

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 816 641**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 409/14 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

C07D 471/10 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61K 31/4402 (2006.01)

A61K 31/4406 (2006.01)

A61K 31/4468 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.12.2015** **PCT/US2015/065289**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.06.2016** **WO16094824**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2015** **E 15868544 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2020** **EP 3292113**

54 Título: **Derivados de piperidina en calidad de inhibidores de HDAC1/2**

30 Prioridad:

12.12.2014 US 201462091221 P

08.10.2015 US 201562238931 P

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

05.04.2021

73 Titular/es:

REGENACY PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
303 Wyman Street, Suite 300
Waltham, MA 02451, US

72 Inventor/es:

VAN DUZER, JOHN H. y
MAZITSCHK, RALPH

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 816 641 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de piperidina en calidad de inhibidores de HDAC1/2

5 ANTECEDENTES

Una diana biológica de interés actual es la histona desacetilasa (HDAC) (véase, por ejemplo, una discusión sobre el uso de inhibidores de histona desacetilasas para el tratamiento del cáncer: Marks et al. Nature Reviews Cancer 2001, 7, 194; Johnstone et al. Nature Reviews Drug Discovery 2002, 287). La modificación post-traduccion de proteínas mediante acetilación y desacetilación de residuos de lisina juega un papel fundamental en la regulación de sus funciones celulares. Las HDAC son hidrolasas de zinc que modulan la expresión génica a través de la desacetilación de los residuos de N-acetil-lisina de proteínas histonas y otros reguladores de la transcripción (Hassig et al. Curr. Opin. Chem. Biol. 1997, 1, 300-308). Las HDACs participan en las vías celulares que controlan la forma y diferenciación celular, y se ha demostrado que un inhibidor de la HDAC es eficaz en el tratamiento de un cáncer que de otro modo sería recalcitrante (Warrell et al. J. Natl. Cancer Inst. 1998, 90, 1621-1625).

Se han identificado once HDACs humanas, que utilizan Zn como cofactor (Taunton et al. Science 1996, 272, 408-411; Yang et al. J. Biol. Chem. 1997, 272, 28001-28007. Grozinger et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1999, 96, 4868-4873; Kao et al. Genes Dev. 2000, 14, 55-66. Hu et al. J. Biol. Chem. 2000, 275, 15254-15264; Zhou et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2001, 98, 10572-10577; Venter et al. Science 2001, 291, 1304-1351) y estos miembros se dividen en tres clases (clase I, II y IV) basadas en la homología de secuencia con sus ortólogos de levadura (O. Witt et al. Cancer Letters, 2009, 277, 8-21). Las HDACs de clase I incluyen HDAC1, HDAC2, HDAC3 y HDAC8, y se las alude como HDACs "clásicas", lo que implica un bolsillo catalítico con un ion Zn^{2+} en su base.

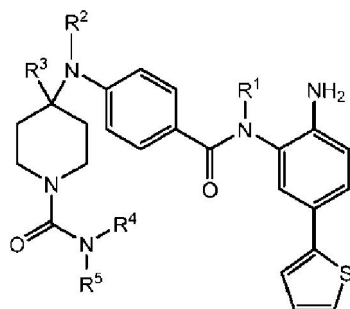
El documento EP2708532A describe un derivado de 4-aminoquinazolina que es un inhibidor de HDAC.

Sigue existiendo la necesidad de preparar inhibidores de HDAC estructuralmente diversos, en particular los que son inhibidores potentes y/o selectivos de clases particulares de HDACs y HDACs individuales.

30 SUMARIO DE LA INVENCIÓN

En esta memoria se proporcionan compuestos, composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y dichos compuestos para su uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos asociados con la actividad de HDAC, particularmente enfermedades o trastornos que implican la expresión de HDAC1 y/o HDAC2. Las enfermedades que implican la expresión de HDAC1 y/o HDAC2 incluyen, pero no se limitan a diversos tipos de cáncer y hemoglobinopatías, tales como anemia de células falciformes y beta-talasemia.

Por lo tanto, en un aspecto, en esta memoria se proporciona un compuesto de Fórmula IIIa:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde,

R¹ se selecciona del grupo que consiste en H y alquilo C₁-C₆;

R² se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ y arilo C₆;

R³ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ y arilo C₆;

o R² y R³ juntos forman un heterociclilo C₂-C₆; y

R⁴ y R⁵ juntos forman un heterociclilo seleccionado del grupo que consiste en morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo, en donde el morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo, y pirrolidinilo está opcionalmente sustituido con 1 o 2 de alquilo C₁-C₆, halo o hidroxilo.

En otro aspecto, en esta memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto del primer aspecto y un soporte farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, en esta memoria se proporciona un compuesto del primer aspecto para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de un síndrome mielodisplásico, una hemoglobinopatía, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, neuroblastoma, leucemia, linfoma y neuroblastoma.

5 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es un gráfico que muestra el perfil de inhibición de HDAC de Compuesto 003 con respecto a HDAC1, HDAC2 y HDAC3 (Véase el Ejemplo 43).

La Figura 2 muestra la concentración en plasma en una rata en función del tiempo tras la administración oral de 40 mg/kg de Compuesto 003 (Véase el Ejemplo 44).

La Figura 3 muestra la inducción de globina fetal in vitro de Compuesto 003 en comparación con otro inhibidor de HDAC1/ 2 conocido, Compuesto A (Véase el Ejemplo 45).

La Figura 4 es un gráfico que muestra el perfil de inhibición de HDAC de Compuesto 005 con respecto a HDAC1, HDAC2 y HDAC3 (Véase el Ejemplo 43).

La Figura 5 muestra la concentración en plasma en una rata en función del tiempo tras la administración oral de 20 mg/kg de Compuesto 005 (Véase el Ejemplo 44).

La Figura 6 muestra la inducción de globina fetal in vitro de Compuesto 005 en comparación con otro inhibidor de HDAC1/ 2 conocido, Compuesto A (Véase el Ejemplo 45).

La Figura 7 muestra que el tratamiento de progenitores eritroides con diversos inhibidores de HDAC1/2 (Compuestos 005 y A) conduce a la inducción del ARNm de Gata2.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente solicitud se dirige, en general, a compuestos, composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y métodos de uso de dichos compuestos para tratar enfermedades o trastornos asociados con la actividad de HDAC, particularmente enfermedades o trastornos que implican cualquier tipo de expresión de HDAC1 y/o HDAC2.

Definiciones

A continuación se enumeran definiciones de diversos términos y expresiones utilizados para describir esta invención. Estas definiciones se aplican a los términos tal como se utilizan a lo largo de esta memoria descriptiva y reivindicaciones, a menos que se limiten de otra manera en casos específicos, ya sea individualmente o como parte de un grupo más grande.

El término "aproximadamente" indica, en general, una posible variación de no más del 10%, 5% o 1% de un valor. Por ejemplo, "aproximadamente 25 mg/kg" indicará generalmente, en su sentido más amplio, un valor de 22,5-27,5 mg/kg, es decir, $25 \pm 2,5$ mg/kg.

El término "alquilo" se refiere a restos hidrocarbonados saturados, de cadena lineal o ramificada, que contienen, en determinadas realizaciones, entre uno y seis, o uno y ocho átomos de carbono, respectivamente. El número de átomos de carbono en un sustituyente alquilo se puede indicar mediante el prefijo "C_x-C_y", en que x es el número mínimo e y es el número máximo de átomos de carbono en el sustituyente. Asimismo, una descripción de cadena C_x indica un grupo que contiene x átomos de carbono (es decir, sin incluir el número de heteroátomos). Ejemplos de restos alquilo C₁-C₆ incluyen, pero no se limitan a restos metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, *terc.*-butilo, neopentilo, *n*-hexilo; y ejemplos de restos alquilo C₁-C₈ incluyen, pero no se limitan a restos metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, *terc.*-butilo, neopentilo, *n*-hexilo, heptilo y octilo.

El término "alcoxi" se refiere a un resto -O-alquilo. Ejemplos no limitativos de alcoxi C₁-C₆ incluyen metoxi, etoxi, 1-propoxi, 2-propoxi, *n*-butoxi, *t*-butoxi, pentoxi, hexoxi, etc. La parte alquilo de alcoxi puede ser de cadena lineal o ramificada.

El término "arilo" se refiere a un sistema de anillo carbocíclico mono- o poli-cíclico que tiene uno o más anillos aromáticos, condensados o no condensados, incluyendo, pero no limitado a fenilo (es decir, arilo C₆), naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, idenilo y similares. En algunas realizaciones, los grupos arilo tienen 6 átomos de carbono (p. ej., arilo C₆). En algunas realizaciones, los grupos arilo tienen de seis a diez átomos de carbono (p. ej., arilo C₆-C₁₀). En algunas realizaciones, los grupos arilo tienen de seis a dieciséis átomos de carbono.

El término "cicloalquilo" designa un grupo monovalente derivado de un compuesto de anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado, monocíclico o policíclico. Ejemplos de cicloalquilo C₃-C₆ incluyen, pero no se limitan a ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo; ejemplos de cicloalquilo C₃-C₈ incluyen, pero no se limitan a ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclopentilo y ciclooctilo; y ejemplos de cicloalquilo C₃-C₁₂ incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, biciclo [2.2.1]heptilo, y biciclo [2.2.2]octilo. También se contemplan grupos monovalentes derivados de un compuesto de anillo carbocíclico monocíclico o policíclico que tiene un doble enlace carbono-carbono mediante la separación de un solo átomo de hidrógeno. Ejemplos de grupos de este tipo incluyen, pero no se limitan a ciclopropenilo, ciclobutenilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo y similares.

El término "heteroarilo" se refiere a un resto mono- o poli-cíclico (*p.ej.*, bi- o tri-cíclico o más) condensados o no condensados o sistema de anillo que tiene al menos un anillo aromático, en que uno o más de los átomos que forman el anillo es un heteroátomo, tal como oxígeno, azufre o nitrógeno. En algunas realizaciones, el grupo heteroarilo tiene de uno a ocho átomos de carbono, de uno a seis átomos de carbono, de dos a 6 átomos de carbono (*p. ej.*, heteroarilo C₁-C₈, heteroarilo C₁-C₆ o heteroarilo C₂-C₆). En una realización adicional, el grupo heteroarilo tiene de uno a quince átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo heteroarilo contiene de cinco a dieciséis átomos del anillo, de los cuales un átomo del anillo se selecciona de oxígeno, azufre y nitrógeno; cero, uno, dos o tres átomos del anillo son heteroátomos adicionales seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y nitrógeno; y los átomos restantes del anillo son carbono. Heteroarilo incluye, pero no se limita a piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isooxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, indolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, benzooxazolilo, quinoxalinilo, acridinilo y similares.

El término "heterociclilo" se refiere a un anillo no aromático de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros o a un grupo bicíclico o tricíclico de un sistema condensado o no condensado, en que (i) cada uno de los anillos contiene entre uno y tres heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y nitrógeno y los átomos restantes son carbono (*p. ej.*, heterociclilo C₂-C₆, heterociclilo C₃-C₆ o heterociclilo C₃-C₅), (ii) cada uno de los anillos de 5 miembros tiene de 0 a 1 dobles enlaces y cada uno de los anillos de 6 miembros tiene de 0 a 2 dobles enlaces, (iii) los heteroátomos de nitrógeno y azufre se pueden oxidar opcionalmente, (iv) el heteroátomo de nitrógeno se puede cuaternizar opcionalmente y (v) cualquiera de los anillos anteriores se puede condensar con un anillo de benceno. El término "heterociclilo" incluye, pero no se limita a, [1,3]dioxolano, pirrolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo y tetrahidrofurilo.

Los términos "halo" y "halógeno" se refieren a un átomo seleccionado de flúor, cloro, bromo y yodo.

El término "haloalquilo" se refiere a radicales alquilo, en donde uno cualquiera o más de los átomos de carbono de alquilo está sustituido con halo tal como se definió arriba. Haloalquilo abarca radicales monohaloalquilo, dihaloalquilo y polihaloalquilo. El término "haloalquilo" incluye, pero no se limita a fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, clorometilo, diclorometilo, triclorometilo y pentafluoroetil.

El término "hidroxi" se refiere a un radical -OH.

El término "HDAC" se refiere a histonas desacetilasas, que son enzimas que separan los grupos acetilo de los residuos de lisina en las histonas centrales, lo que conduce a la formación de una cromatina condensada y silenciada transcripcionalmente. Actualmente existen 18 histonas desacetilasas conocidas, que se clasifican en cuatro grupos. Las HDACs de clase I, que incluyen HDAC1, HDAC2, HDAC3 y HDAC8, están relacionadas con el gen RPD3 de levadura. Las HDACs de clase II, que incluyen HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9 y HDAC10, están relacionadas con el gen Hda1 de levadura. Las HDACs de clase III, que también se conocen como sirtuinas, están relacionadas con el gen Sir2 e incluyen SIRT1-7. Los HDACs de clase IV, que solo contienen HDAC11, tienen características de HDACs de Clase I y II. El término "HDAC" se refiere a una cualquiera o más de las 18 histonas desacetilasas conocidas, a menos que se especifique lo contrario.

