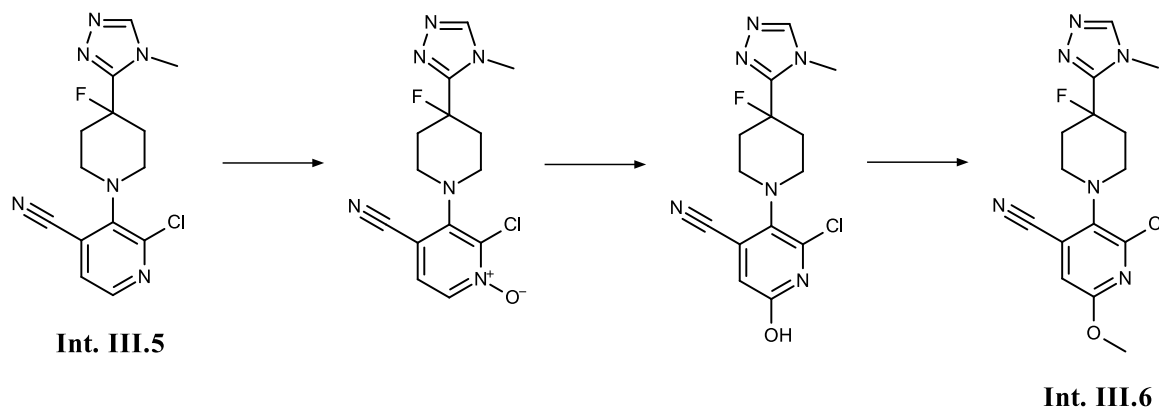
Bajo una atmósfera de argón, se suspende el Int. III.3 (150 mg, 0,36 mmol, 95 % de pureza) y ácido (2,2-difluorociclopropil)borónico (200 mg, 1,59 mmol, 97 % de pureza) en 1,4-dioxano (3 mL). Se agrega K_2CO_3 (acuoso 2 M, 535 μ L, 1,07 mmol), y la mezcla resultante se desgasifica durante 10 min pasando una corriente de argón a través de la mezcla. Se agrega [1,1'-Bis-(difenilfosfino)-ferrocen]-dicloro-paladio(II) ($Pd(dppf)Cl_2$) (26,1 mg, 0,04 mmol), y la mezcla se desgasifica nuevamente durante 5 min. La mezcla luego se calienta a 70 °C durante 12 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se purifica mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto del título.

$C_{17}H_{16}ClF_3N_6$ (M=396,8 g/mol)
ESI-MS: 397 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,56 min (método F)

Intermediarios sintetizados de manera análoga al procedimiento descrito para el Int. III.3

Int.	Material de partida	Estructura	Desviación del procedimiento general	Fórmula Molecular (PM) ESI-MS tiempo de retención HPLC (método)
III.5	Int. I.1 + 2-cloro-3-fluoropiridin-4-carbonitrilo		3 h a 10 °C 20 h a temperatura ambiente	$C_{14}H_{14}ClFN_6$ (M=320,8 g/mol) ESI-MS: 321 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,43 min (método F)
III.9	Int. I.1 + Int. II.5		15 min a temperatura ambiente purificación mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de acetonitrilo/agua que contiene 0,1% de NH ₃)	$C_{15}H_{13}ClF_4N_6$ (M=388,8 g/mol) ESI-MS: 389 / 391 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,59 min (método B)
III.10	Int. I.1 + Int. II.6		1,5 h a 15 °C purificación mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de acetonitrilo/agua que contiene 0,1% de NH ₃)	$C_{15}H_{13}BrF_4N_6$ (M=433,2 g/mol) ESI-MS: 433 / 435 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,54 min (método F)

Síntesis del Intermediario III.6



2-Cloro-4-ciano-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]piridin-1-io-1-olato

El Int. III.5 (500 mg, 1,56 mmol) se suspende en DCM (25 mL). Se agrega H₂O₂ (30 %, 530 mg, 4,68 mmol) y TFA (355 mg, 3,12 mmol), y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 18 h. Se observa material de partida restante. Se agregan las mismas cantidades de H₂O₂ y TFA tres veces y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 90 h. La mezcla de reacción se diluye con agua (5 mL) y el DCM se concentra. El residuo se purifica mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA). Las fracciones deseadas se combinan, el ACN se concentra, y el residuo acuoso se basifica con K₂CO₃. El precipitado formado se filtra, se lava con agua, y se seca para dar el compuesto deseado.

C₁₄H₁₄ClFN₆O (M=336,8 g/mol)
 ESI-MS: 337 / 339 [M+H]⁺
 Rt (HPLC): 0,33 min (método B)

2-Cloro-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-6-hidroxipiridin-4-carbonitrilo

Se suspende 2-Cloro-4-ciano-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]piridin-1-io-1-olato (100 mg, 0,30 mmol) en THF (4 mL). Se agrega anhídrido trifluoroacético (124 µL, 0,89 mmol), y la mezcla de reacción se agita a 60 °C durante 18 h. La mezcla de reacción se detiene por adición de una solución acuosa saturada de K₂CO₃. El THF se concentra, y el residuo acuoso se agita a temperatura ambiente durante 0,5 h. La mezcla de reacción se concentra, y el residuo se purifica mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de NH₃) para dar el compuesto deseado.

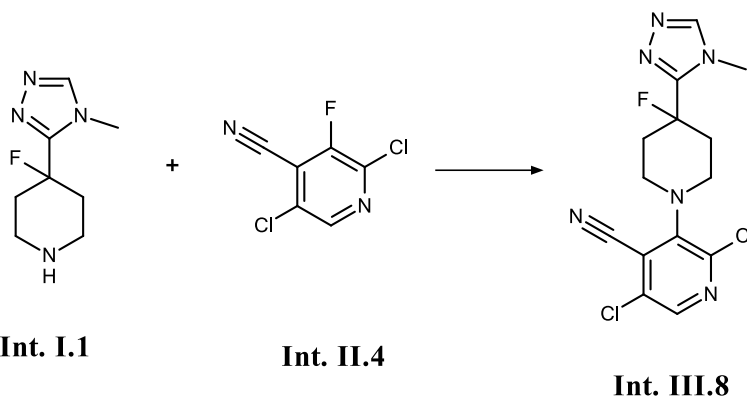
$C_{14}H_{14}ClFN_6O$ (M=336,8 g/mol)
 ESI-MS: 337 [M+H]⁺
 Rt (HPLC): 0,22 min (método B)

Intermediario III.6: 2-cloro-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-6-metoxipiridin-4-carbonitrilo

Se suspende 2-cloro-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-6-hidroxipiridin-4-carbonitrilo (63,0 mg, 0,19 mmol) en cloroformo (5 mL), se agrega carbonato de plata (77,4 mg, 0,28 mmol) y yoduro de metilo (115 mg, 0,81 mmol), y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 d. La mezcla de reacción se concentra, se diluye con ACN, se filtra, y se purifica mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de NH₃) para dar el compuesto deseado.

$C_{15}H_{16}ClFN_6O$ (M=350,8 g/mol)
 ESI-MS: 351 / 353 [M+H]⁺
 Rt (HPLC): 0,56 min (método B)

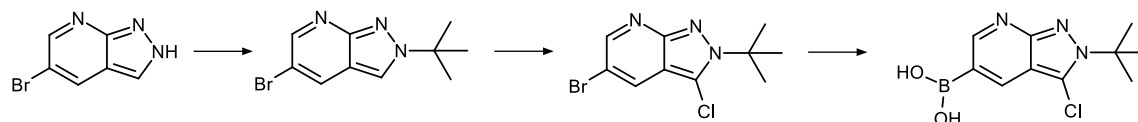
Intermediario III.8: 2,5-dicloro-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]piridin-4-carbonitrilo



Al Int. II.7 (0,17 g, 0,89 mmol) en DMF (5 mL) se agrega Int. I.1 (0,96 g, 5,21 mmol) y K₂CO₃ (2,40 g, 22,7 mmol). La mezcla se agita a 100 °C durante 10 h. La mezcla de reacción se diluye con H₂O (100 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 200 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (100 mL), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, PE/EtOAc gradiente 1:0 a 0:1) y mediante HPLC preparativa (Agela DuraShell C18, gradiente de ACN/agua que contiene 10 mM de NH₄HCO₃) para dar el compuesto del título.

$C_{14}H_{13}Cl_2FN_6$ (M=355,2 g/mol)
 ESI-MS: 355 / 357 [M+H]⁺
 Rt (HPLC): 2,27 min (método H)

Síntesis del Intermediario IV.1



Int. IV.1

5-Bromo-2-*tert*-butil-2H-pirazolo[3,4-*b*]piridina

Se suspende 5-bromo-2H-pirazolo[3,4-*b*]piridina (8,00 g, 39,6 mmol) en tolueno (50 mL), y acetato de *tert*-butilo (53,1 mL, 396 mmol). Se agrega ácido metansulfónico (2,60 mL, 39,6 mmol). La mezcla de reacción resultante se calienta a 80 °C y se agita durante 1 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, se agrega más ácido metansulfónico (2,60 mL, 39,6 mmol), y la mezcla de reacción se calienta a 80 °C y se agita durante 1 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentra, y el residuo se diluye con DCM. La mezcla se basifica por adición de NaOH 1 M. Las fases se separan, y la fase acuosa se extrae con DCM. Las fases orgánicas combinadas se lavan con H₂O, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, CyH/EtOAc gradiente 9:1 a 0:10) para dar el compuesto deseado.

$C_{10}H_{12}BrN_3$ (M=254,1 g/mol)
 ESI-MS: 254 / 256 [M+H]⁺
 Rt (HPLC): 0,85 min (método C)

5-Bromo-2-*tert*-butil-3-cloro-2H-pirazolo[3,4-*b*]piridina

A una mezcla de 5-bromo-2-*tert*-butil-2H-pirazolo[3,4-*b*]piridina (4,00 g, 14,2 mmol) en ACN (40 mL) se agrega NCS (2,08 g, 15,6 mmol) a 20 °C bajo N₂. La mezcla se agita a 85 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se concentra bajo presión reducida para eliminar el solvente. El residuo se diluye con H₂O (20 mL) y se extrae con EtOAc (3 x 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, PE/EtOAc gradiente 1:0 a 0:1) para dar el compuesto deseado.

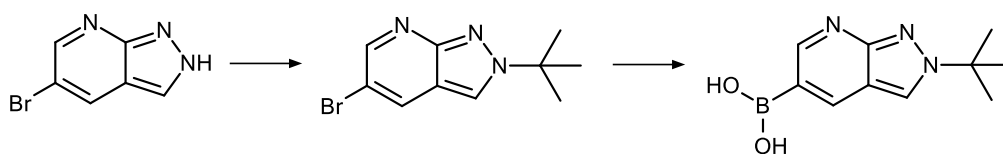
$C_{10}H_{11}BrClN_3$ (M=288,6 g/mol)
 ESI-MS: 288 / 290 $[M+H]^+$
 Rt (HPLC): 0,55 min (método I)

Intermediario IV.1: ácido {2-*tert*-butil-3-cloro-2H-pirazolo[3,4-*b*]piridin-5-il}borónico

A una mezcla de 5-bromo-2-*tert*-butil-3-cloro-2H-pirazolo[3,4-*b*]piridina (3,00 g, 9,36 mmol) en 1,4-dioxano (60 mL) se agrega 4,4,5,5-tetrametil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (3,09 g, 12,2 mmol), KOAc (2,75 g, 28,1 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (0,68 g, 0,94 mmol) bajo N₂. La mezcla se agita a 100 °C bajo N₂ durante 12 h. La mezcla de reacción se diluye con H₂O (40 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 40 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (20 mL), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, PE/EtOAc gradiente 1:0 a 1:1) para dar el compuesto del título.