El término "inhibidor" es sinónimo del término antagonista.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales de los compuestos formados por el procedimiento descrito en esta memoria que, dentro del alcance del juicio médico sólido, son adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin una excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y son proporcionales a una relación de beneficio/riesgo razonable. Adicionalmente, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos descritos en donde el compuesto precursor se modifica convirtiendo un resto ácido o base existente en su forma de sal. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos de carácter básico, tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos de carácter ácido, tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención incluyen las sales no tóxicas convencionales del compuesto precursor formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto precursor, que contiene un resto de carácter básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, sales de este tipo pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren los medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Se encuentran listas de sales adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa, 1985, pág. 1418 y Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977).

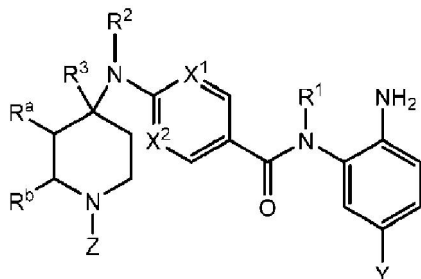
Las combinaciones de sustituyentes y variables contempladas por esta invención son solo aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables. El término "estable" se refiere a compuestos que poseen estabilidad suficiente para permitir la fabricación y que mantienen la integridad del compuesto durante un período de tiempo

suficiente para ser útil para los fines detallados en esta memoria (p. ej., administración terapéutica o profiláctica a un sujeto).

- 5 El término "sujeto" se refiere a un mamífero. Por lo tanto, un sujeto se refiere, por ejemplo, a perros, gatos, caballos, vacas, cerdos, cobayas y similares. Preferiblemente, el sujeto es un ser humano. Cuando el sujeto es un ser humano, al sujeto se le puede aludir en esta memoria como paciente

Compuestos de la Invención

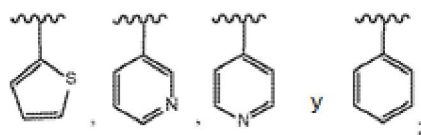
- 10 En un aspecto, en esta memoria se proporciona un compuesto de Fórmula I:



I

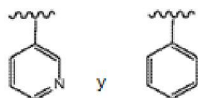
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde,

- 15 X¹ es CR⁷ o N;
X² es CH o N;
Y se selecciona del grupo que consiste en:



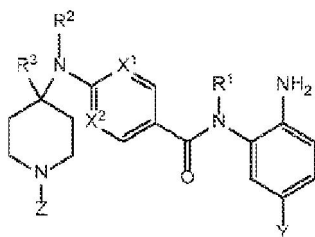
- 20 Z se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, arilo C₆, C(O)NR⁴R⁵, C(O)OR⁶, C(O)alquilo C₁-C₆, C(O)alquil C₀-C₆-arilo C₆, C(O)-cicloalquilo C₃-C₆, C(O)-heterociclilo C₂-C₆ y C(O)alquil C₀-C₆-heteroarilo, en donde los grupos arilo, heteroarilo, cicloalquilo, y heterociclilo están opcionalmente sustituidos con 1 o 2 de alquilo C₁-C₆, halo, haloalquilo C₁-C₆, hidroxilo o alcoxi C₁-C₆;
25 R^a y R^b son H, o R^a y R^b juntos forman un arilo C₆ condensado;
R¹ se selecciona del grupo que consiste en H y alquilo C₁-C₆;
R² se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ y arilo C₆;
R³ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ y arilo C₆;
30 o R² y R³ juntos forman un heterociclilo C₁-C₆;
R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, alquil C₁-C₆-OH y C₁-C₆-NH₂;
R⁵ es alquilo C₁-C₆;
o R⁴ y R⁵ juntos forman un heterociclilo C₂-C₆, en donde heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1 o 2 alquilo C₁-C₆, halo, haloalquilo C₁-C₆, hidroxilo o alcoxi C₁-C₆;
35 R⁶ se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆ y alquil C₀-C₆-arilo C₆, en donde arilo está opcionalmente sustituido con 1 o 2 de alquilo C₁-C₆, halo o hidroxilo; y
R⁷ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ y cicloalquilo C₃-C₆. En una realización del compuesto de Fórmula I, R^a y R^b son H y R³ se selecciona del grupo que consiste en H y arilo C₆.

- 40 En una realización del compuesto de Fórmula I, Y se selecciona del grupo que consiste en:



- 45 En otra realización del compuesto de Fórmula I, Z se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆, arilo C₆, C(O)OR⁶, C(O)alquilo C₁-C₆, C(O)alquil C₀-C₆-arilo C₆, C(O)-cicloalquilo C₃-C₆ y C(O)alquil C₀-C₆-heteroarilo, en donde los grupos arilo, heteroarilo y cicloalquilo están opcionalmente sustituidos con 1 o 2 de alquilo C₁-C₆, halo, haloalquilo C₁-C₆, hidroxilo o alcoxi C₁-C₆.

En una realización, el compuesto de Fórmula I es un compuesto de Fórmula II:



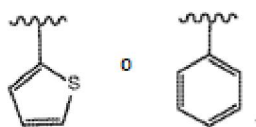
II

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5

En una realización del compuesto de Fórmula I o Fórmula II, X¹ y X² son cada uno N, o X¹ y X² son cada uno CH.

En otra realización del compuesto de Fórmula I o Fórmula II, Y es:



10

En otra realización del compuesto de Fórmula I o Fórmula II, Z se selecciona del grupo que consiste en C(O)NR⁴R⁵, C(O)OR⁶, C(O)-cicloalquilo C₃-C₆, C(O)-heterociclilo C₂-C₆ y alquil C(O)C₀₋₆-heteroarilo, en donde heteroarilo, cicloalquilo o heterociclilo están opcionalmente sustituidos con 1 o 2 alquilo C₁-C₆, halo o hidroxilo; y R⁶ es arilo C₆.

15

En aún otra realización del compuesto de Fórmula I o Fórmula II, Z se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ y arilo C₆.

20

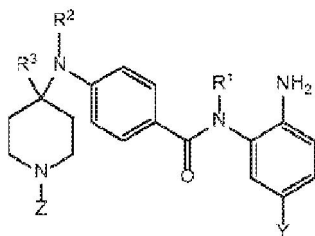
En otra realización del compuesto de Fórmula I o Fórmula II, R¹ es H.

En otra realización del compuesto de Fórmula I o Fórmula II, R² es H.

25

En otra realización del compuesto de Fórmula I o Fórmula II, R³ es H, metilo, etilo, isopropilo o fenilo. En otra realización del compuesto de Fórmula I o Fórmula II, R³ se selecciona del grupo que consiste en H o arilo C₆. En aún una realización adicional del compuesto de Fórmula I o Fórmula II, R³ es H.

En una realización, el compuesto de Fórmula I es un compuesto de Fórmula IIa:



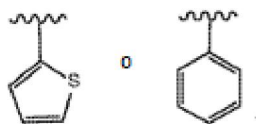
IIa

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30

En una realización del compuesto de Fórmula IIa, Y es:

35



En otra realización del compuesto de Fórmula IIa, Z se selecciona del grupo que consiste en C(O)NR⁴R⁵, C(O)OR⁶, C(O)-cicloalquilo C₃-C₆, C(O)-heterociclilo C₂-C₆ y C(O)alquil C₀-C₆-heteroarilo, en donde heteroarilo, cicloalquilo o heterociclilo están opcionalmente sustituidos con 1 o 2 alquilo C₁-C₆, halo o hidroxilo; y R⁶ es arilo C₆.

En aún otra realización del compuesto de Fórmula IIa, Z se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ y arilo C₆.

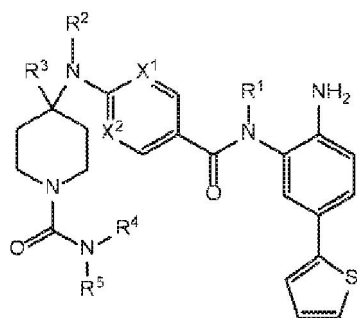
En una realización del compuesto de Fórmula IIa, R¹ es H.

En otra realización del compuesto de Fórmula IIa, R² es H.

En otra realización del compuesto de Fórmula IIa, R³ es H, metilo, etilo, isopropilo o fenilo. En aún una realización adicional del compuesto de Fórmula IIa, R³ es H.

En una realización específica, R¹ es H; R² es H; y R³ es H.

En una realización adicional, el compuesto de Fórmula I es un compuesto de Fórmula III:



III

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización del compuesto de Fórmula III, X¹ y X² son cada uno N, o X¹ y X² son cada uno CH.

En una realización del compuesto de Fórmula III, R² es H.

En una realización del compuesto de Fórmula III, R³ es H, metilo o isopropilo.

En una realización del compuesto de Fórmula III, R⁴ es H y R⁵ es alquilo C₁-C₆.

En otra realización del compuesto de Fórmula III, R⁴ y R⁵ juntos forman un heterociclilo seleccionado del grupo que consiste en morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo, en donde el morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo están opcionalmente sustituidos con 1 o 2 de alquilo C₁-C₆, halo o hidroxilo.

En otra realización del compuesto de Fórmula III, X¹ y X² son N;

R¹ es H;

R² es H;

R³ es H o alquilo C₁-C₄; y

R⁴ y R⁵ juntos forman un heterociclilo seleccionado del grupo que consiste en morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo, en donde el morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo están opcionalmente sustituidos con 1 o 2 de alquilo C₁-C₆, halo o hidroxilo.

En otra realización del compuesto de Fórmula III, X¹ y X² son N;

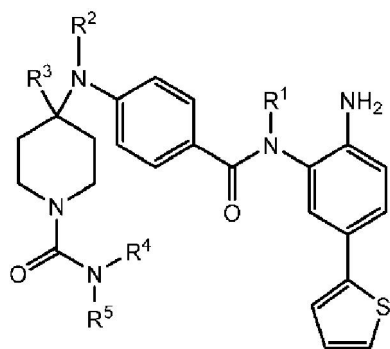
R¹ es H;

R² es H;

R³ es H; y

R⁴ y R⁵ juntos forman un heterociclilo seleccionado del grupo que consiste en morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo, en donde el morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo están opcionalmente sustituidos con 1 o 2 de alquilo C₁-C₆, halo o hidroxilo.

El compuesto de la invención es un compuesto de Fórmula IIIa:

**IIIa**

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización del compuesto de Fórmula IIIa, R² es H.

5

En una realización del compuesto de Fórmula IIIa, R³ es H, metilo o isopropilo. En una realización adicional del compuesto de Fórmula IIIa, R³ es H.

En el compuesto de Fórmula IIIa, R⁴ y R⁵ juntos forman un heterociclilo seleccionado del grupo que consiste en morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo, en donde el morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo están opcionalmente sustituidos con 1 o 2 de alquilo C₁-C₆, halo o hidroxi.

10

En otra realización del compuesto de Fórmula IIIa,

R¹ es H;

R² es H; y

R³ es H.

15

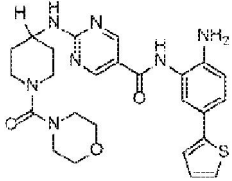
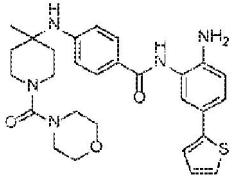
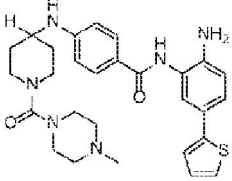
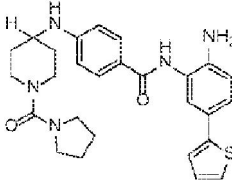
En otro aspecto, en esta memoria se proporciona un compuesto seleccionado de cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 1:

20

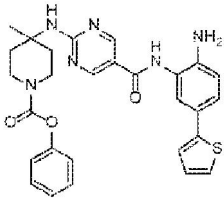
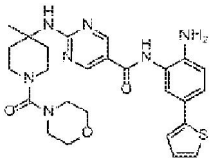
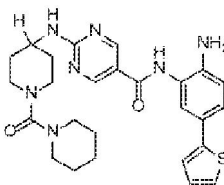
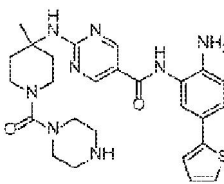
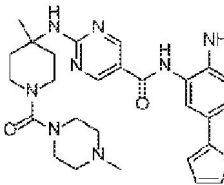
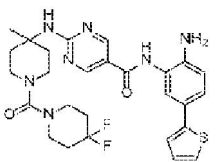
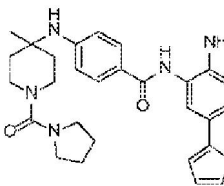
Tabla 1.

ID	Estructura	CI50 (nM)		
		HDAC1	HDAC2	HDAC3
001		6,5	38	427
002		7	28	203

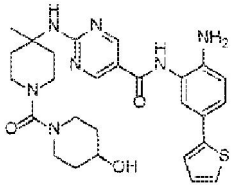
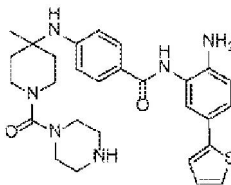
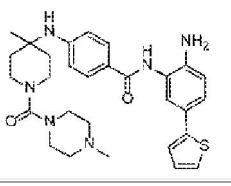
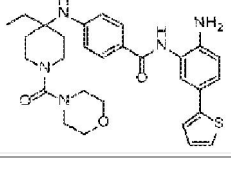
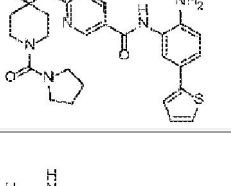
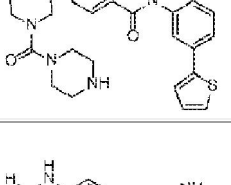
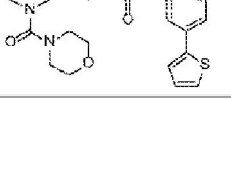
(continuación)

ID	Estructura	CI50 (nM)		
		HDAC1	HDAC2	HDAC3
003		15	56	204
004		2,0	21	286
005		1,2	4,9	82
006		4,7	22	274

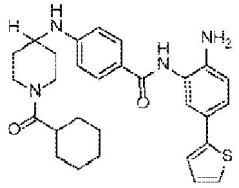
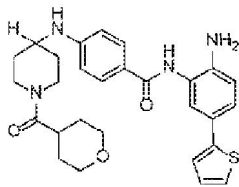
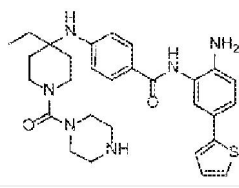
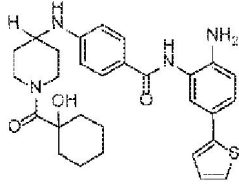
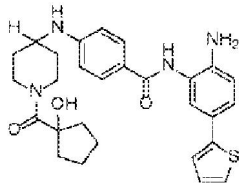
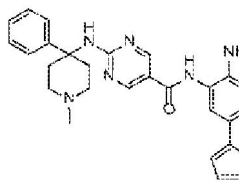
(continuación)

ID	Estructura	CI50 (nM)		
		HDAC1	HDAC2	HDAC3
007		118	703	929
008		9	37	124
009		32	145	250
010		7,3	26	195
011		8,5	32	201
012		19	177	1269
013		4	14	412

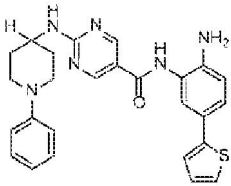
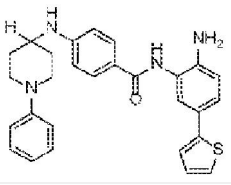
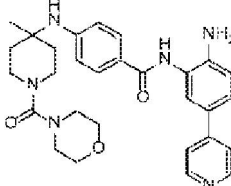
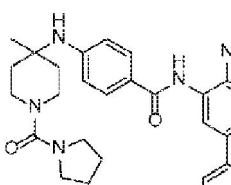
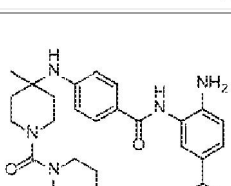
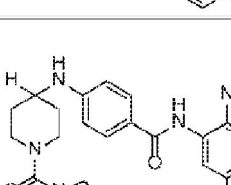
(continuación)

ID	Estructura	CI50 (nM)		
		HDAC1	HDAC2	HDAC3
014		63	299	>2000
015		3,2	1,2	149
016		3,2	13	145
017		18	99	1739
018		12	78	516
019		0,9	4,2	43
020		3,7	17	304

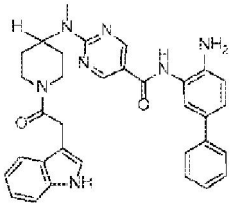
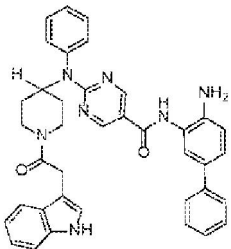
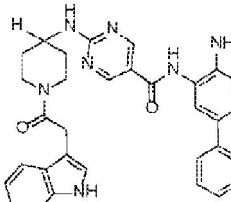
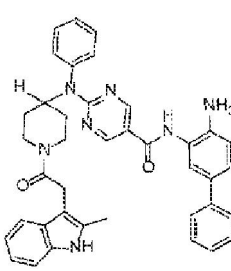
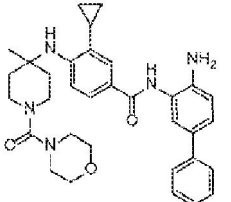
(continuación)

ID	Estructura	CI50 (nM)		
		HDAC1	HDAC2	HDAC3
021		15	72	555
022		5	18	203
023		3,9	20	267
024		6	26	287
025		7	26	355
026		10	72	315

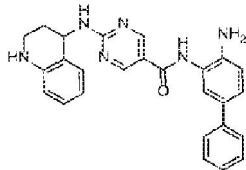
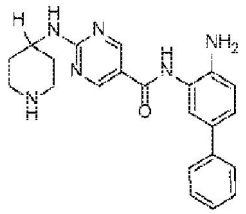
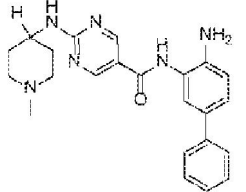
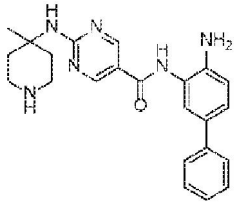
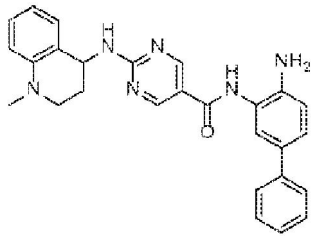
(continuación)

ID	Estructura	CI50 (nM)		
		HDAC1	HDAC2	HDAC3
027		121	690	>2000
028		74	443	>2000
029		12	17	541
030		7,1	9,4	466
031		91	71	264
032		17	20	397

(continuación)

		CI50 (nM)		
ID	Estructura	HDAC1	HDAC2	HDAC3
033		48	211	>2000
034		93	346	>2000
035		22	196	1398
036		74	996	>2000
037		432	377	1855

(continuación)

ID	Estructura	CI50 (nM)		
		HDAC1	HDAC2	HDAC3
038		101	319	>2000
039		17	59	321
040		8	39	277
041		14	26	252
042		210	714	>2000

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

- 5 En otro aspecto, en esta memoria se proporciona un compuesto seleccionado de cualquiera de los compuestos presentados en la Tabla 1a:

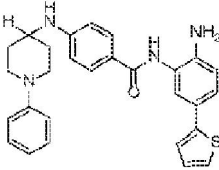
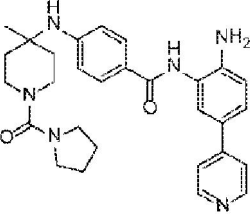
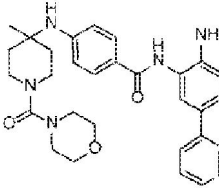
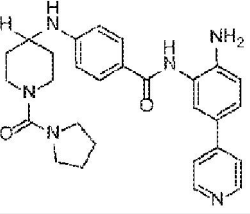
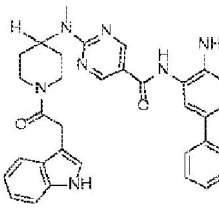
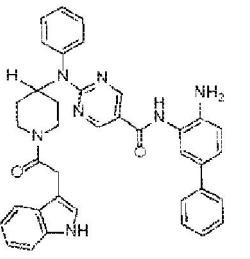
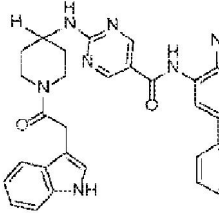
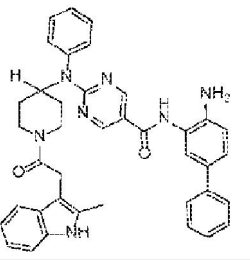
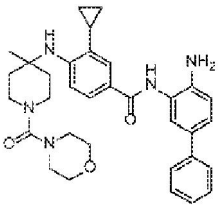
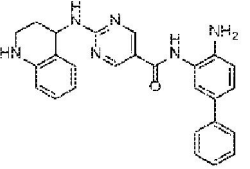
Tabla 1a.

ID	Estructura	ID	Estructura
001		002	
004		005	
006		007	
008		009	
012		013	
014		015	

(continuación)

ID	Estructura	ID	Estructura
016		017	
018		019	
020		021	
022		023	
024		025	
026		027	

(continuación)

ID	Estructura	ID	Estructura
028		030	
031		032	
033		034	
035		036	
037		038	

(continuación)

ID	Estructura	ID	Estructura
039		040	
041		042	

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

- 5 En realizaciones preferidas, los compuestos de la presente invención tienen una o más de las siguientes propiedades: el compuesto es capaz de inhibir al menos una histona desacetilasa (HDAC); el compuesto es capaz de inhibir HDAC1 y/o HDAC2; el compuesto inhibe selectivamente HDAC1 y/o HDAC2 frente a otras HDACs.

- 10 Otro objeto de la presente invención es el uso de un compuesto tal como se describe en esta memoria (*p. ej.*, de cualquier fórmula de esta memoria) en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de un trastorno o enfermedad en esta memoria. Otro objeto de la presente invención es el uso de un compuesto tal como se describe en esta memoria (*p. ej.*, de cualquier fórmula de esta memoria) para uso en el tratamiento de un trastorno o enfermedad en esta memoria.

- 15 En otro aspecto, en esta memoria se proporciona un método de sintetizar un compuesto de Fórmula I, Fórmula II, Fórmula IIa, Fórmula III o Fórmula IIIa, un compuesto presentado en la Tabla 1, un compuesto presentado en la Tabla 1a, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo. La síntesis de los compuestos de la invención se puede encontrar en los Ejemplos que figuran más adelante. Por lo tanto, una realización es un método para preparar un compuesto de cualquiera de las fórmulas de esta memoria utilizando una cualquiera o una combinación de las reacciones descritas en esta memoria. El método puede incluir el uso de uno o más compuestos intermedios o reactivos químicos descritos en esta memoria.

- 25 En otro aspecto, en esta memoria se proporciona un compuesto marcado isotópicamente de cualquiera de las fórmulas descritas en esta memoria. Compuestos de este tipo tienen uno o más átomos de isótopos que pueden ser radiactivos (*p. ej.*, ^3H , ^2H , ^{14}C , ^{13}C , ^{35}S , ^{32}P , ^{125}I y ^{131}I) introducidos en el compuesto. Compuestos de este tipo son útiles para estudios y diagnósticos del metabolismo de fármacos, así como para aplicaciones terapéuticas.

- 30 Los derivados protegidos de los compuestos de la invención se pueden preparar por medios conocidos por los expertos ordinarios en la técnica. Se puede encontrar una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación en T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry," 3ª edición, John Wiley and Sons, Inc., 1999, y ediciones posteriores del mismo.

- 35 Compuestos de la presente invención pueden prepararse o formarse convenientemente durante el procedimiento descrito en esta memoria en forma de solvatos (*p. ej.*, hidratos). Hidratos de compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente mediante recristalización en una mezcla de disolventes acuosa/orgánica, utilizando disolventes orgánicos, tales como dioxano, tetrahidrofurano o metanol.

- 40 Además, compuestos de esta invención pueden tener uno o más dobles enlaces, o uno o más centros asimétricos. Compuestos de este tipo pueden presentarse en forma de racematos, mezclas racémicas, enantiómeros simples, diastereómeros individuales, mezclas diastereoméricas y formas isoméricas dobles *cis* o *trans* o *E* o *Z*, y otras formas estereoisoméricas que pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, en forma de (R) - o (S) -, o en forma de (D) - o (L) - para aminoácidos. Todo este tipo de formas isoméricas de estos compuestos se incluyen expresamente en la presente invención. Isómeros ópticos pueden prepararse a partir de sus respectivos precursores ópticamente activos mediante los procedimientos arriba descritos o resolviendo las mezclas racémicas. La resolución se puede

llevar a cabo en presencia de un agente de resolución, mediante cromatografía o mediante cristalización repetida o mediante alguna combinación de estas técnicas que son conocidas por los expertos en la técnica. Se pueden encontrar detalles adicionales con respecto a las resoluciones en Jacques, et al., "Enantiomers, Racemates, and Resolutions" (John Wiley & Sons, 1981). Los compuestos de esta invención también se pueden representar en múltiples formas tautoméricas, en tales casos, la invención incluye expresamente todas las formas tautoméricas de los compuestos descritos en esta memoria. Cuando los compuestos descritos en esta memoria contienen dobles enlaces olefínicos u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique lo contrario, se pretende que los compuestos incluyan isómeros geométricos tanto E como Z. Asimismo, también se pretende incluir todas las formas tautoméricas. La configuración de cualquier doble enlace carbono-carbono que aparece en esta memoria se selecciona únicamente por conveniencia y no pretende designar una configuración particular, a menos que el texto así lo establezca; por tanto, un doble enlace carbono-carbono representado arbitrariamente aquí como *trans* puede ser *cis*, *trans*, o una mezcla de los dos en cualquier proporción. Todas estas formas isoméricas de compuestos de este tipo se incluyen expresamente en la presente invención.