$C_{10}H_{13}BClN_3O_3$ (M=253,5 g/mol)
 ESI-MS: 254 / 256 $[M+H]^+$
 Rt (HPLC): 0,33 min (método I)

Síntesis del Intermediario IV.2



Int. IV.2

5-Bromo-2-*tert*-butil-2H-pirazolo[3,4-*b*]piridina

Se suspende 5-bromo-2H-pirazolo[3,4-*b*]piridina (4,0 g, 19,8 mmol) en tolueno (23 mL), y se agrega acetato de *tert*-butilo (26,6 mL, 198 mmol). Se agrega ácido metansulfónico (1,3 mL, 19,8 mmol) lentamente. La mezcla de reacción resultante se calienta a 80 °C y se agita durante 1 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, se agrega más ácido metansulfónico (1,3 mL, 19,8 mmol), y la mezcla de reacción se calienta a 80 °C y se agita durante 1 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentra y se purifica mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar 5-bromo-2-*tert*-butil-2H-pirazolo[3,4-*b*]piridina.

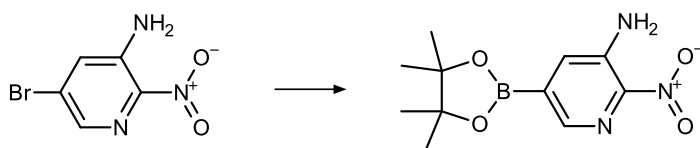
$C_{10}H_{12}BrN_3$	(M=254,1 g/mol)
ESI-MS:	254 / 256 $[M+H]^+$
Rt (HPLC):	0,50 min (método F)

Intermediario IV.2: ácido {2-*tert*-butil-2H-pirazolo[3,4-b]piridin-5-il}borónico

Se agrega 5-bromo-2-*tert*-butil-2H-pirazolo[3,4-b]piridina (1,50 g, 3,87 mmol), bis(pinacolato)diborano (1,21 g, 4,78 mmol), y acetato de potasio (763 mg, 7,77 mmol) a 1,4-dioxano (15 mL), y la mezcla resultante se desgasifica pasando una corriente de argón a través de la mezcla durante 10 min. Se agrega complejo [1,1'-Bis-(difenilfosfino)-ferrocen]-dicloro-paladio(II) diclorometano ($Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$, CAS: 95464-05-4) (190 mg, 0,232 mmol), y la mezcla se desgasifica durante otros 3 min. La mezcla luego se calienta a 110 °C y se agita a esta temperatura durante 4 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se concentra, y el residuo se suspende en una mezcla de ACN/agua, se filtra, y se purifica mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto del título.

$C_{10}H_{14}BN_3O_2$	(M=219,1 g/mol)
ESI-MS:	220 $[M+H]^+$
Rt (HPLC):	0,27 min (método F)

Intermediario IV.3: 2-nitro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-3-amina

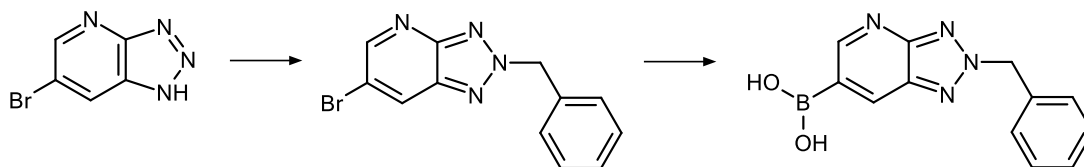


Int. IV.3

Bajo una atmósfera de argón, se agrega 5-bromo-2-nitropiridin-3-amina (200 mg, 0,88 mmol, 96 % de pureza), bis(pinacolato)diborano (300 mg, 1,18 mmol), y acetato de potasio (259 mg, 2,64 mmol) a 1,4-dioxano (4 mL), y la mezcla resultante se desgasifica pasando una corriente de argón a través de la mezcla durante 15 min. Se agrega $PdCl_2(PPh_3)_2$ (61,2 mg, 0,09 mmol), y la mezcla se calienta a 60 °C y se agita a esta temperatura durante 4,5 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluye con EtOAc, se filtra a través de una almohadilla de Celite, y se concentra. El residuo se tritura con MTBE, el precipitado formado se filtra, se lava con MTBE, y se seca para dar el compuesto del título.

$C_{11}H_{16}BN_3O_4$ (M=265,1 g/mol)
 ESI-MS: 266 [M+H]⁺
 Rt (HPLC): 0,20 min (método F)

Síntesis del Intermediario IV.4



Int. IV.4

2-Bencil-6-bromo-2H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridina

Se suspende 6-bromo-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridina (600 mg, 2,96 mmol) en DMSO (5 mL) y DIPEA (1,00 mL, 5,91 mmol). Se agrega bromuro de bencilo (359 μ L, 2,96 mmol) y la mezcla de reacción resultante se calienta a 90 °C y se agita durante 16 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente la mezcla de reacción se purifica mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de NH₃) para dar el compuesto deseado.

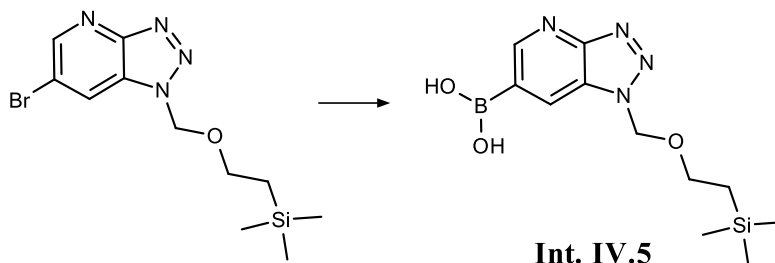
$C_{12}H_9BrN_4$ (M=289,1 g/mol)
 ESI-MS: 289 / 291 [M+H]⁺
 Rt (HPLC): 0,59 min (método F)

Intermediario IV.4: ácido {2-bencil-2H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-6-il}borónico

Se agrega 2-bencil-6-bromo-2H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridina (310 mg, 1,07 mmol), bis(pinacolato)diborano (407 g, 1,61 mmol), y acetato de potasio (315 mg, 3,22 mmol) a 1,4-dioxano (2 mL), y la mezcla resultante se desgasifica pasando una corriente de argón a través de la mezcla. Se agrega PdCl₂(PPh₃)₂ (75,3 mg, 0,11 mmol), y la mezcla se calienta a 100 °C y se agita a esta temperatura durante 3 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluye con EtOAc, se filtra a través de una almohadilla de celite, y se concentra. El residuo se suspende en una mezcla de ACN/agua, y se purifica mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto del título.

$C_{12}H_{11}BN_4O_2$ (M=254,1 g/mol)
 ESI-MS: 255 [M+H]⁺
 Rt (HPLC): 0,41 min (método F)

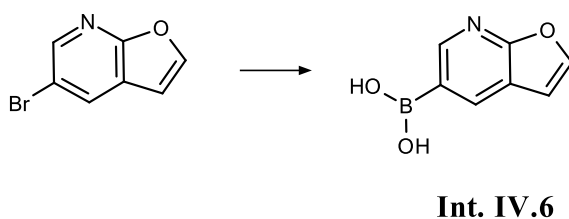
Intermediario IV.5: ácido (1-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-6-il)borónico



Bajo una atmósfera de argón, se agrega 6-bromo-1-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridina (100 mg, 0,30 mmol), bis(pinacolato)diborano (231 mg, 0,91 mmol), y acetato de potasio (116 mg, 1,18 mmol) a 1,4-dioxano (2 mL), y la mezcla resultante se desgasifica pasando una corriente de argón a través de la mezcla durante 15 min. Se agrega $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (21,3 mg, 0,03 mmol), y la mezcla se calienta a 60 °C y se agita a esta temperatura durante 16 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se concentra, y el residuo se suspende en una mezcla de ACN/agua, se filtra, y se purifica mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto del título.

$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{BN}_4\text{O}_3\text{Si}$ (M=294,2 g/mol)
 ESI-MS: 295 $[\text{M}+\text{H}]^+$
 Rt (HPLC): 0,51 min (método F)

Intermediario IV.6: ácido {furo[2,3-b]piridin-5-il}borónico

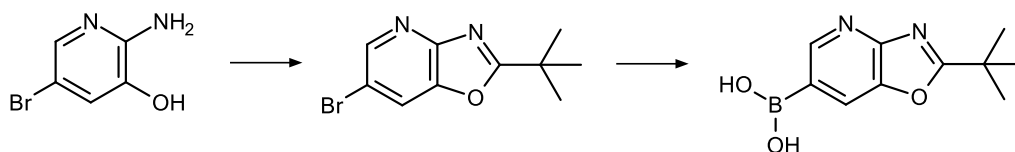


Bajo una atmósfera de argón, 5-bromofuro[2,3-b]piridina (250 mg, 1,20 mmol, 95 % de pureza), bis(pinacolato)diborano (487 mg, 1,92 mmol), y acetato de potasio (459 mg, 4,68 mmol) se agrega a 1,4-dioxano (5 mL), y la mezcla resultante se desgasifica pasando una corriente de argón a través de la mezcla durante 15 min. Se agrega $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (105 mg, 0,15 mmol), y la mezcla se calienta a 60 °C y se agita a esta temperatura durante 16 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluye con EtOAc, se filtra, y se concentra.

El residuo se suspende en una mezcla de ACN/agua, y se purifica mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto del título.

$C_7H_6BNO_3$ (M=162,9 g/mol)
ESI-MS: 164 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,39 min (método G)

Síntesis del Intermediario IV.7



Int. IV.7

6-Bromo-2-tert-butil-[1,3]oxazolo[4,5-b]piridina

Se agrega 2-amino-5-bromopiridin-3-ol (200 mg, 1,04 mmol) y cloruro de pivaloilo (1,48 g, 12,1 mmol) en un vial para microondas y la mezcla de reacción resultante se calienta a 120 °C en el vial cerrado y se agita a esta temperatura durante 40 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluye con DCM y se lava con NaHCO₃. La fase orgánica se seca, se filtra y se concentra para dar el compuesto deseado.

$C_{10}H_{11}BrN_2O$ (M=255,1 g/mol)
ESI-MS: 255 / 257 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,59 min (método F)

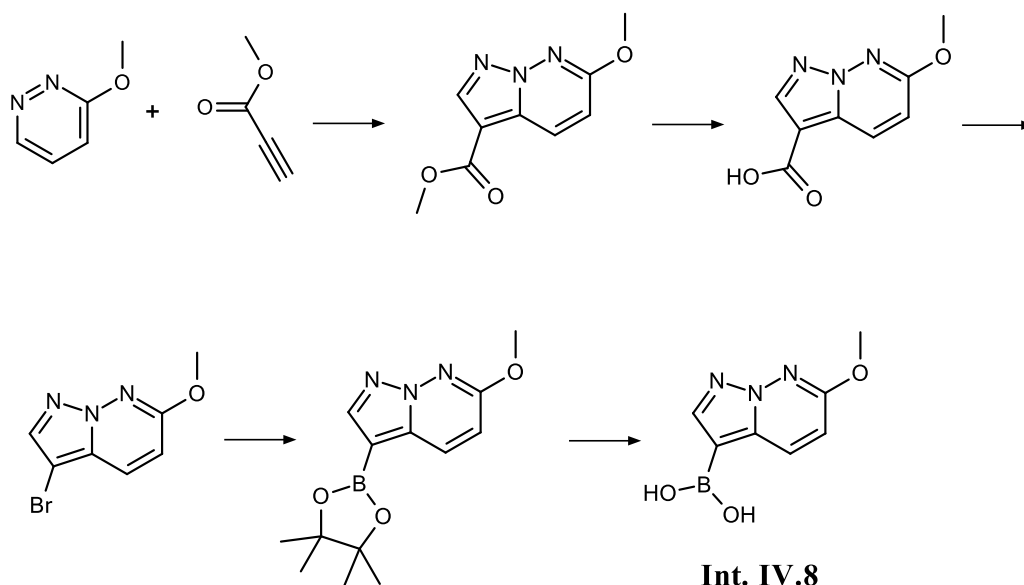
Intermediario IV.7: ácido {2-tert-butil-[1,3]oxazolo[4,5-b]piridin-6-il}borónico

Bajo una atmósfera de argón, se agrega 6-bromo-2-tert-butil-[1,3]oxazolo[4,5-b]piridina (210 mg, 0,82 mmol), bis(pinacolato)diborano (334 mg, 1,32 mmol), y acetato de potasio (315 mg, 3,21 mmol) a 1,4-dioxano (4 mL), y la mezcla resultante se desgasifica pasando una corriente de argón a través de la mezcla durante 15 min. Se agrega PdCl₂(PPh₃)₂ (72,2 mg, 0,10 mmol), y la mezcla se calienta a 60 °C y se agita a esta temperatura durante 90 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluye con EtOAc, se filtra, y se concentra. El residuo se suspende en una mezcla de ACN/agua, y se purifica mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto del título.