Los compuestos sintetizados pueden separarse de una mezcla de reacción y purificarse adicionalmente mediante un método tal como cromatografía en columna, cromatografía líquida de alta presión o recrystalización. Como puede apreciar el experto, métodos adicionales de sintetizar los compuestos de las fórmulas de la presente resultarán evidentes para los expertos ordinarios en la técnica. Adicionalmente, las diversas etapas de síntesis se pueden realizar en una secuencia u orden alternativo para dar los compuestos deseados. Además, los disolventes, las temperaturas, duraciones de la reacción, etc. delineados en esta memoria son sólo con fines ilustrativos y un experto ordinario en la técnica reconocerá que la variación de las condiciones de reacción puede producir los compuestos deseados de la presente invención. Las transformaciones de química de síntesis y las metodologías de grupos protectores (protección y desprotección) útiles para sintetizar los compuestos descritos en esta memoria son conocidas en la técnica.

La enumeración de una lista de grupos químicos en cualquier definición de una variable en esta memoria incluye definiciones de esa variable como cualquier grupo individual o combinación de grupos enumerados. La enumeración de una realización para una variable en esta memoria incluye esa realización como una realización única o en combinación con cualquier otra realización o partes de la misma.

Composiciones Farmacéuticas

También se proporciona en esta memoria una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un soporte farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende cualquiera de los compuestos de la presente invención (es decir, compuestos de Fórmula IIIa, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), junto con un soporte farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un soporte farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un soporte farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula IIa, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un soporte farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un soporte farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula IIIa, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un soporte farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Tabla 1, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, junto con un soporte farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Tabla 1a, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un soporte farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende Compuesto 005, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un soporte farmacéuticamente aceptable.

Estas composiciones farmacéuticas comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención formulado junto con uno o más soportes farmacéuticamente aceptables. La expresión "soporte farmacéuticamente aceptable" significa una carga, diluyente, material encapsulante o auxiliar de formulación sólido

inerte, semisólido o líquido, no tóxico, de cualquier tipo. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse a seres humanos y otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (tal como mediante polvos, ungüentos o gotas), bucal o como un aerosol oral o nasal.

- 5 Compuestos de la invención pueden administrarse como composiciones farmacéuticas por cualquier vía convencional, en particular por vía enteral, por ejemplo, por vía oral, *p. ej.*, en forma de comprimidos o cápsulas, o por vía parenteral, *p. ej.*, en forma de soluciones o suspensiones inyectables, por vía tópica, *p. ej.*, en forma de lociones, geles, ungüentos o cremas, o en una forma nasal o de supositorio.
- 10 Composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con al menos un cardador o diluyente farmacéuticamente aceptable se pueden fabricar de manera convencional mediante métodos de mezcla, granulación o revestimiento. Por ejemplo, las composiciones orales pueden ser comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el ingrediente activo junto con a) diluyentes, *p. ej.*, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina; b) lubricantes, *p. ej.*, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos, también c) aglutinantes, *p. ej.*, silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona; si se desea d) desintegrantes, *p. ej.*, almidones, agar, ácido algínico o su sal sódica, o mezclas efervescentes; y/o e) absorbentes, colorantes, aromatizantes y edulcorantes. Las composiciones inyectables pueden ser soluciones o suspensiones isotónicas acuosas, y los supositorios se pueden preparar a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Las composiciones pueden esterilizarse y/o contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o taponeros. Además, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Formulaciones adecuadas para aplicaciones transdérmicas incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención con un soporte. Un soporte puede incluir disolventes absorbibles farmacológicamente aceptables para ayudar al paso a través de la piel del huésped. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos tienen la forma de un vendaje que comprende un miembro de respaldo, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con soportes, opcionalmente una barrera de control de la velocidad para suministrar el compuesto a la piel del huésped a una velocidad controlada y predeterminada a lo largo de un período de tiempo prolongado y medios para asegurar el dispositivo a la piel. También se pueden utilizar formulaciones de matriz transdérmica. Formulaciones adecuadas para aplicación tópica, *p. ej.*, en la piel y los ojos, son preferiblemente soluciones acuosas, ungüentos, cremas o geles bien conocidos en la técnica. Estos pueden contener solubilizantes, estabilizadores, agentes potenciadores de la tonicidad, taponeros y conservantes.
- 35 Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de control de la liberación y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. En formas de dosificación sólidas de este tipo, el compuesto activo se puede mezclar con al menos un diluyente inerte, tal como sacarosa, lactosa o almidón. Formas de dosificación de este tipo también pueden comprender, como es práctica normal, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, *p. ej.*, lubricantes para la formación de comprimidos y otros coadyuvantes para la formación de comprimidos, tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tampón.

Métodos de Tratamiento

- 45 En esta memoria se proporcionan métodos para tratar o prevenir trastornos en un sujeto, tal como un ser humano u otro animal, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, en cantidades y durante el tiempo que sea necesario para lograr el resultado deseado. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la invención significa una cantidad suficiente del compuesto con el fin de disminuir los síntomas de un trastorno en un sujeto. Como se entiende bien en las técnicas médicas, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de esta invención tendrá una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

- 55 El término "tratar" o "tratamiento" tal como se utiliza en esta memoria comprende mitigar, reducir o aliviar al menos un síntoma en un sujeto o efectuar un retraso en la progresión de una enfermedad. Por ejemplo, el tratamiento puede ser la disminución de uno o varios síntomas de un trastorno o la erradicación completa de un trastorno tal como el cáncer. Dentro del significado de la presente divulgación, el término "tratar" también designa detener, retrasar el inicio (es decir, el período anterior a la manifestación clínica de una enfermedad) y/o reducir el riesgo de desarrollar o empeorar una enfermedad. El término "proteger" se utiliza en esta memoria para dar a entender prevenir, retrasar o tratar, o todo, según corresponda, el desarrollo, la continuación o el agravamiento de una enfermedad en un sujeto, *p. ej.*, un mamífero o un ser humano. El término "prevenir", "previniendo" o "prevención" tal como se utiliza en esta memoria comprende la prevención de al menos un síntoma asociado con o causado por el estado, la enfermedad o el trastorno que se está previniendo.

- 65 En general, compuestos de la invención se administrarán en cantidades terapéuticamente eficaces mediante cualquiera de los modos habituales y aceptables conocidos en la técnica, ya sea individualmente o en combinación con uno o más agentes terapéuticos. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar ampliamente dependiendo

de la gravedad de la enfermedad, la edad y la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto utilizado y otros factores.

En determinadas realizaciones, una cantidad o dosis terapéutica de los compuestos de la presente invención puede variar de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 500 mg/kg (aproximadamente 0,18 mg/m² a aproximadamente 900 mg/m²), alternativamente de aproximadamente 1 hasta aproximadamente 50 mg/kg (aproximadamente 1,8 a aproximadamente 90 mg/m²). En general, los regímenes de tratamiento de acuerdo con la presente divulgación comprenden la administración a un paciente que necesita dicho tratamiento de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1000 mg del o de los compuestos de esta invención al día en dosis únicas o múltiples. Cantidades o dosis terapéuticas también variarán dependiendo de la vía de administración, así como de la posibilidad de uso conjunto con otros agentes.

Tras la mejora del estado de un sujeto, se puede administrar una dosis de mantenimiento de un compuesto o composición de esta invención, o una combinación descrita en esta memoria, si es necesario. Posteriormente, la dosificación o la frecuencia de administración, o ambas, pueden reducirse, en función de los síntomas, hasta un nivel en el que se mantenga el estado mejorado cuando los síntomas se hayan aliviado al nivel deseado, el tratamiento debería cesar. Sin embargo, el sujeto puede requerir un tratamiento intermitente a largo plazo ante cualquier reaparición de los síntomas de la enfermedad.

Sin embargo, se entenderá que el médico tratante decidirá el uso diario total de los compuestos y las composiciones de la presente invención dentro del alcance del buen juicio médico. La dosis inhibidora específica para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el momento de la administración, la vía de administración y la velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos utilizados en combinación o de forma coincidente con el compuesto específico empleado; y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

En un aspecto, la divulgación proporciona un método para inhibir selectivamente la actividad de cada una de las HDAC y/o HDAC2 sobre otras HDACs en un sujeto, que comprende administrar un compuesto de Fórmula I, Fórmula II, Fórmula IIa, Fórmula III o Fórmula IIIa, un compuesto presentado en la Tabla 1, un compuesto presentado en la Tabla 1a, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

En una realización, el compuesto tiene una selectividad para cada una de las HDAC1 y/o HDAC2 de aproximadamente 2 a 1000 (incluyendo intervalos, tales como, por ejemplo, 5 a 1000, 10 a 1000, 5 a 100, etc.) veces mayor que para otras HDACs. En otra realización, el compuesto tiene una selectividad para cada una de las HDAC1 y/o HDAC2 cuando se testa en un ensayo de enzima HDAC de aproximadamente 2 a 1000 (incluyendo intervalos tales como, p. ej., 5 a 1000, 10 a 1000, 5 a 100, etc.) veces mayor que para otras HDACs.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por una HDAC, específicamente HDAC1 y/o HDAC2 en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto de Fórmula I, Fórmula II, Fórmula IIa, Fórmula III o Fórmula IIIa, un compuesto presentado en la Tabla 1, un compuesto presentado en la Tabla 1a, o sus sales farmacéuticamente aceptables. Los inhibidores selectivos de HDAC1 y HDAC2 de la presente invención tienen perfiles farmacocinéticos favorables (véase, p. ej., el Ejemplo 44).

En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por HDAC 1 y/o HDAC2 en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por HDAC 1 y/o HDAC2 en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por HDAC1 y/o HDAC2 en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de Fórmula IIa, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por HDAC1 y/o HDAC2 en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por HDAC 1 y/o HDAC2 en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de Fórmula IIIa, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por HDAC1 y/o HDAC2 en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de la Tabla 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por HDAC1 y/o HDAC2 en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de la Tabla 1a, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar una enfermedad mediada por HDAC1 y/o HDAC2 en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto 005, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 La inhibición de HDAC1 y HDAC2 es suficiente para desreprimir la globina fetal. En células de médula ósea CD34 + humanas cultivadas que experimentan diferenciación eritroide, estos compuestos pueden inducir un aumento dependiente de la dosis en la expresión de hemoglobina fetal (véase, p. ej., el Ejemplo 45).

20 Por lo tanto, los compuestos son capaces de desreprimir la globina fetal a través de la inhibición de HDAC. Por consiguiente, en una realización, los compuestos son capaces de tratar un sujeto que padece o es susceptible de padecer una hemoglobinopatía. En una realización preferida, los compuestos son capaces de tratar la anemia de células falciformes o la beta-talasemia.

En otra realización, los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de síndromes mielodisplásicos.

25 En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención son útiles como agentes anticancerígenos. Los compuestos de la invención son capaces de inducir la apoptosis en células cancerosas, por lo tanto, pueden tratar una enfermedad tal como el cáncer o una enfermedad de proliferación. En una realización, el compuesto de la invención puede ser útil en el tratamiento del cáncer, efectuando la muerte de las células tumorales o inhibiendo el crecimiento de las células tumorales.

30 En determinadas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de colon y recto, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de cerebro, cáncer de riñón, cáncer de ovario, cáncer de estómago, cáncer de piel, cáncer de huesos, cáncer gástrico, cáncer de mama, glioma, glioblastoma, neuroblastoma, carcinoma hepatocelular, carcinoma renal papilar, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, leucemia, linfomas, mielomas, retinoblastoma, cáncer de cuello uterino, melanoma y/o cáncer de piel, cáncer de vejiga, cáncer
35 de útero, cáncer testicular, cáncer de esófago y tumores sólidos. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, neuroblastoma, leucemia o linfomas. En otras realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, neuroblastoma, leucemia o linfoma. En una realización adicional, el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) o cáncer de pulmón de células pequeñas. En otra
40 realización, el cáncer es neuroblastoma.

45 En realizaciones adicionales, el cáncer es un cáncer hematológico, tal como leucemia o linfoma. En una determinada realización, el linfoma es el linfoma de Hodgkin o el linfoma no Hodgkin. En determinadas realizaciones, la leucemia es leucemia mieloide, linfocítica, mielocítica, linfoblástica o megacariocítica. En una realización particular, la leucemia es leucemia mielógena aguda y leucemia megacariocítica.

50 En otro aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar la anemia de células falciformes, beta talasemia, el síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda, neuroblastoma o leucemia megacariocítica en un sujeto que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, Fórmula II, Fórmula IIa, Fórmula III o Fórmula IIIa, un compuesto presentado en la Tabla 1, un compuesto
presentado en la Tabla 1a, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

55 En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar la anemia de células falciformes, beta talasemia, síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda, neuroblastoma o leucemia megacariocítica en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

60 En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar la anemia de células falciformes, beta talasemia, el síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda, neuroblastoma o leucemia megacariocítica en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula II, o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

65 En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar la anemia de células falciformes, beta talasemia, el síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda, neuroblastoma o leucemia megacariocítica en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de Fórmula IIa, o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar la anemia de células falciformes, beta talasemia, el síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda, neuroblastoma o leucemia megacariocítica en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de Fórmula III, o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, en esta memoria se proporciona un método para tratar la anemia de células falciformes, beta talasemia, el síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda, neuroblastoma o leucemia megacariocítica en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula IIIa, o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Métodos esbozados en esta memoria incluyen aquellos en los que se identifica que el sujeto necesita un tratamiento determinado particular. La identificación de un sujeto que necesita un tratamiento de este tipo puede estar a juicio de un sujeto o de un profesional de la salud y puede ser subjetiva (p. ej., una opinión) u objetiva (p. ej., medible mediante un test o método de diagnóstico).

Además, como se comentó arriba, los compuestos de la invención son inhibidores selectivos de HDAC 1 y/o HDAC2 y, como tales, son útiles en el tratamiento de trastornos modulados por estas histona desacetilasas (HDACs). Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer (p. ej., cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, neuroblastoma, leucemia o linfomas, etc.). Por consiguiente, en aún otro aspecto, de acuerdo con los métodos para el tratamiento de la presente divulgación, las células tumorales se destruyen o su crecimiento se inhibe poniendo en contacto dichas células tumorales con un compuesto o composición de la invención, tal como se describe en esta memoria.

Por lo tanto, en otro aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para el tratamiento del cáncer, que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención (*es decir*, de cualquiera de las fórmulas de esta memoria), tal como se describe en esta memoria, a un sujeto que lo necesite. En determinadas realizaciones, se identifica que el sujeto necesita un tratamiento de este tipo. En determinadas realizaciones, se proporciona un método para el tratamiento del cáncer, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención a un sujeto que lo necesita, en las cantidades y durante el tiempo que sea necesario para lograr el resultado deseado. En determinadas realizaciones de la presente invención, una "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto o composición farmacéutica de la invención es aquella cantidad eficaz para matar o inhibir el crecimiento de células tumorales. Los compuestos y las composiciones, de acuerdo con el método de la presente divulgación, pueden administrarse utilizando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para matar o inhibir el crecimiento de células tumorales. Por tanto, la expresión "cantidad eficaz para matar o inhibir el crecimiento de células tumorales", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a una cantidad suficiente de agente para matar o inhibir el crecimiento de células tumorales. La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, edad y estado general del sujeto, de la gravedad de la infección, del agente anticanceroso particular, de su modo de administración, y similares.

En determinadas realizaciones, el método implica la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo a un sujeto (incluyendo, pero no limitado a un ser humano o animal) que lo necesita. En determinadas realizaciones, los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento del cáncer y otros trastornos proliferativos que incluyen, pero no se limitan a cáncer de pulmón (p. ej., cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer de colon y recto, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de cerebro, cáncer de riñón, cáncer de ovario, cáncer de estómago, cáncer de piel, cáncer de huesos, cáncer gástrico, cáncer de mama, glioma, glioblastoma, neuroblastoma, carcinoma hepatocelular, carcinoma renal papilar, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, leucemia (p. ej., CML, AML, CLL, ALL), linfomas (no Hodgkin y Hodgkin), mielomas, retinoblastoma, cáncer de cuello uterino, melanoma y/o cáncer de piel, cáncer de vejiga, cáncer de útero, cáncer de testículo, cáncer de esófago y tumores sólidos.

En determinadas realizaciones, la divulgación proporciona un método para tratar cualquiera de los trastornos descritos en esta memoria, en donde el sujeto es un ser humano.

De acuerdo con lo anterior, la presente divulgación proporciona, además, un método para prevenir o tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos arriba descritos en un sujeto que necesita dicho tratamiento, método que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Para cualquiera de los usos anteriores, la dosificación requerida variará dependiendo del modo de administración, de la afección particular a tratar y el efecto deseado.

EJEMPLOS

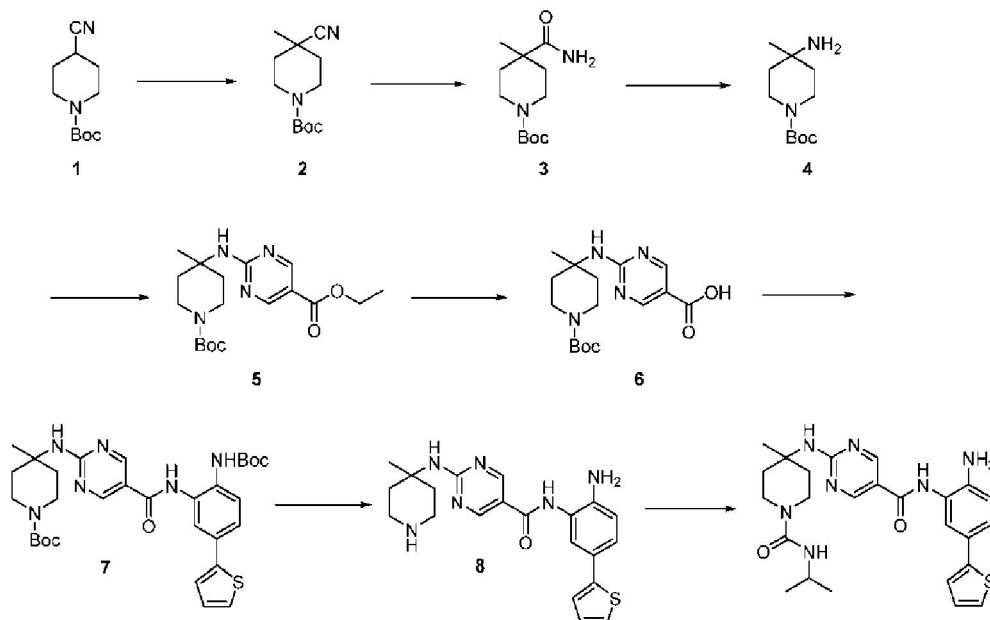
A continuación se recogen ejemplos con fines ilustrativos y para describir determinadas realizaciones específicas de la invención. Sin embargo, el alcance de las reivindicaciones no debe estar limitado de modo alguno por los ejemplos recogidos en esta memoria. Para los expertos en la técnica resultarán evidentes diversos cambios y modificaciones de las realizaciones descritas y se pueden realizar dichos cambios y modificaciones que incluyen, sin limitación, los

relacionados con las estructuras químicas, sustituyentes, derivados y/o formulaciones de la invención. Las definiciones de las variables en las estructuras en los esquemas en esta memoria son acordes con las de las posiciones correspondientes en las fórmulas presentadas en esta memoria.

Los Ejemplos indicados con * están fuera del alcance de la invención.

5

*** Ejemplo 1: Síntesis de Compuesto 001**



- 10 **Etapla 1:** Bis(trimetilsilil)amida de litio (solución 1,0 M en THF, 240 ml, 240 mmol) se añadió lentamente a un matraz de fondo redondo con compuesto 1 (25 g, 120 mmol) a -76 °C bajo N₂. La reacción se agitó durante 4 h a -76 °C y luego se inyectó yodometano (15 ml, 240 mmol) en el sistema. La mezcla de reacción se agitó a -76 °C durante 30 min. y luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió bruscamente con 150 ml de NH₄Cl acuoso saturado, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (acetato de etilo o EA). Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir el compuesto diana 2 (25 g, 93%) en forma de un sólido amarillo claro.
- 15

- Etapla 2:** K₂CO₃ (31 g, 224 mmol) se añadió a una solución de compuesto 2 (25 g, 111 mmol) en DMSO (120 ml). H₂O₂ (100 ml) se añadió lentamente al sistema a 60 °C, y la reacción se agitó durante la noche a 60 °C. A continuación, el sistema se introdujo en agua fría y se extrajo con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir el compuesto diana 3 (26 g, 96%) en forma de un sólido blanco.
- 20

- Etapla 3:** Compuesto 3 (26 g, 107 mmol) se disolvió con ACN (acetonitrilo) (200 ml) y KOH 5 N (100 ml). Después se añadió al sistema 1,3-dibromo-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (15 g, 54 mmol). La mezcla se agitó durante la noche y se concentró para separar el ACN. El pH de la fase acuosa se ajustó a aproximadamente 5 con HCl 2 N en un baño de hielo, se extrajo con EA y se separó. El pH de la fase acuosa se ajustó luego a 10. El precipitado se recogió para producir el compuesto 4 en forma de un sólido blanco (16 g, 69%).
- 25

- Etapla 4:** Una solución del compuesto 4 (2 g, 9,34 mmol), 2-cloropirimidina (2,6 g, 14,02 mmol) y DIPEA (5,3 g, 28,03 mmol) en 1,4-dioxano (25 ml) se calentó a 95 °C. durante la noche. Después, la mezcla de reacción se concentró y se purificó mediante una columna de gel de sílice con EA/PE = 1/5 para obtener el compuesto 5 (1,8 g, 53%) en forma de un sólido amarillo claro.
- 30

- Etapla 5:** Una solución de compuesto 5 (465 mg, 1,28 mmol), NaOH 2 N (10 ml, 20 mmol) en THF (10 ml) y EtOH (10 ml) se calentó a 55 °C durante 2 h. La solución de reacción se concentró y el pH de la fase acuosa se ajustó entre aproximadamente 5 ~ 6. La solución resultante se extrajo con EA, las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera, luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para obtener el compuesto diana 6 (400 mg, 93%) en forma de un sólido blanco.
- 35

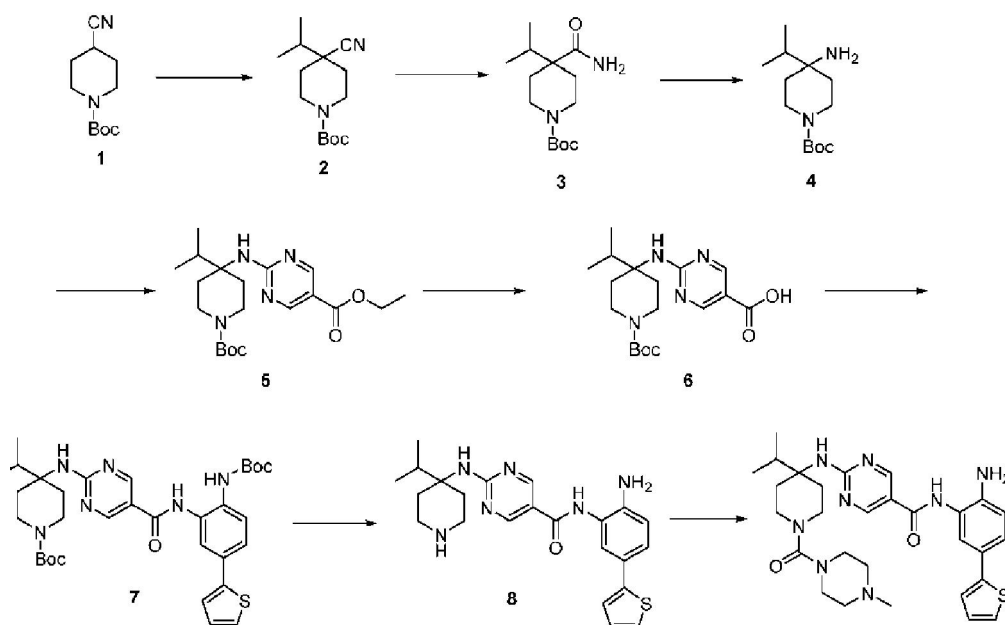
- Etapla 6:** Una mezcla de compuesto 6 (400 mg, 1,19 mmol), amina (345 mg, 1,19 mmol), EDCI (307 mg, 2,38 mmol) y DMAP (290 mg, 2,38 mmol) en DMF (10 mL) se calentó a 55 °C durante la noche. La mezcla se combinó con agua y se extrajo con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio,
- 40

se filtraron y se concentraron. La composición resultante se purificó mediante una columna de gel de sílice con EA/PE = 1/2 para producir compuesto 7 (400 mg, 55%) en forma de un sólido de color púrpura.

Etapa 7: Una solución de compuesto 7 (400 mg, 0,65 mmol) con HCl/1,4-dioxano (5 ml, 20 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La solución de reacción se concentró y se lavó con PE para producir el compuesto diana 8 (350 mg, 100%) en forma de un sólido gris.

Etapa 8: Compuesto 8 (162 mg, 0,4 mmol) y Et₃N (80 mg, 0,8 mmol) se disolvieron en THF (5 ml). Se añadió al sistema isocianato de isopropilo (CAS: 1795-48-8, 1,2 eq). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Luego, la mezcla se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para producir Compuesto 001 (35 mg, 16%).
¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,51 (s, 1H), 8,84 (s, 2H), 7,50 (s, 1H), 7,44 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,35 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 7,29 (dd, J = 8,3, 2,1 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 7,05 (dd, J = 5,0, 3,6 Hz, 1H), 6,79 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,09 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,20 (s, 2H), 3,53 (d, J = 13,6 Hz, 2H), 3,05 (t, J = 10,7 Hz, 2H), 2,25 (d, J = 13,8 Hz, 2H), 1,53 - 1,44 (m, 2H), 1,42 (s, 3H), 1,08 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 1,04 (d, J = 6,6 Hz, 6H). LCMS: m/z = 494 (M+H).

* Ejemplo 2: Síntesis de Compuesto 002



Etapa 1: A una solución de 1 (3 g, 14,28 mmol) en un matraz de ebullición de 3 bocas lavado abundantemente con N₂ se añadió LHDMS (1 M, 21,4 ml) a -78 °C. La reacción se agitó durante 3 h y luego se añadió lentamente 2-yodopropano (3,6 g, 21,43 mmol). La solución de reacción se agitó a -78 °C y se calentó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se enfrió bruscamente con H₂O (2 ml) y se concentró, se disolvió en EA (200 ml) y se lavó con agua (100 ml²) seguido de NaCl saturado (acuoso, 100 ml). La capa orgánica se concentró para obtener el compuesto 2 en forma de un sólido pardo (4 g, 100%).