$C_{10}H_{13}BN_2O_3$ (M=220,0 g/mol)

ESI-MS: 221 [M+H]⁺
 Rt (HPLC): 0,39 min (método F)

Síntesis del Intermediario IV.8



6-metoxipirazolo[1,5-b]piridazin-3-carboxilato de metilo

A una mezcla de ácido hidroxilamin-O-sulfónico (17,0 g, 150 mmol) en H₂O (50 mL) se agrega NaHCO₃ acuoso (100 mL) para ajustar el pH a 6 y se eleva la temperatura hasta 70 °C. Luego se agrega 3-metoxipiridazina (5,00 g, 45,4 mmol) a la mezcla. La mezcla se agita a 70 °C durante 2 h. Luego de enfriar la reacción a 25 °C, el pH se ajusta a 8. Una suspensión de prop-2-inoato de metilo (6,30 g, 74,9 mmol) y KOH (10,0 g, 178 mmol) en DCM (50 mL) se agrega a la mezcla. La mezcla resultante se agita a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se diluye con H₂O (200 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 200 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (100 mL), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, PE/EtOAc gradiente 1:0 a 1:1) para dar el compuesto deseado.

C₉H₉N₃O₃ (M=207,2 g/mol)
 ESI-MS: 208 [M+H]⁺
 Rt (HPLC): 0,53 min (método D)

ácido 6-metoxipirazolo[1,5-b]piridazin-3-carboxílico

A una mezcla de 6-metoxipirazolo[1,5-b]piridazin-3-carboxilato de metilo (10,0 g, 48,3 mmol) en THF (20 mL) se agrega LiOH (4,05 g, 96,5 mmol) y H₂O (10 mL). La mezcla se

agita a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se diluye con H₂O (100 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 200 mL). La fase acuosa se ajusta a pH 1, el precipitado formado se filtra y se concentra para dar el compuesto del título.

C₈H₇N₃O₃ (M=193,2 g/mol)
ESI-MS: 194 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,41 min (método D)

3-Bromo-6-metoxipirazolo[1,5-b]piridazina

A una mezcla de ácido 6-metoxipirazolo[1,5-b]piridazin-3-carboxílico (8,00 g, 41,4 mmol) en DMF (80 mL) se agrega NBS (14,7 g, 82,8 mmol). La mezcla se agita a 25 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se diluye con H₂O (200 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 200 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (100 mL), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, PE/EtOAc gradiente 1:0 a 3:1) para dar el compuesto deseado.

C₇H₆BrN₃O (M=228,0 g/mol)
ESI-MS: 228 / 230 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,63 min (método D)

6-Metoxi-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirazolo[1,5-b]piridazina

A una mezcla de 3-bromo-6-metoxi-pirazolo[1,5-b]piridazina (8,00 g, 29,8 mmol, 85 % de pureza) en 1,4-dioxano (80 mL) se agrega bis(pinacolato)diborano (11,4 g, 44,7 mmol), acetato de potasio (17,8 g, 107 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (3,45 g, 2,98 mmol) bajo N₂. La mezcla se agita a 100 °C durante 12 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluye con H₂O (100 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 200 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (100 mL), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, PE/EtOAc gradiente 1:0 a 3:1) para dar el compuesto deseado.

C₁₃H₁₈BN₃O₃ (M=275,1 g/mol)
ESI-MS: 276 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,73 min (método D)

Intermediario IV.8: ácido {6-metoxipirazolo[1,5-b]piridazin-3-il}borónico

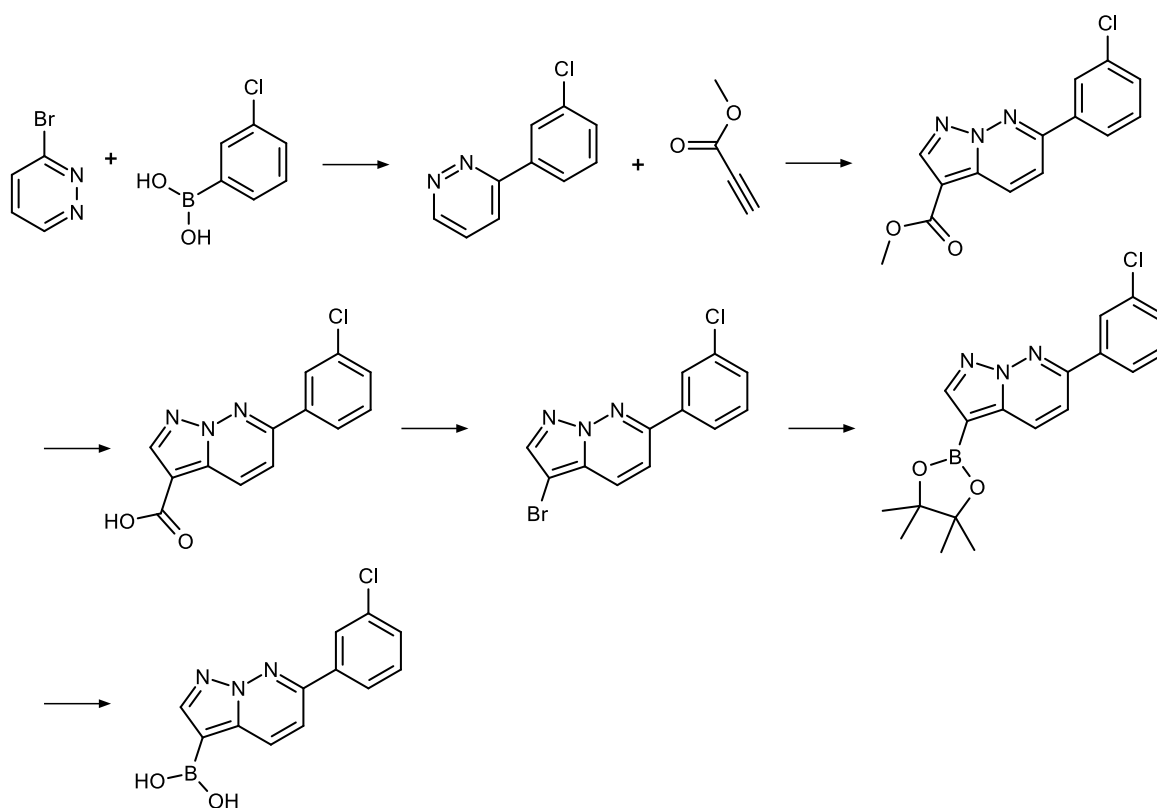
A una mezcla de 6-metoxi-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirazolo[1,5-b]piridazina (7,00 g, 10,2 mmol, 40 % de pureza) en MeOH (50 mL) se agrega HCl (5 mL). La mezcla se agita a 25 °C durante 5 h. La mezcla de reacción se filtra y se concentra bajo presión reducida para dar el compuesto deseado.

$C_7H_8BN_3O_3$ (M=193,0 g/mol)

ESI-MS: 194 [M+H]⁺

Rt (HPLC): 1,47 min (método J)

Síntesis del Intermediario IV.9



Int. IV.9

3-(3-Clorofenil)piridazina

A una mezcla de 3-bromopiridazina (30,0 g, 147 mmol, 78 % de pureza) en 1,4-dioxano (300 mL) y H₂O (30 mL) se agrega ácido (3-clorofenil)borónico (29,9 g, 191 mmol), KOAc (43,3 g, 442 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ * DCM (6,01 g, 7,36 mmol) bajo N₂. La mezcla se agita a 100 °C durante 12 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluye con H₂O (200 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 300 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (100 mL), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra bajo

presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO_2 , PE/EtOAc gradiente 1:0 a 3:1) para dar el compuesto deseado.

$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{ClN}_2$ (M=190,6 g/mol)
ESI-MS: 191 $[\text{M}+\text{H}]^+$
Rt (HPLC): 0,53 min (método D)

6-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-b]piridazin-3-carboxilato de metilo

A una mezcla de ácido hidroxilamin-O-sulfónico (32,3 g, 285 mmol) en H_2O (200 mL) se agrega NaHCO_3 (200 mL) para ajustar el pH a 6 y se eleva la temperatura hasta 70 °C. Luego se agrega 3-(3-clorofenil)piridazina (35,0 g, 184 mmol) a la mezcla. La mezcla se agita a 70 °C durante 2 h. Luego de enfriar la reacción a 25 °C, el pH se ajusta a 7. Se agrega prop-2-inoato de metilo (4,00 g, 47,6 mmol) en DCM (100 mL) a la mezcla. La mezcla resultante se agita a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se diluye con H_2O (500 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 1000 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (500 mL), se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO_2 , PE/EtOAc gradiente 1:0 a 2:1) para dar el compuesto deseado.

$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{ClN}_3\text{O}_2$ (M=287,7 g/mol)
ESI-MS: 288 $[\text{M}+\text{H}]^+$
Rt (HPLC): 0,78 min (método D)

ácido 6-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-b]piridazin-3-carboxílico

A una mezcla de 6-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-b]piridazin-3-carboxilato de metilo (5,00 g, 10,4 mmol, 60 % de pureza) en THF (50 mL) se agrega LiOH (0,88 g, 20,9 mmol) y H_2O (30 mL). La mezcla se agita a 25 °C durante 5 h. La mezcla de reacción se diluye con H_2O (100 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 200 mL). La fase acuosa se ajusta a pH 1. Luego la fase acuosa se extrae con EtOAc (2 x 200 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (200 mL), se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra, y se concentra bajo presión reducida para dar el compuesto deseado.

$\text{C}_{13}\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}_2$ (M=273,7 g/mol)
ESI-MS: 274 $[\text{M}+\text{H}]^+$
Rt (HPLC): 0,64 min (método D)

3-Bromo-6-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-b]piridazina

A una mezcla de ácido 6-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-b]piridazin-3-carboxílico (1,60 g, 5,44 mmol, 93 % de pureza) en DMF (15 mL) se agrega NBS (1,94 g, 10,9 mmol). La mezcla se agita a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se diluye con H₂O (50 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 100 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (50 mL), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, PE/EtOAc gradiente 1:0 a 1:1) para dar el compuesto deseado.

C₁₃H₈ClN₃O₂ (M=273,7 g/mol)

ESI-MS: 274 [M+H]⁺

Rt (HPLC): 0,64 min (método D)

6-(3-Clorofenil)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirazolo[1,5-b]piridazina

A una mezcla de 3-bromo-6-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-b]piridazina (1,00 g, 2,59 mmol, 80 % de pureza) en 1,4-dioxano (10 mL) se agrega bis(pinacolato)diborano (3,95 g, 15,6 mmol), acetato de potasio (0,91 g, 9,33 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (0,60 g, 0,519 mmol) bajo N₂. La mezcla se agita a 100 °C durante 12 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluye con H₂O (100 mL) y se extrae con EtOAc (2 x 100 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con salmuera (100 mL), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, PE/EtOAc gradiente 1:0 a 3:1) para dar el compuesto deseado.

C₁₈H₁₉BClN₃O₂ (M=355,6 g/mol)

ESI-MS: 356 [M+H]⁺

Rt (HPLC): 0,90 min (método D)

Intermediario IV.9: ácido [6-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-b]piridazin-3-il]borónico

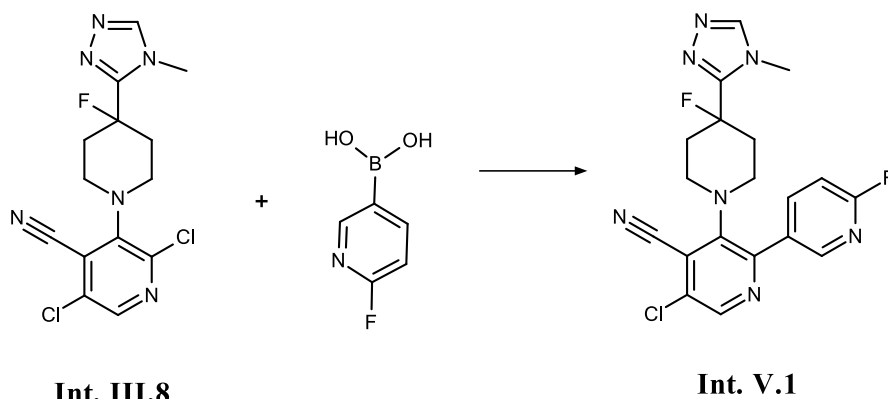
Se purifica 6-(3-clorofenil)-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirazolo[1,5-b]piridazina mediante HPLC preparativa (Instrumento: HPLC preparativa Shimadzu LC-8A; Columna: Welch Xtimate C18 250 * 70 mm, 10 µm; Fase móvil: A es H₂O (10 mM de NH₄HCO₃) y B es ACN; Gradiente: B desde 53 % hasta 83 % en 20 min; Velocidad de flujo: 130 mL/min; Longitud de onda: 220 y 254 nm) para dar el compuesto del título.

C₁₂H₉BClN₃O₂ (M=273,5 g/mol)

ESI-MS: 274 [M+H]⁺

Rt (HPLC): 2,57 min (método K)

Intermediario V.1: 5-cloro-6'-fluoro-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)pipe-ridin-1-il]-[2,3'-bipiridin]-4-carbonitrilo



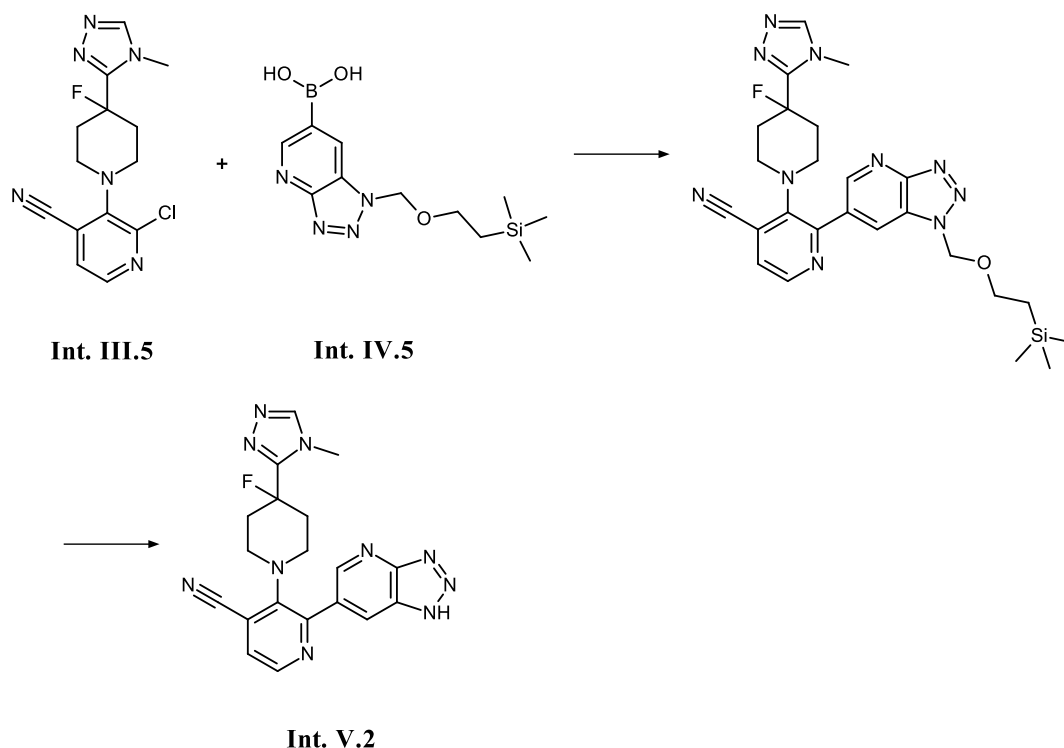
Bajo una atmósfera de argón, se suspende el Int. III.8 (20,0 mg, 0,06 mmol) y ácido (6-fluoropiridin-3-il)borónico (7,90 mg, 0,06 mmol) en 1,4-dioxano (3 mL). Se agrega K_2CO_3 (acuoso 2 M, 110 μ L, 0,22 mmol), y la mezcla resultante se desgasifica pasando una corriente de argón a través de la mezcla. Se agrega [1,1'-Bis-(difenilfosfino)-ferrocen]-dicloropaladio(II) ($Pd(dppf)Cl_2$) (4,02 mg, 0,005 mmol), y la mezcla se desgasifica nuevamente. La mezcla luego se calienta a 70 °C durante 1 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluye con H_2O , se filtra, se lava con DMF, y se purifica mediante SFC preparativa (Torus_1AA; MeOH/ CO_2 ; 40 °C; BPR: 120bar) para dar el compuesto del título.

$C_{19}H_{16}ClF_2N_7$ (M=415,8 g/mol)

ESI-MS: 416 $[M+H]^+$

Rt (HPLC): 0,68 min (método L)

Síntesis del Intermediario V.2



3-[4-Fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-2-(1-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-6-il)piridin-4-carbonitrilo

Bajo una atmósfera de argón, se suspende el Int. III.5 (96,4 mg, 0,30 mmol) y el Int. IV.5 (88,4 mg, 0,30 mmol) en 1,4-dioxano (3 mL). Se agrega K_2CO_3 (acuoso 2 M, 300 μ L, 0,60 mmol), y la mezcla resultante se desgasifica pasando una corriente de argón a través de la mezcla. Se agrega [1,1'-Bis-(difenilfosfino)-ferrocen]-dicloro-paladio(II) ($Pd(dppf)Cl_2$) (22,0 mg, 0,03 mmol), y la mezcla se desgasifica nuevamente. La mezcla luego se calienta a 100 °C durante 3,5 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluye con ACN, se filtra, y se purifica mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto deseado.

$C_{25}H_{31}FN_{10}OSi$ (M=534,7 g/mol)

ESI-MS: 535 $[M+H]^+$

Rt (HPLC): 0,83 min (método G)

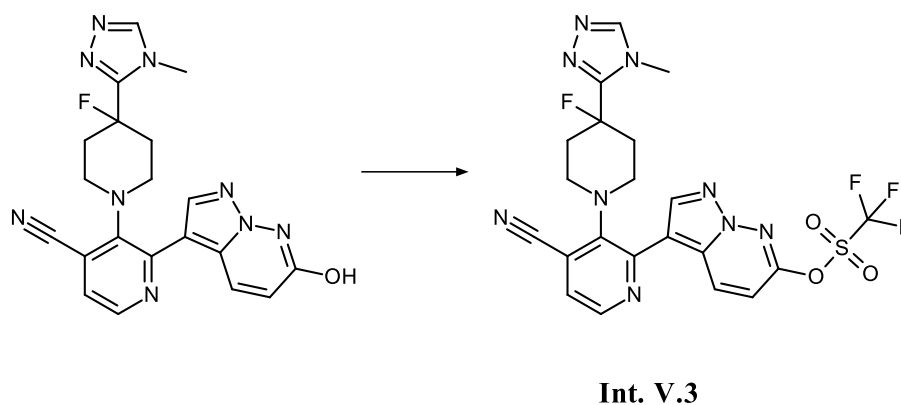
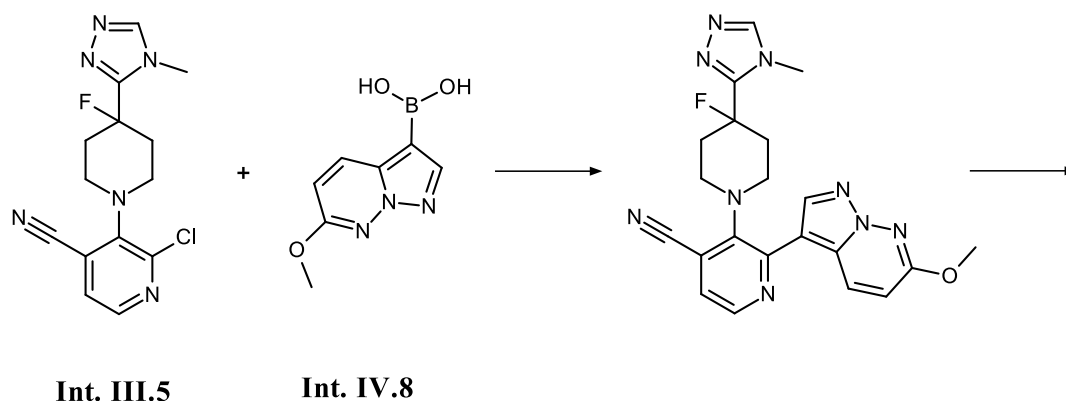
Intermediario V.2: 3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-2-{1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-6-il}piridin-4-carbonitrilo

Se suspende 3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-2-(1-{[2-(trimetilsilil)etoxi]metil}-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-6-il)piridin-4-carbonitrilo (129 mg, 0,24 mmol) en DCM (1,76 mL). Se agrega TFA (0,88 mL, 11,4 mmol), y la mezcla de reacción

se agita a temperatura ambiente durante 5 h. La mezcla de reacción se concentra, y el residuo se purifica mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto deseado.

$C_{19}H_{17}FN_{10}$ (M=404,4 g/mol)
ESI-MS: 405 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,46 min (método G)

Síntesis del Intermediario V.3



3-[4-Fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-2-{6-metoxipirazolo[1,5-b]piridazin-3-il}piridin-4-carbonitrilo

Bajo una atmósfera de argón, se suspende el Int. III.5 (1,00 g, 3,12 mmol) y el Int. IV.8 (663 mg, 3,27 mmol) en 1,4-dioxano (12 mL). Se agrega Na_2CO_3 (acuoso 2 M, 4,68 mL, 9,35 mmol), y la mezcla resultante se desgasifica pasando una corriente de argón a través de la mezcla. Se agrega $Pd(dppf)Cl_2 \cdot DCM$ (50,9 mg, 0,06 mmol), y la mezcla se desgasifica

nuevamente. La mezcla luego se calienta a 100 °C durante 2 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluye con agua y se extrae con DCM (2 x). Las fases orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, EtOAc/MeOH gradiente 1:0 a 8:2) para dar el compuesto del título.

C₂₁H₂₀FN₉O (M=433,4 g/mol)
ESI-MS: 434 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,81 min (método C)

3-[4-Fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-2-{6-hidroxipirazolo[1,5-b]piridazin-3-il}piridin-4-carbonitrilo

Se suspende 3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-2-{6-metoxipirazolo[1,5-b]piridazin-3-il}piridin-4-carbonitrilo (850 mg, 1,96 mmol) en DMF (8 mL). Se agrega tiometóxido de sodio (687 mg, 8,83 mmol, 90 % de pureza), y la mezcla de reacción se agita a 130 °C durante 1 h. Luego de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, EtOAc/MeOH gradiente 1:0 a 1:1) y se purifica nuevamente mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto deseado.