Etapa 2: A una solución de 2 (1 g, 3,97 mmol) en DMSO (30 ml) se le añadió K₂CO₃ (1,6 g, 11,9 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a 60 °C, luego se añadió gota a gota H₂O₂ (30% aq, 5 ml) y se agitó durante 2 h. Se añadió EA (100 ml) a la mezcla que luego se lavó con agua (50 ml²) y NaCl saturado (acuoso, 50 ml). Al secar con Na₂SO₄ anhidro y concentrar se obtuvo el compuesto 3 en forma de un sólido blanco (1 g, 90%).

Etapa 3: A una solución de compuesto 3 (2,7 g, 10 mmol) en ACN (50 ml) se le añadió KOH (4 N, ac., 50 ml) y DBDMH (2,81 g, 5 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró y se añadió HCl 1 N para ajustar el pH a aproximadamente 6. Después, la mezcla se extrajo con EA (50 ml) y la fase acuosa se ajustó a aproximadamente pH 9 añadiendo KOH. La fase acuosa resultante se extrajo con EA (50 ml x 3). La fase en EA se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró para producir compuesto 4 en forma de un líquido incoloro (1 g, 40%).

Etapa 4: Una solución de compuesto 4 (500 mg, 2,06 mmol) y 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (384 mg, 2,06 mmol) en NMP (10 ml) se lavó abundantemente con N₂ y se agitó a 140 °C durante 1 hora. Se añadió EA (100 ml) a la mezcla, que luego se lavó con agua (50 ml x 2) y NaCl saturado (ac., 50 ml). La concentración y purificación mediante columna de cromatografía en gel de sílice (PE/EA = 5/1) produjo el compuesto 5 en forma de un sólido blanco (120 mg al 15%).

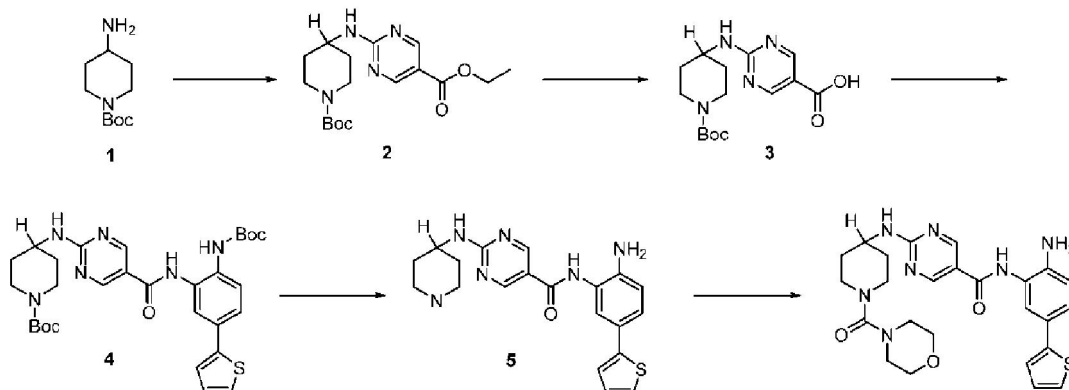
Etapa 5: A una mezcla de compuesto 5 (400 mg) en EtOH (ac., 95%, 5 ml) se añadió NaOH (2 M, 5 ml) y la reacción se agitó a 55 °C durante 2 horas. Se añadió agua (50 ml) a la mezcla y se ajustó el pH a aproximadamente 7 con ácido cítrico. La mezcla acuosa resultante se extrajo con EA (50 ml x 3). La fase en EA se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró para producir compuesto 6 en forma de un sólido blanco (340 mg, bruto).

Etapas 6: Una solución de 6 (100 mg, bruto), amina (79,6 mg, 0,274 mmol), EDCI (71 mg, 0,549 mmol), HOAT (75 mg, 0,549 mmol), DMAP (3,4 mg, 0,027 mmol), DIPEA (142 mg, 1,1 mmol) en DMF (5 ml) se agitó a 55 °C durante la noche. Se añadió EA (100 ml) a la mezcla que luego se lavó con agua (50 ml x 3) y se concentró para producir compuesto 7 en forma de un aceite pardo (200 mg, bruto).

Etapa 7: A una solución de 7 (200 mg, bruto) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (2 ml) y la mezcla resultante se agitó a *rt* durante 2 horas. La mezcla se concentró para producir compuesto 8 en forma de un aceite pardo (200 mg, 20%).

Etapa 8: A una solución de compuesto 8 (100 mg, bruto) en DCM (5 ml) se le añadió DIPEA (88,8 mg, 0,688 mmol) y (44,6 mg, 0,275 mmol). La reacción se agitó a 0 °C durante 1 hora. La mezcla se concentró y se purificó por HPLC preparativa para producir Compuesto 002 en forma de un sólido blanco (34 mg, 35%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,75 (s, 1H), 9,64 (s, 1H), 8,84 (s, 2H), 7,58 (s, 1H), 7,47 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 7,35 (dd, J = 8,3, 2,1 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,09 - 7,04 (m, 1H), 6,88 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,64 (d, J = 10,5 Hz, 2H), 3,50 (d, J = 11,9 Hz, 2H), 3,37 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 2,98 (dd, J = 30,8, 11,3 Hz, 6H), 2,81 (s, 3H), 2,61 - 2,55 (m, 1H), 2,38 (d, J = 11,7 Hz, 2H), 1,51 (t, J = 11,1 Hz, 2H), 0,86 (d, J = 6,9 Hz, 6H). LCMS: m/z = 563 (M+H).

* Ejemplo 3: Síntesis de Compuesto 003



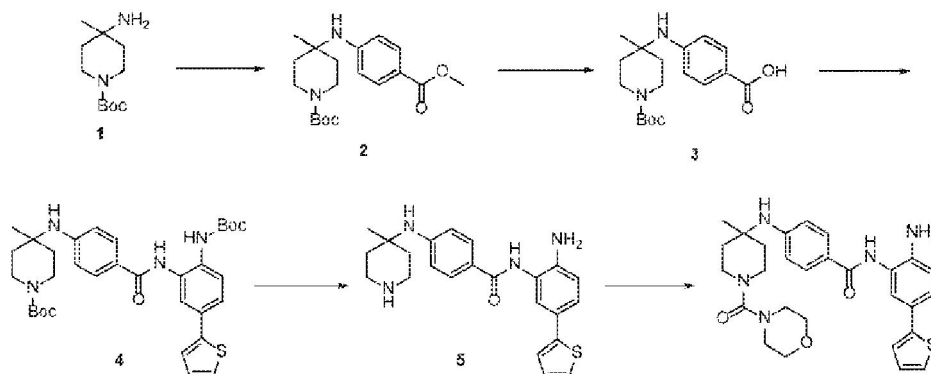
Etapa 1: Una mezcla de 2-Cl-pirimidina (1,86 g, 10 mmol), una amina (3,00 g, 15 mmol) y NEt_3 (3,0 g, 30 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml) se agitó a 95 °C durante la noche. La mezcla se concentró, se añadieron EA (60 ml) y ácido cítrico acuoso (60 ml) y la mezcla resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se secó y se concentró para producir compuesto 2 (3,4 g, rendimiento: 97%) en forma de un sólido de color amarillo claro.

Etapa 2: Una mezcla de compuesto 2 (3,5 g, 10 mmol) y NaOH (2 M, 15 ml) en EtOH (15 ml) y THF (15 ml) se agitó a 60 °C durante 2 horas. La mezcla se concentró y se añadió ácido cítrico acuoso hasta pH <7. La mezcla resultante se agitó durante 30 min y se filtró para producir compuesto 3 (2,8 g, rendimiento: 90%) en forma de un sólido de color amarillo claro.

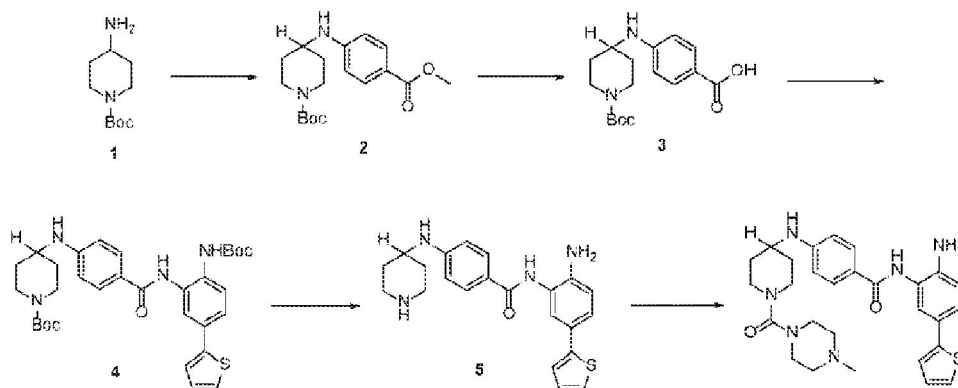
Etapa 3: Una mezcla de compuesto 3 (3,2 g, 10 mmol), compuesto amina (2,9 g, 10 mmol), HOAT (2,0 g, 15 mmol), EDCI (3,8 g, 20 mmol) en DMF (25 ml). se agitó a 60 °C durante la noche. A la mezcla se añadieron EA (100 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml) y la mezcla resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml x 2), se secó y se concentró para producir un residuo, que se lavó con CH₃CN (10 x 20 ml) para producir compuesto 4 (2,9 g, 50%) en forma de un sólido gris.

Etapa 4: A una solución de compuesto 4 (2,9 g, 5 mmol) en DCM (30 ml) se añadió TFA (5 ml) a ta durante 2 horas. La mezcla se concentró para producir compuesto 5 (2,9 g, 100%) sin purificación adicional.

Etapa 5: A una solución de compuesto 4 (197 mg, 0,5 mmol) y NEt₃ (250 mg, 2,5 mmol) en DCM (5 ml) se le añadió cloruro de morfolin-4-carbonilo (194 mg, 0,65 mmol) a 0 °C. Se utilizó LCMS para controlar la reacción hasta su compleción. Se añadió NH₃-H₂O (0,5 ml) a la mezcla de reacción que luego se agitó durante 30 min y se concentró hasta un residuo. La purificación mediante columna de gel de sílice produjo Compuesto 003 (114 mg, 45%) en forma de un sólido amarillo claro. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,54 (s, 1H), 8,85 (s, 2H), 7,88 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,44 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,35 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 7,29 (dd, J = 8,3, 2,1 Hz, 1H), 7,24 (d, J = 3,4 Hz, 1H), 7,05 (dd, J = 4,9, 3,7 Hz, 1H), 6,79 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 5,21 (s, 2H), 4,01 (dd, J = 7,2, 3,3 Hz, 1H), 3,68 - 3,51 (m, 7H), 3,18 - 3,04 (m, 5H), 2,88 (t, J = 11,7 Hz, 2H), 1,86 (d, J = 10,0 Hz, 2H), 1,45 (dd, J = 20,5, 11,3 Hz, 2H) LCMS: m/z = 508 (M+H)

Ejemplo 4: Síntesis de Compuesto 004

- 5 **Etapla 1:** Una solución de amina 1 (1 g, 4,67 mmol), 4-bromobenzoato de metilo (1 g, 4,67 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (428 mg, 0,47 mmol), Ruphos (218 mg, 0,47 mmol), CS_2CO_3 (4,5 g, 14,0 mmol) en Tol (50 ml) se lavó abundantemente con N_2 y se agitó a 98 °C durante la noche. La mezcla se filtró, se concentró y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (PE: EA = 5:1-1:1) para producir compuesto 2 en forma de un sólido amarillo (1,1 g, 65%).
- 10 **Etapla 2:** A una mezcla del compuesto 2 (1,1 g) en EtOH (acuoso al 95%, 5 ml) se le añadió NaOH (2 M, 5 ml) y la solución resultante se agitó a 55 °C durante 2 horas. Se añadió agua (50 ml) a la mezcla y el pfi se ajustó a 7 con ácido cítrico. La mezcla resultante se extrajo con EA (50 ml x 3). La fase en EA se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró para producir compuesto 3 en forma de un sólido blanco (1 g, bruto).
- 15 **Etapla 3:** Una solución de compuesto 3 (800 mg, bruto), amina (694 mg, 2,395 mmol), EDCI (618 mg, 4,790 mmol), HOAT (651 mg, 4,790 mmol), DMAP (29 mg, 0,239 mmol) y DIPEA (927 mg, 7,186 mmol) en DMF (20 ml) se agitó a 55 °C durante 3 días. Se añadió EA (100 ml) a la mezcla y la solución resultante se lavó con agua (50 ml x 3), se concentró y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (PE:EA = 6:1-1:1) para producir compuesto 4 en forma de un sólido pardo (650 mg, 45%).
- 20 **Etapla 4:** A una solución de compuesto 4 (300 mg) en DCM (2 ml) se añadió TFA (2 ml) y la solución resultante se agitó a ta durante 2 horas. La mezcla se concentró para producir compuesto 5 en forma de un aceite pardo (400 mg, bruto).
- 25 **Etapla 5:** A una solución de compuesto 5 (200 mg, bruto) en DCM (20 ml) se añadió DIPEA (190 mg, 1,478 mmol) y cloruro de morfolin-4-carbonilo (110 mg, 0,739 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a 0 °C durante 1 hora. La mezcla se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para producir Compuesto 004 en forma de un sólido blanco (67,4 mg). ^1H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,85 (s, 1H), 7,81 (t, J = 21,9 Hz, 2H), 7,58 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 7,53 - 7,42 (m, 2H), 7,40 (d, J = 3,1 Hz, 1H), 7,11 (dd, J = 5,0, 3,6 Hz, 2H), 6,92 (s, 2H), 3,63 - 3,47 (m, 4H), 3,31 - 3,01 (m, 8H), 1,98 (d, J = 14,0 Hz, 2H), 1,63 (d, J = 12,9 Hz, 2H), 1,37 (s, 3H). LCMS: m/z = 520 (M+H).
- 30

Ejemplo 5: Síntesis de Compuesto 005

- 35 **Etapla 1:** A una solución de compuesto 1 (1 g, 5 mmol) y 4-bromobenzoato de metilo (1,1 g, 5 mmol) en tolueno (20 ml) se añadió $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (230 mg, 0,25 mmol), Ruphos (290 mg, 0,5 mmol) y Cs_2CO_3 (4,9 g, 15 mmol). La reacción se agitó a 95 °C durante la noche bajo una atmósfera de N_2 . Después de que el material de partida se consumió por completo, la mezcla heterogénea se filtró a través de diatomita y se concentró en vacío para producir un aceite viscoso,
- 40 que se purificó mediante una columna de gel de sílice para producir compuesto 2 (1 g, 60%).