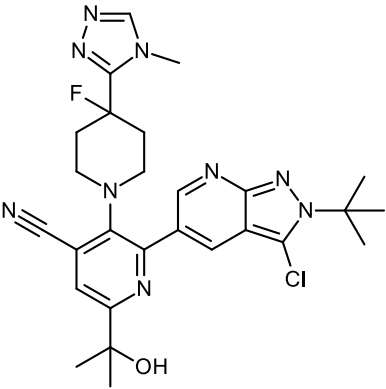
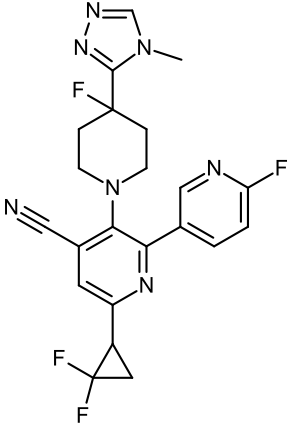
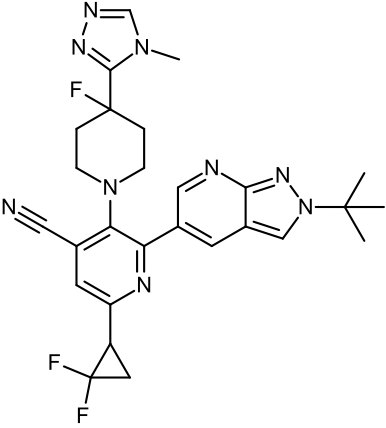
C₂₀H₁₈FN₉O (M=419,4 g/mol)
ESI-MS: 420 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,74 min (método C)

Intermediario V.3: trifluorometansulfonato de 3-{4-ciano-3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]piridin-2-il}pirazolo[1,5-b]piridazin-6-ilo

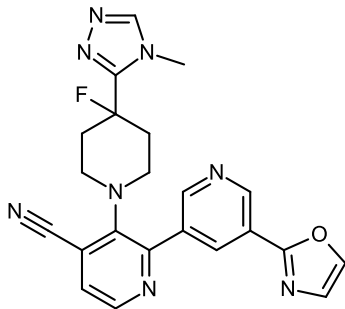
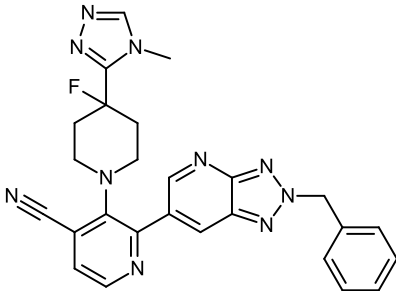
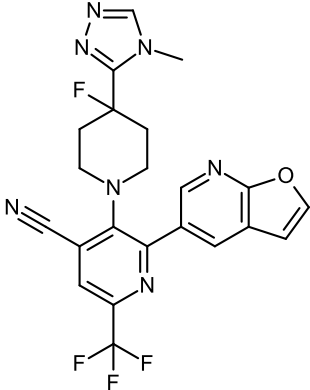
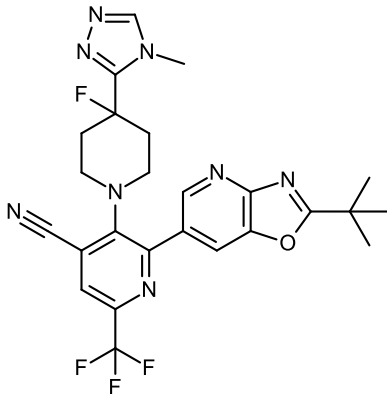
Se suspende 3-[4-fluoro-4-(4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)piperidin-1-il]-2-{6-hidroxipirazolo[1,5-b]piridazin-3-il}piridin-4-carbonitrilo (540 mg, 1,29 mmol) en DCM (20 mL) y TEA (0,29 mL, 2,06 mmol). A -10 °C, se agrega anhídrido trifluorometansulfónico (1 M en DCM, 2,58 mL, 2,58 mmol) por goteo, y la mezcla de reacción se agita a -10 °C durante 1 h. Se detiene por adición de agua, se deja calentar a temperatura ambiente y se extrae con DCM. La fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (SiO₂, EtOAc/MeOH gradiente 10:0 a 9:1) para dar el compuesto del título.

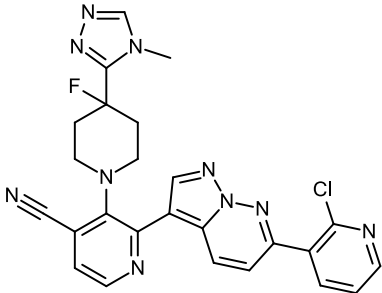
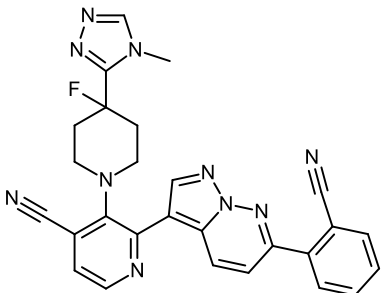
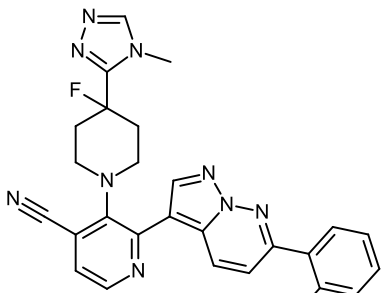
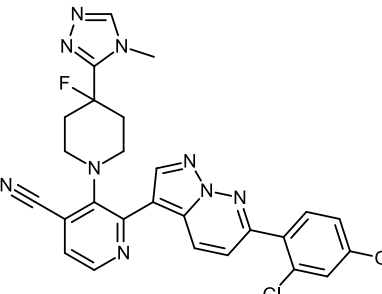
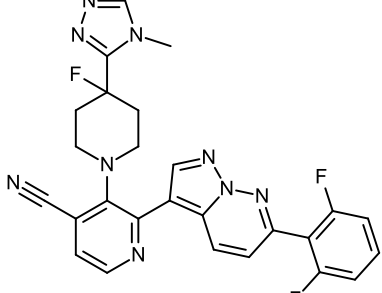
C₂₁H₁₇F₄N₉O₃S (M=551,5 g/mol)

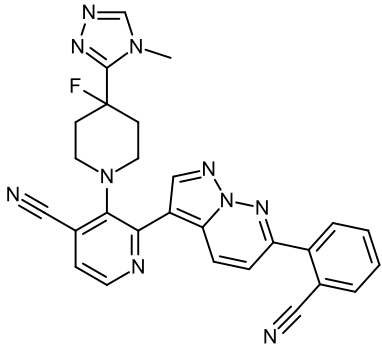
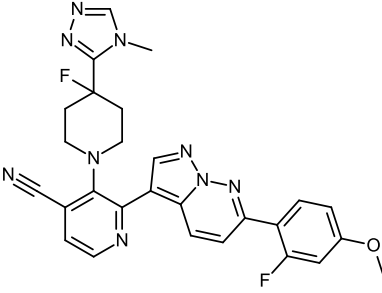
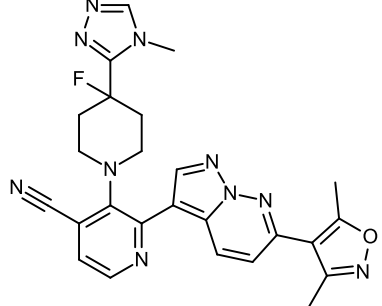
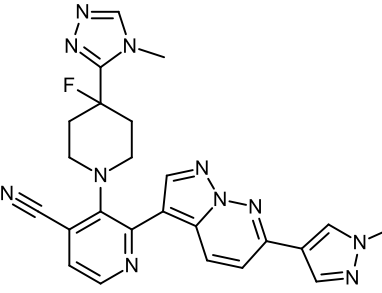
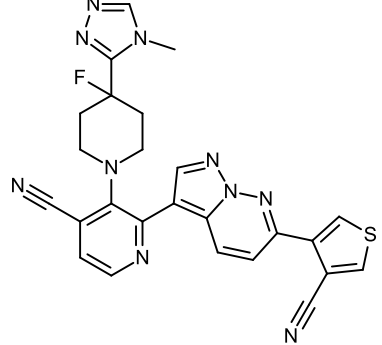
ESI-MS: 552 [M+H]⁺
Rt (HPLC): 0,93 min (método C)

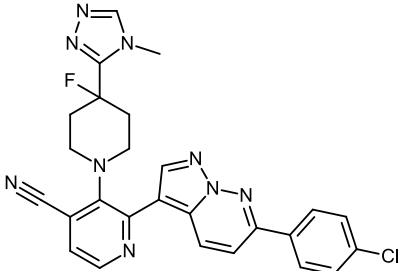
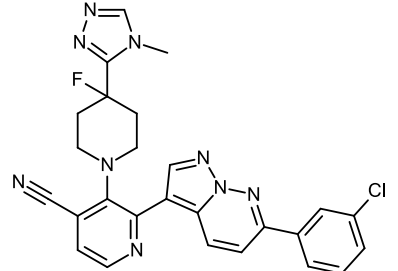
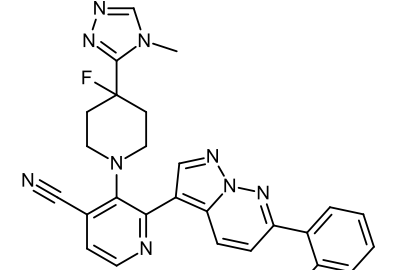
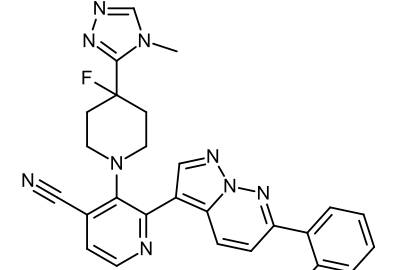
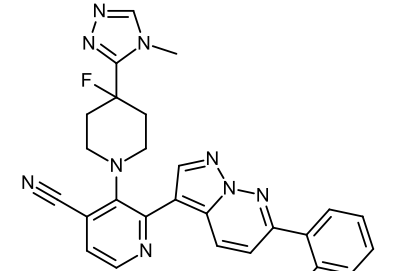
Ejemplo	Materiales de partida	Estructura	Desviación del procedimiento general
2	Int. III.2 + Int. IV.1		3,0 eq. de solución de Na_2CO_3 ; 3 h a 100 °C; purificación mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
3	Int. III.4 + 2-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina		10 h a 100 °C; purificación por SFC preparativa (Torus_1AA; MeOH/CO ₂ ; 40°C; BPR: 120bar)
4	Int. III.4 + Int. IV.2		3,0 eq. de solución de K_2CO_3 ; 10 h a 100 °C; purificación por SFC preparativa (Torus_1AA; MeOH/CO ₂ ; 40°C; BPR: 120bar)

5	Int. III.6 + 2-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina		1,2 eq. de 2-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina; 3,0 eq. de solución de K_2CO_3; 10 h a 95 °C; purificación mediante HPLC preparativa (XBridge C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
9	Int. III.5 + 2-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-3-amina		1,2 eq. de ácido o éster borónico; 2,5 eq. de solución de K_3PO_4 2 M; Xphos Pd G3; 16 h a 100 °C; purificación mediante HPLC preparativa (C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de NH_3 o TFA)
10	Int. III.5 + 2-(2-metoxietoxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirimidina		1,2 eq. de ácido o éster borónico; 2,5 eq. de solución de K_3PO_4 2 M; Xphos Pd G3; 16 h a 100 °C; purificación mediante HPLC preparativa (C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de NH_3 o TFA)

11	Int. III.5 + 3-(1,3-oxazol-2-il)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina		1,2 eq. de ácido o éster borónico; 2,5 eq. de solución de K_3PO_4 2 M; Xphos Pd G3; 16 h a 100 °C; purificación mediante HPLC preparativa (C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de NH_3 o TFA)
12	Int. III.5 + Int. IV.4		1,0 eq. de Int. IV.4; 3 h a 100 °C; purificación por SFC preparativa (BEH; MeOH/CO_2; 40°C; BPR: 120bar)
15	Int. III.9 + Int. IV.6		1,2 eq. de Int. IV.6; 3,0 eq. de solución de K_2CO_3; 4 h a 95 °C
16	Int. III.10 + Int. IV.7		1,2 eq. de Int. IV.7; 3,5 eq. de solución de K_2CO_3; 4,5 h a 95 °C

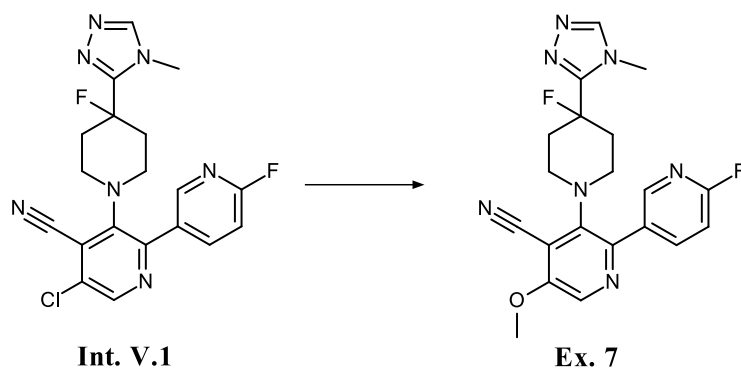
17	Int. V.3 + ácido (2-cloropiridin-3-il)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
18	Int. V.3 + ácido (5-cloro-2-cianofenil)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
19	Int. V.3 + ácido (2-metilfenil)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
20	Int. V.3 + ácido (2,4-diclorofenil)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
21	Int. V.3 + ácido (2,6-difluorofenil)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)

22	Int. V.3 + ácido (2-cianofenil)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
23	Int. V.3 + ácido (2-fluoro-4-metoxifenil)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
24	Int. V.3 + ácido (3,5-dimetil-1,2-oxazol-4-il)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
25	Int. V.3 + ácido (1-metil-1H-pirazol-4-il)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
26	Int. V.3 + 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)tiofen-3-carbonitrilo		1,2 eq. de éster borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)

27	Int. V.3 + ácido (4-clorofenil)borónico		2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
28	Int. III.5 + Int. IV.9		1,2 eq. de Int. IV.9; 4,0 eq. de solución de K ₂ CO ₃ ; 1 h a 70 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
29	Int. V.3 + ácido (2-clorofenil)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
30	Int. V.3 + ácido [2-(propan-2-il)fenil]borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
31	Int. V.3 + ácido (2-fluorofenil)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)

32	Int. V.3 + ácido (2,4-dimetilfenil)borónico		1,2 eq. de ácido borónico; 2 h a 90 °C; purificación mediante HPLC preparativa (Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA)
33	Int. III.5 + Int. IV.10		1,0 eq. de Int. IV.10; 1,5 h a 100 °C; purificación por SFC preparativa (Torus_DIOL; MeOH/CO ₂ ; 40°C; BPR: 120bar)

Ejemplo 7



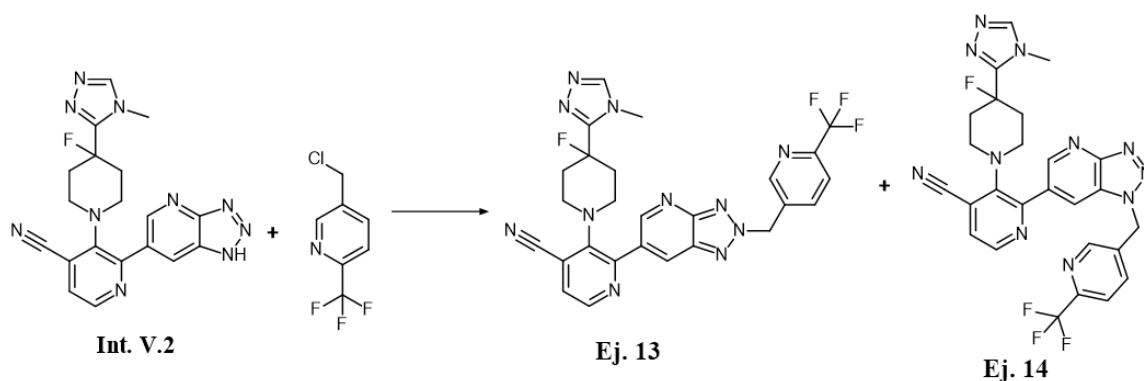
Se suspende el Int. V.1 (16,0 mg, 0,04 mmol) en MeOH (0,50 mL). Se agrega metanolato de sodio (25 % en MeOH, 26,4 µL, 0,12 mmol), y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 16 h. La reacción se diluye con agua, se filtra, y se purifica mediante HPLC preparativa (columna Zorbax StableBond C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar el compuesto del título.

C₂₀H₁₉F₂N₇O (M=411,4 g/mol)

ESI-MS: 412 [M+H]⁺

Rt (HPLC): 0,77 min (método N)

Síntesis de los Ejemplos 13 y 14



Se suspende el Int. V.2 x TFA (86,6 mg, 0,16 mmol) en DMF (1,0 mL). A -10°C , se agrega K_2CO_3 (45,3 mg, 0,33 mmol) y 5-(clorometil)-2-(trifluorometil)piridina (32,7 mg, 0,16 mmol), y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 28 h. Se observa material de partida restante. Se agrega más K_2CO_3 (20 mg, 0,14 mmol) y 5-(clorometil)-2-(trifluorometil)piridina (15 mg, 0,08 mmol), y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 60 h. La mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae con EtOAc. La fase orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO_4 , se filtra, y se concentra. El residuo se purifica mediante HPLC preparativa (columna Sunfire C18, gradiente de ACN/agua que contiene 0,1% de TFA) para dar los Ejemplos 13 y 14.

Ejemplo 13

$\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{F}_4\text{N}_{11}$ (M=563,5 g/mol)

ESI-MS: 564 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Rt (HPLC): 0,74 min (método G)

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,06 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H), 8,95 (d, $J=1,7$ Hz, 1 H), 8,65 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H), 8,59 (d, $J=4,9$ Hz, 1 H), 8,52 (s, 1 H), 8,19 (dd, $J=8,1, 1,7$ Hz, 1 H), 7,98 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H), 7,87 (d, $J=4,9$ Hz, 1 H), 6,28 (s, 2 H), 3,70 (d, $J=1,5$ Hz, 3 H), 3,19 - 3,28 (m, 4 H), 2,05 - 2,21 (m, 4 H).

Ejemplo 14

$\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{F}_4\text{N}_{11}$ (M=563,5 g/mol)

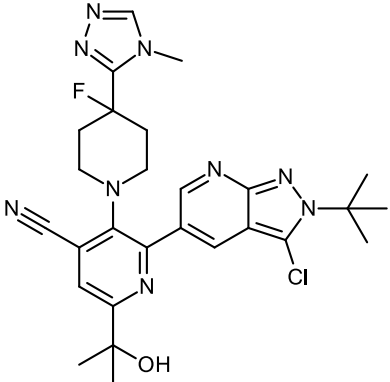
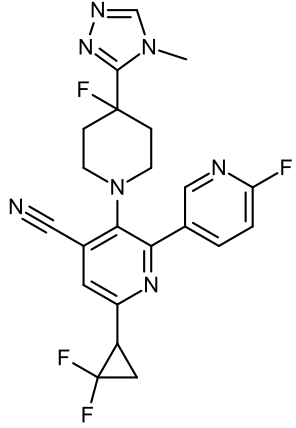
ESI-MS: 564 $[\text{M}+\text{H}]^+$

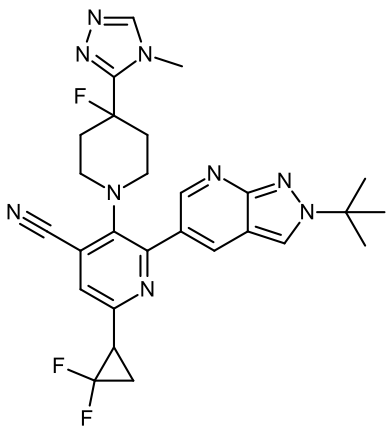
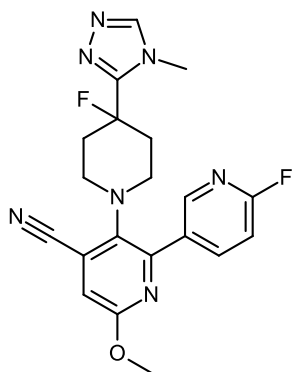
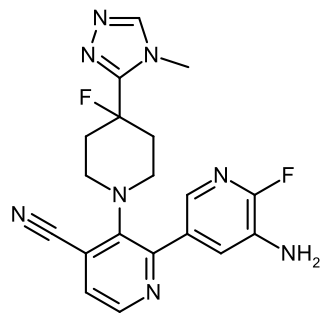
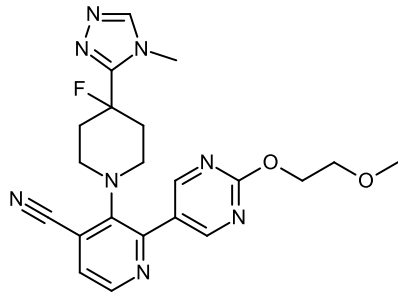
Rt (HPLC): 0,69 min (método G)

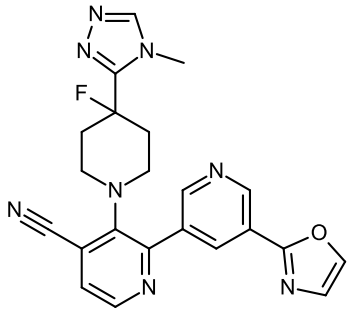
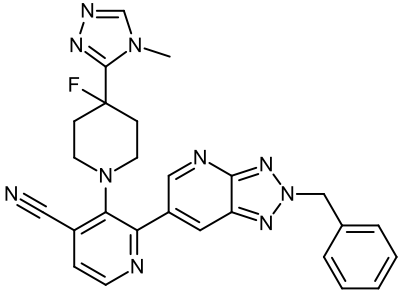
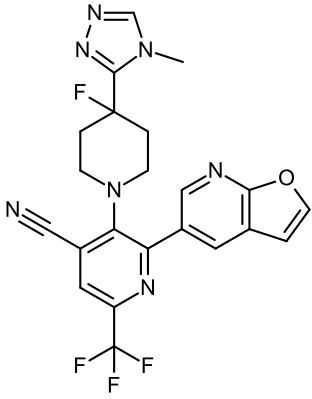
^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8,99 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H), 8,91 (d, $J=1,7$ Hz, 1 H), 8,70 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H), 8,57 - 8,60 (m, 1 H), 8,52 - 8,55 (m, 1 H), 8,03 (dd, $J=8,1, 1,7$ Hz,

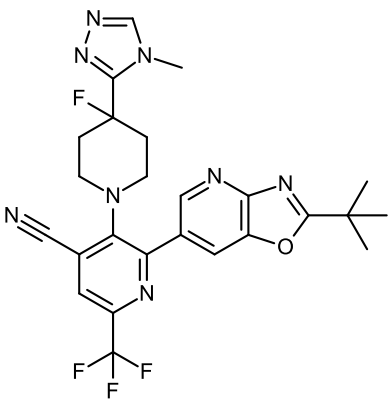
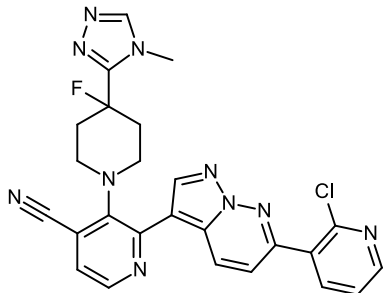
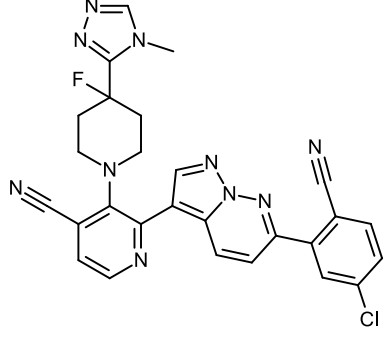
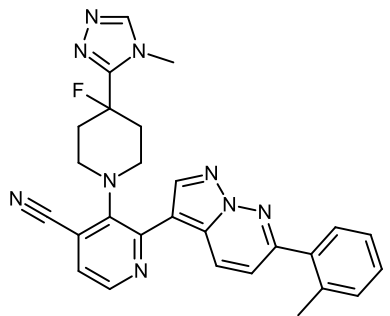
1 H), 7,87 - 7,93 (m, 2 H), 6,25 (s, 2 H), 3,70 (d, $J=1,5$ Hz, 3 H), 3,10 - 3,23 (m, 4 H), 2,04 - 2,20 (m, 4 H).