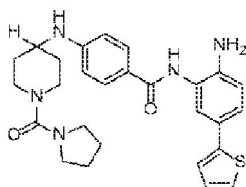
Etapla 2: Se disolvió compuesto 2 (1 g, 3 mmol) con MeOH (10 ml) y THF (10 ml). Luego se añadió NaOH 2 N (15 ml) a la solución. La reacción se agitó a 55 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró para separar el disolvente y el pH se ajustó a entre aproximadamente 4 - 5 y se extrajo con EA. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. La concentración de la fase orgánica proporcionó compuesto 3 (800 mg, 82%) en forma de un sólido blanco.

Etapla 3: A una solución de compuesto 3 (500 mg, 1,56 mmol) y amina (453 mg, 1,56 mmol) en DMF (10 ml) se añadió HOAT (421 mg, 3,1 mmol), EDCI (592 mg, 3,1 mmol) y DIPEA (400 mg, 3,1 mmol). La reacción se agitó a 55 °C durante la noche. La reacción se enfrió bruscamente con agua y se extrajo con EA. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. La purificación mediante columna de gel de sílice produjo compuesto 4 (800 mg, 80%) en forma de un sólido amarillo claro.

Etapla 4: A una solución de compuesto 4 (800 mg, 1,35 mmol) en DCM (10 ml) se añadió TFA (5 ml). La solución se agitó a ta durante 30 min. La concentración de la solución produjo compuesto 5 (600 mg, 100%) en forma de un sólido gris.

Etapla 5: A una solución de compuesto 5 (80 mg, 0,20 mmol) e hidrocloreuro de cloruro de 4-metilpiperazina-1-carbonilo (40 mg, 0,20 mmol) se añadió trietilamina (100 mg, 1 mmol) a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 2 h y luego se filtró a través de gel de sílice. La concentración y purificación por HPLC preparativa produjo Compuesto 004 (15 mg, 15%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,37 (s, 1H), 7,78 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,45 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,36 (dd, J = 5,1, 1,0 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,26 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,24 (dd, J = 3,5, 1,1 Hz, 1H), 7,05 (dd, J = 5,1, 3,6 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,65 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,20 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 5,08 (s, 2H), 3,57 (d, J = 13,0 Hz, 3H), 3,15 (s, 4H), 2,91 (t, J = 11,3 Hz, 2H), 2,33 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,91 (d, J = 10,2 Hz, 2H), 1,41- 1,24 (m, 2H). LCMS: m/z = 519 (M+H).

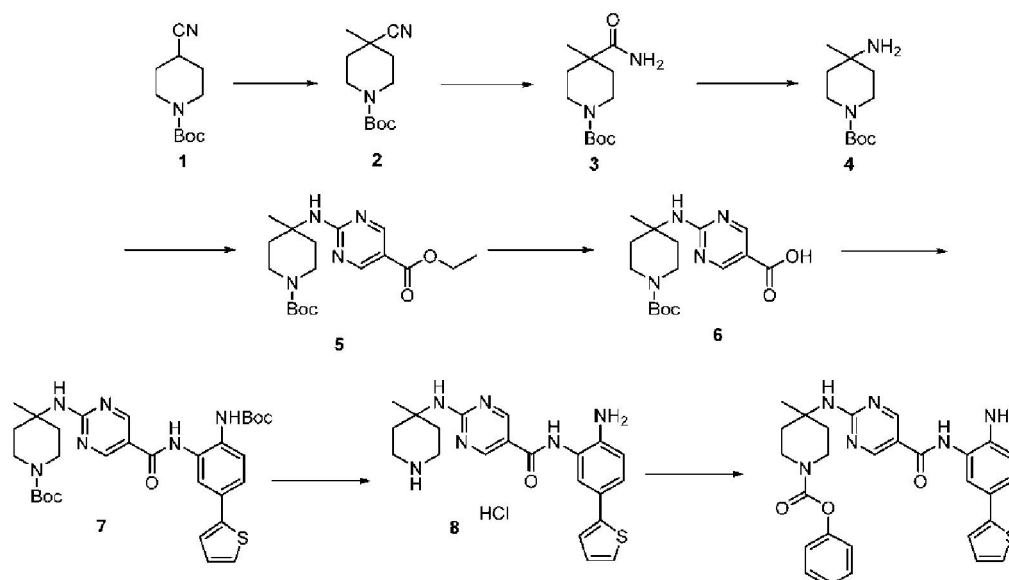
Ejemplo 6: Síntesis de Compuesto 006



Etapas 1-4: Consultar las etapas 1-4 del Ejemplo 5 para obtener compuesto 5.

Etapla 5: A una solución de compuesto 5 (100 mg, 0,25 mmol) y cloruro de pirrolidina-1-carbonilo (34 mg, 0,25 mmol) se añadió trietilamina (100 mg, 1 mmol) a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 2 h y luego se filtró a través de gel de sílice. La concentración y purificación por HPLC preparativa produjo Compuesto 006 (10 mg, 8%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,50 (s, 1H), 7,79 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,50 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,33 (dd, J = 8,3, 2,1 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 7,07 (dd, J = 5,1, 3,6 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,66 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 3,63 (d, J = 13,2 Hz, 2H), 3,53 (s, 1H), 3,26 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,87 (t, J = 11,2 Hz, 2H), 1,91 (d, J = 10,8 Hz, 2H), 1,75 (t, J = 6,5 Hz, 5H), 1,34 (dd, J = 20,6, 10,1 Hz, 2H). LCMS: m/z = 490 (M+H).

* Ejemplo 7: Síntesis de Compuesto 007



Etapa 1: Una solución de bis(trimetilsilil)amida de litio (solución 1,0 M en THF, 240 ml, 240 mmol) se añadió lentamente en un matraz de fondo redondo con compuesto 1 (25 g, 120 mmol) a -76 °C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó durante 4 h a -76 °C. Luego se añadió yodometano (15 ml, 240 mmol) al sistema. La mezcla de reacción se agitó a -76°C durante 30 min. y luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió bruscamente con 150 ml de NH₄Cl acuoso saturado y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir compuesto 2 diana (25 g, 93%) en forma de un sólido amarillo claro.

Etapa 2: Se añadió K₂CO₃ (31 g, 224 mmol) a la solución del compuesto 2 (25 g, 111 mmol) en DMSO (120 ml). Se añadió lentamente H₂O₂ (100 ml) al sistema a 60°C y la reacción se agitó durante la noche a 60°C. Una vez completado, el sistema se enfrió bruscamente con agua fría y se extrajo con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para obtener el compuesto 3 diana (26 g, 96%) en forma de un sólido blanco.

Etapa 3: A una solución de compuesto 3 (26 g, 107 mmol) en 200 ml de CH₃CN se añadió KOH 5 N (100 ml). Después se añadió al sistema 1,3-dibromo-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (15 g, 54 mmol). La reacción se agitó durante la noche. Después de la compleción, la mezcla se concentró para separar el CH₃CN y el pH de la fase acuosa se ajustó a 5 con HCl 2 N en un baño de hielo, se extrajo con EA y se separó. El pH de la fase acuosa se ajustó luego a 10. El precipitado se recogió para proporcionar compuesto 4 (16,1 g, 69%) en forma de un sólido blanco.

Etapa 4: A una solución de compuesto 4 (2 g, 9,34 mmol) en 1,4-dioxano (25 ml) se añadió 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (2,6 g, 14,02 mmol) y DIPEA (5,3 g, 28,03 mmol). La reacción se agitó a 95°C durante la noche. La concentración y purificación mediante columna de gel de sílice con EA/PE = 1/5 proporcionó el compuesto 5 (1,8 g, 53%) en forma de un sólido amarillo claro.

Etapa 5: Una solución del compuesto 5 (465 mg, 1,28 mmol), NaOH 2 N (10 ml, 20 mmol) en THF (10 ml) y EtOH (10 ml) se agitó a 55 °C durante 2 h. La concentración y el ajuste del pH de la fase acuosa a 5-6 fueron seguidos por extracción con EA (2 x 15 ml). Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar el compuesto 6 (400 mg, 93%) en forma de un sólido blanco.

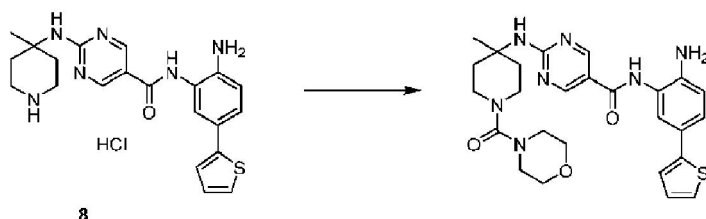
Etapa 6: Una solución del compuesto 6 (400 mg, 1,19 mmol), 2-amino-4-(tiofen-2-il)fenilcarbamato de terc.-butilo (345 mg, 1,19 mmol), EDCI (307 mg, 2,38 mmol) y se formó DMAP (290 mg, 2,38 mmol) en DMF (10 ml). La reacción se agitó a 55°C durante la noche. Después de la compleción, la mezcla se añadió a agua y se extrajo con EA (2 x 15 ml). Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. Luego, la purificación mediante columna de gel de sílice con EA/PE = 1/2 produjo compuesto 7 (400 mg, 55%) en forma de un sólido púrpura.

Etapa 7: A una solución del compuesto 7 (400 mg, 0,65 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) se añadió HCl/1,4-dioxano (5 ml, 20 mmol) a temperatura ambiente durante la noche. La concentración y el lavado con PE produjeron el compuesto 8 (350 mg, 100%) en forma de un sólido gris.

Etapa 8: A una solución de compuesto 8 (200 mg, 0,45 mmol) y Et₃N (101 mg, 2,2 eq) en THF (10 ml) se añadió carbonocloridato de fenilo (78 mg, 0,5 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la compleción, la mezcla se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 007 (66

mg, 28%). ^1H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,71 (s, 1H), 8,88 (s, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,42-7,35 (m, 4H), 7,30 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 7,22 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 7,12 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,10-7,06 (m, 1H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 3,76 (d, J = 60,0 Hz, 2H), 3,32 (d, J = 79,9 Hz, 2H), 2,40 (s, 2H), 1,65 (s, 2H), 1,48 (s, 3H). LCMS: m/z = 529 ($M+H$) $^+$.

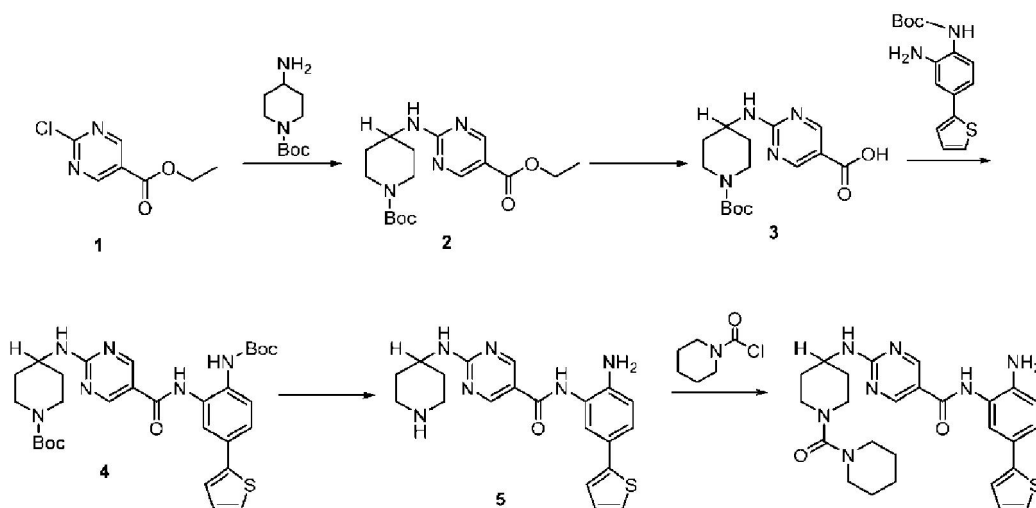
5 * Ejemplo 8: Síntesis de Compuesto 008



Etapas 1-7: Consultar las etapas 1-7 del Ejemplo 7 para obtener compuesto 8.