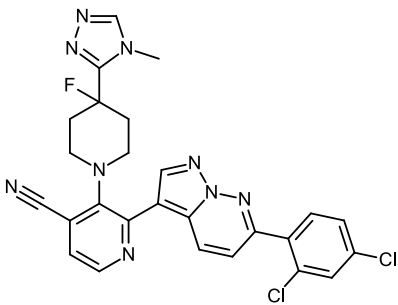
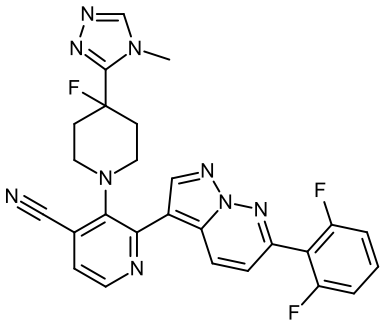
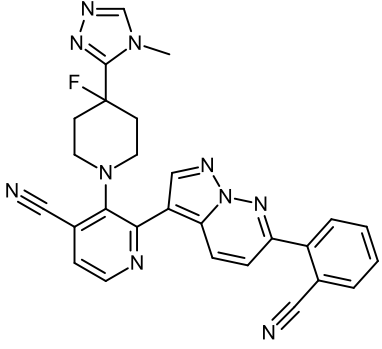
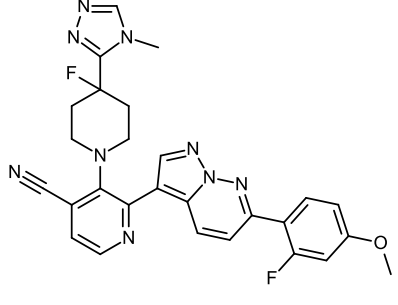
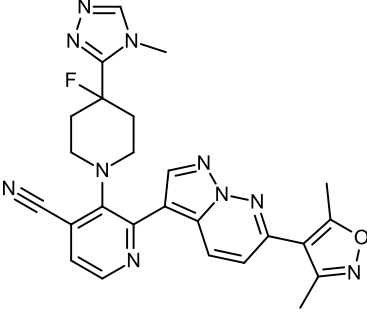
Datos analíticos de los ejemplos sintetizados

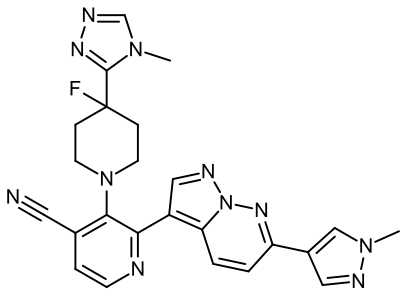
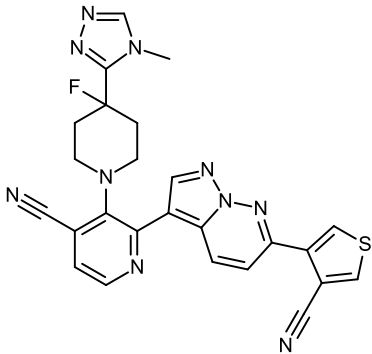
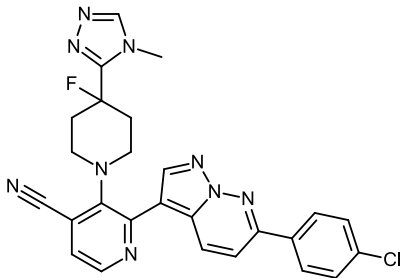
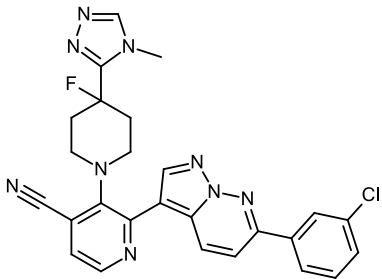
Ejemplo	Estructura	Fórmula Molecular (PM) ESI-MS HPLC tiempo de retención (método)	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ en ppm
2		$\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{ClFN}_9\text{O}$ ($M=552,0$ g/mol) ESI-MS: 553 $[\text{M}+\text{H}]^+$ Rt (HPLC): 0,55 min (método F)	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,98 (d, $J=2,2$ Hz, 1 H), 8,54 (s, 1 H), 8,31 (d, $J=2,2$ Hz, 1 H), 7,88 (s, 1 H), 3,73 (d, $J=1,4$ Hz, 4 H), 3,19 - 3,35 (m, 4 H), 2,10 - 2,26 (m, 4 H), 1,84 (s, 9 H), 1,47 (s, 6 H); señal de OH no detectada
3		$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{F}_4\text{N}_7$ ($M=457,4$ g/mol) ESI-MS: 458 $[\text{M}+\text{H}]^+$ Rt (HPLC): 0,54 min (método F)	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,50 (d, $J=2,4$ Hz, 1 H), 8,48 (s, 1 H), 8,24 (td, $J=8,2, 2,53$ Hz, 1 H), 7,90 (s, 1 H), 7,33 (dd, $J=8,4, 2,60$ Hz, 1 H), 3,73 (d, $J=1,5$ Hz, 3 H), 3,13 - 3,27 (m, 5 H), 2,27 - 2,35 (m, 1 H), 2,11 - 2,25 (m, 4 H), 2,00 - 2,08 (m, 1 H)

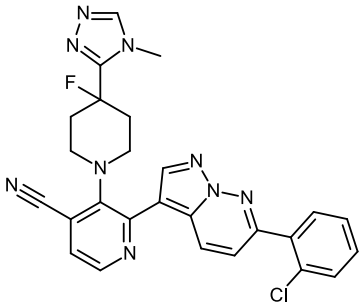
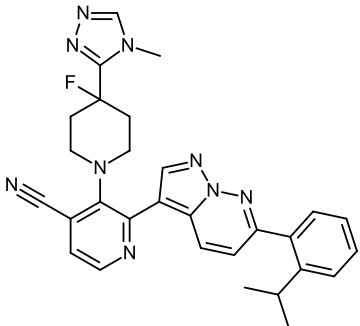
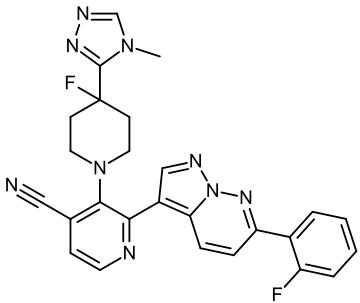
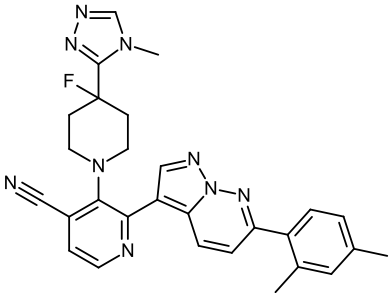
4		$C_{27}H_{28}F_3N_9$ (M=535,6 g/mol) ESI-MS: 536 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,53 min (método F)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8,83 (d, <i>J</i> =2,3 Hz, 1 H), 8,65 (s, 1 H), 8,46 (s, 1 H), 8,35 (d, <i>J</i> =2,2 Hz, 1 H), 7,87 (s, 1 H), 3,70 (d, <i>J</i> =1,5 Hz, 3 H), 3,18 - 3,28 (m, 5 H), 2,15 - 2,35 (m, 5 H), 1,99 - 2,10 (m, 1 H), 1,71 (s, 9 H)
5		$C_{20}H_{19}F_2N_7O$ (M=411,4 g/mol) ESI-MS: 412 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,52 min (método F)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8,52 - 8,57 (m, 2 H), 8,28 (td, <i>J</i> =8,2, 2,1 Hz, 1 H), 7,43 (s, 1 H), 7,33 (dd, <i>J</i> =8,5, 2,5 Hz, 1 H), 3,90 (s, 3 H), 3,75 (d, <i>J</i> =1,5 Hz, 3 H), 3,19 - 3,37 (m, 2 H), 3,00 - 3,08 (m, 2 H), 2,06 - 2,27 (m, 4 H)
9		$C_{19}H_{18}F_2N_8$ (M=396,4 g/mol) ESI-MS: 397,2 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,52 min (método P)	-
10		$C_{21}H_{23}FN_8O_2$ (M=438,5 g/mol) ESI-MS: 439 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,53 min (método Q)	-

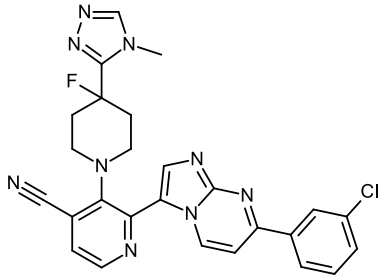
11		$C_{22}H_{19}FN_8O$ (M=430,4 g/mol) ESI-MS: 431 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,55 min (método P)	-
12		$C_{26}H_{23}FN_{10}$ (M=494,5 g/mol) ESI-MS: 495 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,72 min (método M)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 9,04 (d, <i>J</i> = 2,0 Hz, 1 H), 8,63 (d, <i>J</i> = 2,0 Hz, 1 H), 8,58 (d, <i>J</i> =4,9 Hz, 1 H), 8,46 (s, 1 H), 7,86 (d, <i>J</i> = 4,9 Hz, 1 H), 7,46 - 7,51 (m, 2 H), 7,34 - 7,44 (m, 3 H), 6,05 (s, 2 H), 3,69 (d, <i>J</i> = 1,5 Hz, 3 H), 3,20 - 3,27 (m, 4 H), 2,04 - 2,21 (m, 4 H)
15		$C_{22}H_{17}F_4N_7O$ (M=471,4 g/mol) ESI-MS: 472 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,64 min (método B)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8,56 (d, <i>J</i> =2,2 Hz, 1 H), 8,47 (s, 1 H), 8,36 - 8,40 (m, 2 H), 8,20 (d, <i>J</i> =2,5 Hz, 1 H), 7,14 (d, <i>J</i> =2,5 Hz, 1 H), 3,70 (d, <i>J</i> =1,5 Hz, 3 H), 3,35 (br d, <i>J</i> =4,6 Hz, 1 H), 3,18 - 3,27 (m, 3 H), 2,14 - 2,30 (m, 4 H)

16		$C_{25}H_{24}F_4N_8O$ (M=528,5 g/mol) ESI-MS: 529 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,72 min (método B)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8,74 (d, <i>J</i> =1,8 Hz, 1 H), 8,47 (s, 1 H), 8,35 - 8,42 (m, 2 H), 7,45 - 7,59 (m, 1 H), 3,71 (d, <i>J</i> =1,3 Hz, 3 H), 3,31 - 3,39 (m, 2 H), 3,21 - 3,27 (m, 1 H), 2,13 - 2,31 (m, 4 H), 1,49 (s, 9 H)
17		$C_{25}H_{20}ClFN_{10}$ (M=515,0 g/mol) ESI-MS: 515 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,70 min (método P)	-
18		$C_{27}H_{20}ClFN_{10}$ (M=539,0 g/mol) ESI-MS: 539 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,79 min (método P)	-
19		$C_{27}H_{24}FN_9$ (M=493,6 g/mol) ESI-MS: 494 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,82 min (método L)	-

20		$C_{26}H_{20}Cl_2FN_9$ (M=548,4 g/mol) ESI-MS: 548 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,91 min (método L)	-
21		$C_{26}H_{20}F_3N_9$ (M=515,5 g/mol) ESI-MS: 516 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,78 min (método P)	-
22		$C_{27}H_{21}FN_{10}$ (M=504,5 g/mol) ESI-MS: 505 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,72 min (método L)	-
23		$C_{27}H_{23}F_2N_9O$ (M=527,5 g/mol) ESI-MS: 528 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,82 min (método P)	-
24		$C_{25}H_{23}FN_{10}O$ (M=498,5 g/mol) ESI-MS: 499 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,69 min (método P)	-

25		$C_{24}H_{22}FN_{11}$ (M=483,5 g/mol) ESI-MS: 484 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,62 min (método P)	-
26		$C_{25}H_{19}FN_{10}S$ (M=510,6 g/mol) ESI-MS: 511 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,70 min (método P)	-
27		$C_{26}H_{21}ClFN_9$ (M=514,0 g/mol) ESI-MS: 514 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,85 min (método M)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8,79 (s, 1 H), 8,71 (d, <i>J</i> =9,5 Hz, 1 H), 8,60 (d, <i>J</i> =4,9 Hz, 1 H), 8,52 (s, 1 H), 8,14 - 8,19 (m, 2 H), 7,97 (d, <i>J</i> =9,5 Hz, 1 H), 7,69 - 7,72 (m, 1 H), 7,64 - 7,69 (m, 2 H), 3,77 (d, <i>J</i> =1,7 Hz, 3 H), 3,48 - 3,57 (m, 2 H), 3,23 - 3,30 (m, 2 H), 2,27 - 2,44 (m, 4 H)
28		$C_{26}H_{21}ClFN_9$ (M=514,0 g/mol) ESI-MS: 514 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,85 min (método M)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8,80 (s, 1 H), 8,71 (d, <i>J</i> =9,4 Hz, 1 H), 8,57 - 8,62 (m, 2 H), 8,16 - 8,20 (m, 1 H), 8,08 - 8,14 (m, 1 H), 8,01 (d, <i>J</i> =9,4 Hz, 1 H), 7,71 (d, <i>J</i> =4,9 Hz, 1 H), 7,62 - 7,67 (m, 2 H),

			3,78 (d, $J=1,5$ Hz, 3 H), 3,49 - 3,57 (m, 2 H), 3,24 - 3,31 (m, 2 H), 2,29 - 2,44 (m, 4 H),
29		$C_{26}H_{21}ClFN_9$ ($M=514,0$ g/mol) ESI-MS: 514 $[M+H]^+$ Rt (HPLC): 0,83 min (método L)	-
30		$C_{29}H_{28}FN_9$ ($M=521,6$ g/mol) ESI-MS: 522 $[M+H]^+$ Rt (HPLC): 0,92 min (método L)	-
31		$C_{26}H_{21}F_2N_9$ ($M=497,5$ g/mol) ESI-MS: 498 $[M+H]^+$ Rt (HPLC): 0,81 min (método L)	-
32		$C_{28}H_{26}FN_9$ ($M=507,6$ g/mol) ESI-MS: 508 $[M+H]^+$ Rt (HPLC): 0,88 min (método L)	-

33		$C_{26}H_{21}ClFN_9$ (M=514,0 g/mol) ESI-MS: 514 [M+H] ⁺ Rt (HPLC): 0,52 min (método F)	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 9,44 (d, <i>J</i> =7,4 Hz, 1 H), 8,60 (d, <i>J</i> =4,8 Hz, 1 H), 8,45 - 8,51 (m, 2 H), 8,30 (d, <i>J</i> =2,0 Hz, 1 H), 8,21 - 8,26 (m, 1 H), 7,89 (d, <i>J</i> =7,4 Hz, 1 H), 7,79 (d, <i>J</i> =4,8 Hz, 1 H), 7,61 - 7,65 (m, 2 H), 3,75 (d, <i>J</i> =1,5 Hz, 3 H), 3,41 - 3,51 (m, 2 H), 2,25 - 2,40 (m, 4 H) 2H missing (under agua peak)
----	---	---	--

Métodos de HPLC analítica

Método A

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,04% de TFA)	Vol% ACN (incl. 0,02% de TFA)	Flujo [mL/min]
0,00	95	5	1,5
0,70	5	95	1,5
1,16	5	95	1,5
1,50	95	5	1,5

Columna analítica: Kinetex EVO C18_2,1 x 30 mm_5 μm; temperatura de columna: 40°C

Método B

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,1% de NH ₃)	Vol% ACN	Flujo [mL/min]
0,00	95	5	1,3
0,02	95	5	1,3
1,00	0	100	1,3

1,30	0	100	1,3
------	---	-----	-----

Descripción del dispositivo: Waters Acquity; Columna analítica: XBridge (Waters) BEH C18_2,1 x 30 mm_2,5µm; temperatura de columna: 60°C

Método C

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,1% de FA)	Vol% ACN	Flujo [mL/min]
0,00	97	3	2,2
0,20	97	3	2,2
1,20	0	100	2,2
1,25	0	100	3,0
1,40	0	100	3,0

Descripción del dispositivo: Agilent 1200; Columna analítica: Sunfire C18_3,0 x 30 mm_2,5µm; temperatura de columna: 60°C

Método D

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,1% de FA)	Vol% ACN	Flujo [mL/min]
0,01	90	10	1,5
0,80	0	100	1,5
1,30	0	100	1,5

Descripción del dispositivo: Shimadzu LC-20ADXR; Columna analítica: Halo C18_3,0 x 30 mm_5µm; temperatura de columna: 40°C

Método E

Tiempo de es- pera(min)	Tasa (°C/min)	Temperatura (°C)	Flujo [mL/min]
1		40	1,5
0	30	100	1,5
1	10	270	1,5

Descripción del dispositivo: Shimadzu GCMS-QP2020; Columna analítica: Agilent J&W HP-5MS 30M*0,25mmID*0,25µm de espesor de película; temperatura de inyector: 200

°C; relación de separación: 100:1; gas portador: He, modo de ionización: EI; temperatura de fuente de iones: 230 °C; temperatura de interfase: 250 °C; tiempo de corte de solvente: 2 min (tiempo inicial – tiempo final: 2 – 21 min); tiempo de corrida: 21,00 min

Método F

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,1% de TFA)	Vol% ACN	Flujo [mL/min]
0,00	99	1	1,6
0,02	99	1	1,6
1,00	0	100	1,6
1,10	0	100	1,6

Descripción del dispositivo: Waters Acquity; Columna analítica: Xbridge (Waters) BEH C18_2,1 x 30 mm_1,7µm; temperatura de columna: 60°C

Método G

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,1% de TFA)	Vol% ACN	Flujo [mL/min]
0,00	95	5	1,5
1,30	0	100	1,5
1,50	0	100	1,5

Descripción del dispositivo: Waters Acquity; Columna analítica: Sunfire (Waters) C18_3,0 x 30 mm_2,5 µm; temperatura de columna: 60°C

Método H

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,04% de TFA)	Vol% ACN (incl. 0,02% de TFA)	Flujo [mL/min]
0,01	95	5	1,0
0,40	95	5	1,0
3,00	5	95	1,0
4,00	5	95	1,0
4,01	95	5	1,0
4,50	95	5	1,0

Descripción del dispositivo: Agilent 1260; Columna analítica: Luna C18_2,0 x 50 mm_5µm; temperatura de columna: 40°C

Método I

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,04% de TFA)	Vol% ACN (incl. 0,02% de TFA)	Flujo [mL/min]
0,00	90	10	2,0
0,50	0	100	2,0
0,90	0	100	2,0

Descripción del dispositivo: Shimadzu LC-20ADXR; Columna analítica: Halo C18_3,0 x 30 mm_5µm; temperatura de columna: 40°C

Método J

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,04% de TFA)	Vol% ACN (incl. 0,02% de TFA)	Flujo [mL/min]
0,01	95	5	0,8
0,40	95	5	0,8
3,00	5	95	0,8
4,00	5	95	0,8
4,01	95	5	0,8
4,50	95	5	0,8

Descripción del dispositivo: Agilent 1260; Columna analítica: Luna C18_2,0 x 50 mm_5µm; temperatura de columna: 40°C

Método K

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 10mM de NH ₄ CO ₃)	Vol% ACN	Flujo [mL/min]
0,00	95	5	0,8
0,40	95	5	0,8
3,40	5	95	0,8
3,85	5	95	0,8
3,86	95	5	0,8

4,50	95	5	0,8
------	----	---	-----

Descripción del dispositivo: Agilent 1260; Columna analítica: XBridge C18_2,1 x 50 mm_5µm; temperatura de columna: 40°C

Método L

Tiempo (min)	Vol.% agua (incl. 0,1 % NH ₃)	Vol. % ACN	Flujo [mL/min]
0,00	95	5	1,5
1,30	0	100	1,5
1,50	0	100	1,5
1,60	95	5	1,5

Descripción del dispositivo: Waters Acquity; Columna analítica: Xbridge (Waters) C18_3,0 x 30 mm_2,5 µm; temperatura de columna: 60°C

Método M

Tiempo (min)	Vol.% agua (incl. 0,1 % de TFA)	Vol% ACN (incl. 0,08% de TFA)	Flujo [mL/min]
0,00	95	5	1,5
1,30	0	100	1,5
1,50	0	100	1,5
1,60	95	5	1,5

Descripción del dispositivo: Waters Acquity; Columna analítica: Sunfire (Waters) C18_3,0 x 30 mm_2,5 µm; temperatura de columna: 60°C

Método N

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,1% de TFA)	Vol% ACN	Flujo [mL/min]
0,00	97	3	2,2
0,20	97	3	2,2
1,20	0	100	2,2
1,25	0	100	3,0

1,40	0	100	3,0
------	---	-----	-----

Descripción del dispositivo: Agilent 1200; Columna analítica: Zorbax (Agilent) Stable-Bond C18_3,0 x 30 mm_1,8 µm; temperatura de columna: 60 °C

Método O

Tiempo (min)	Vol.% agua (incl. 0,1 % NH ₃)	Vol. % ACN	Flujo [mL/min]
0,00	95	5	1,5
1,30	0	100	1,5
1,50	0	100	1,5
1,60	95	5	1,5

Descripción del dispositivo: Waters Acquity; Columna analítica: XBridge (Waters) C18_3,0 x 30 mm_2,5 µm; temperatura de columna: 60 °C

Método P

Tiempo (min)	Vol% agua (incl. 0,1%TFA)	Vol% ACN (incl. 0,08% de TFA)	Flujo [mL/min]
0,00	95	5	1,5
1,30	0	100	1,5
1,50	0	100	1,5
1,60	95	5	1,5

Descripción del dispositivo: Waters Acquity; Columna analítica: Sunfire (Waters) C18_3,0 x 30 mm_2,5 µm; temperatura de columna: 60°C

Método Q

Tiempo (min)	Vol.% agua (incl. 0,1 % NH ₃)	Vol. % ACN	Flujo [mL/min]
0,00	95	5	1,5
1,30	0	100	1,5
1,50	0	100	1,5
1,60	95	5	1,5

Descripción del dispositivo: Waters Acquity; Columna analítica: XBridge (Waters) C18_3,0 x 30 mm_2,5 μm ; temperatura de columna: 60 °C