Etapas 8: A una solución de compuesto 8 (100 mg, 0,22 mmol) y Et₃N (44 mg, 0,44 mmol) en THF (5 ml) se añadió cloruro de morfina-1-carbonilo (36 mg, 1,1 eq). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de la completación, la mezcla se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 008 (50 mg, 44%). ^1H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,52 (s, 1H), 8,85 (s, 2H), 7,56 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,35 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 3,1 Hz, 1H), 7,07 - 7,03 (m, 1H), 6,79 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,22 (s, 2H), 3,56 (s, 4H), 3,08 (d, J = 22,9 Hz, 6H), 2,31 (d, J = 12,9 Hz, 2H), 1,56 (t, J = 10,1 Hz, 2H), 1,42 (s, 3H). LCMS: m/z = 522 ($M+H$) $^+$.

20 * Ejemplo 9: Síntesis de Compuesto 009



Etapas 1: Una mezcla de compuesto 1 (1,86 g, 10 mmol), compuesto Boc-amina (3,0 g, 15 mmol) y NEt₃ (3,0 g, 30 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml) se agitó a 95 °C durante la noche. La mezcla se concentró y, tras la adición de EA (60 ml) y de ácido cítrico acuoso (60 ml), la mezcla se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se secó y se concentró para producir compuesto 2 (3,4 g, 97%) en forma de un sólido amarillo claro.

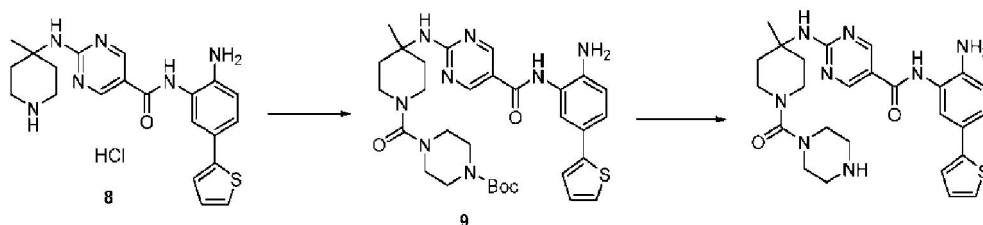
Etapas 2: Una mezcla de compuesto 2 (3,5 g, 10 mmol) y NaOH (2 M, 15 ml) en EtOH (15 ml) y THF (15 ml) se agitó a 60°C durante 2 h. La mezcla se concentró y, tras la adición de ácido cítrico acuoso para ajustar a pH < 7, la mezcla se agitó durante 30 min y se filtró para proporcionar compuesto 3 (2,8 g, 90%) en forma de un sólido amarillo claro.

Etapas 3: Una mezcla de compuesto 3 (3,2 g, 10 mmol), compuesto Boc-amina (2,9 g, 10 mmol), HOAT (2,0 g, 15 mmol) y EDCI (3,8 g, 20 mmol) en DMF (25 ml) se agitó a 60°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (100 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml) y la mezcla se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml*2), se secó y se concentró para producir un residuo, que se lavó con CH₃CN (10-20 ml) para proporcionar compuesto 4 (2,9 g, 50%) en forma de un sólido gris.

Etapas 3: A una solución de compuesto 4 (2,9 g, 5 mmol) en DCM (30 ml) se añadió TFA (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se concentró para proporcionar compuesto 5 (2,9 g, 100%) sin purificación adicional.

Etapa 4: A una solución de compuesto 5 (197 mg, 0,5 mmol) y NEt_3 (250 mg, 2,5 mmol) en DCM (5 ml) se añadió cloruro de piperidina-1-carbonilo (96 mg, 0,65 mmol) a 0°C . La LCMS se controló hasta la compleción de la reacción. A la mezcla se añadió $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$ (0,5 ml), la mezcla se agitó durante 30 min y se concentró para obtener un residuo, que se purificó mediante una columna de gel de sílice para proporcionar Compuesto 009 (114 mg, 45%) en forma de un sólido amarillo claro. ^1H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,69 (s, 1H), 8,86 (s, 2H), 7,89 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,40 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,07 (dd, J = 5,0, 3,7 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 3,99 (s, 1H), 3,56 (d, J = 11,5 Hz, 2H), 3,10 (s, 4H), 2,84 (t, J = 11,6 Hz, 2H), 1,85 (d, J = 10,7 Hz, 2H), 1,52 (s, 2H), 1,46 (d, J = 8,3 Hz, 6H). LCMS: m/z = 506 (M+H) $^+$.

* Ejemplo 10: Síntesis de Compuesto 010

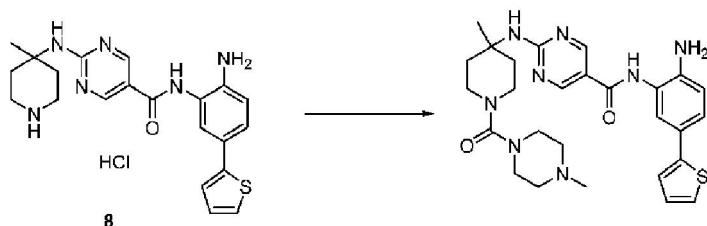


Etapas 1-7: Consultar las etapas 1-7 del Ejemplo 7 para obtener compuesto 8.

Etapa 8: A una solución de compuesto 8 (100 mg, 0,22 mmol) y Et₃N (44 mg, 0,45 mmol) en THF (5 ml) se añadió cloruro de piperazina-1-carbonilo (60 mg, 0,24 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de la compleción, la mezcla se concentró para proporcionar compuesto 9 bruto en forma de aceite (110 mg, bruto).

Etapas 9: A una solución de compuesto 9 (100 mg) en DCM (5 ml) se añadió TFA (1 ml) a temperatura ambiente durante 40 min. Después de la compleción, la mezcla se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 010 (35 mg, 30%, 2 etapas) en forma de un sólido amarillo. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,70 (s, 1H), 8,86 (s, 2H), 8,79 (s, 2H), 7,63 (s, 1H), 7,49 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 7,36 (dd, J = 8,3, 1,9 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 7,10-7,04 (m, 1H), 6,90 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 3,37 (s, 1H), 3,29 (s, 4H), 3,09 (s, 6H), 2,32 (d, J = 13,6 Hz, 2H), 1,56 (t, J = 10,2 Hz, 2H), 1,43 (s, 3H). LCMS: m/z = 521 (M+H)⁺.

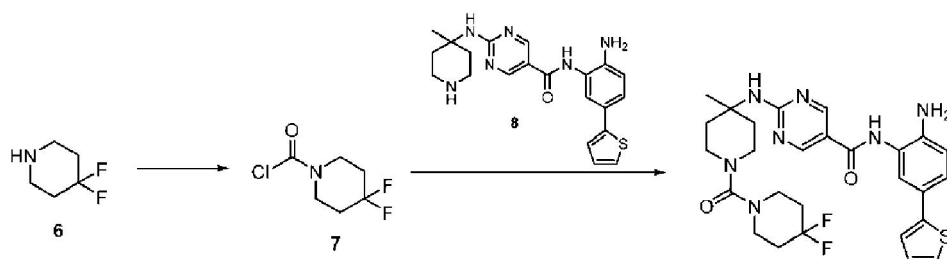
*** Ejemplo 11: Síntesis de Compuesto 011**



Etapas 1-7: Consultar las etapas 1-7 del Ejemplo 7 para obtener compuesto 8.

Etapa 8: A una solución de compuesto 8 (100 mg, 0,22 mmol) y Et₃N (45 mg, 0,45 mmol) en THF (5 ml) se añadió cloruro de 4-metilpiperazina-1-carbonilo (40 mg, 0,24 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se filtró a través de gel de sílice y se lavó con EA. La concentración y purificación por HPLC preparativa produjo Compuesto 011 (42 mg, 36%). ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,88 (s, 1H), 9,72 (s, 1H), 8,86 (s, 2H), 7,64 (s, 1H), 7,49 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,41 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 7,37 (dd, J = 8,3, 2,0 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 7,08 (dd, J = 4,9, 3,7 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,63 (d, J = 11,2 Hz, 2H), 3,38 (d, J = 8,2 Hz, 3H), 3,15-2,97 (m, 6H), 2,81 (s, 3H), 2,33 (d, J = 13,5 Hz, 2H), 1,57 (t, J = 10,1 Hz, 2H), 1,43 (s, 3H). LCMS: m/z = 535 (M+H)⁺.

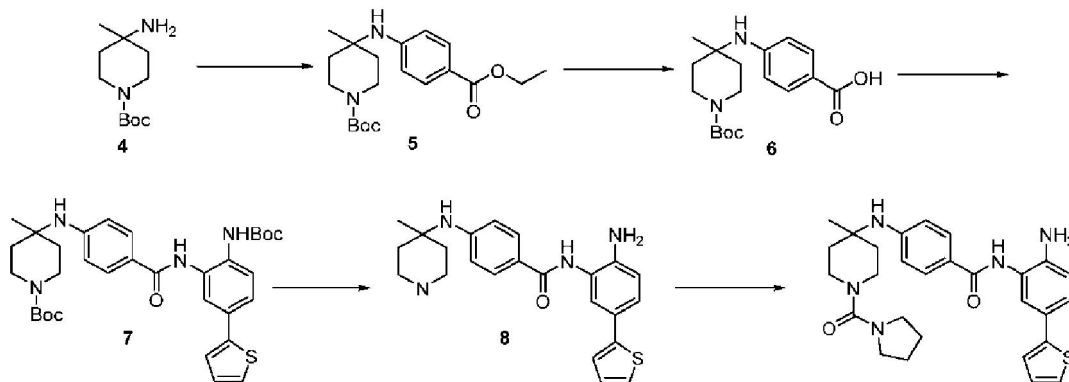
* Ejemplo 12: Síntesis de Compuesto 012



Etapa 1: A una solución de compuesto 6 (95 mg, 0,79 mmol) y Et₃N (159 mg, 1,6 mmol) en THF (5 ml) se añadió carbonato de bis(triclorometilo) (119 mg, 0,4 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se utilizó directamente en la siguiente etapa (etapa 2).

Etapa 2: Consultar las etapas 1-7 del Ejemplo 7 para obtener compuesto 8. Una solución de compuesto 8 (162 mg, 0,4 mmol) y Et₃N (80 mg, 0,8 mmol) en THF (5 ml) se añadió a una solución de la mezcla de reacción de la etapa 1 que contenía compuesto 7. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Luego, la mezcla se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para producir Compuesto 012 (35 mg, 16%). ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,73 (s, 1H), 8,86 (s, 2H), 7,62 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,42 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 7,38 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,31 (d, J = 3,1 Hz, 1H), 7,08 (dd, J = 5,0, 3,7 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 3,34 (s, 1H), 3,31 (s, 1H), 3,23 (d, J = 5,6 Hz, 4H), 3,08 (t, J = 10,8 Hz, 2H), 2,31 (d, J = 13,7 Hz, 2H), 1,94 (d, J = 13,9 Hz, 4H), 1,57 (t, J = 10,0 Hz, 2H), 1,43 (s, 3H). LCMS: m/z = 556 (M+H)⁺.

Ejemplo 13: Síntesis de Compuesto 013



Etapa 1: Una mezcla de 4-yodobenzoato de metilo (2,6 g, 10 mmol), compuesto 4 (6,4 g, 30 mmol), Pd₂(dba)₃ (915 mg, 1 mmol), Ruphos (467 mg, 1 mmol) y Cs₂CO₃ (9,75 g, 30 mmol, 3 eq) en tol (30 ml) se agitó a 95°C bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche. La mezcla se enfrió y se añadió EA (100 ml). La mezcla se filtró y se concentró para obtener un residuo, que se purificó mediante una columna de gel de sílice para proporcionar el compuesto 5 (2,2 g, 60%) en forma de un sólido de color amarillo claro.

Etapa 2: A una solución del compuesto 5 (500 mg, 1,4 mmol) en EtOH (15 ml) y THF (15 ml) se añadió NaOH acuoso (2 M, 15 ml) y la mezcla se agitó a 60°C durante 2 h. La mezcla se concentró para producir un residuo y se añadió agua (100 ml) y luego se añadió ácido cítrico acuoso para ajustar a pH <7 a 0°C, luego la filtración proporcionó compuesto 6 (369 mg, 80%) en forma de un sólido blanco.

Etapa 3: Una mezcla de compuesto 6 (150 mg, 0,45 mmol), compuesto Boc-amina (130 mg, 0,45 mmol), HOAT (103 mg, 0,76 mmol), EDCI (145 mg, 0,76 mmol) y NEt₃ (154 mg, 1,52 mmol) en DMF (5 ml) se agitó a 60°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (100 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml) y la mezcla se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml*2), se secó y se concentró para obtener un residuo, que se purificó mediante prep-TLC para proporcionar compuesto 7 (123 mg, 45%) en forma de un sólido amarillo.

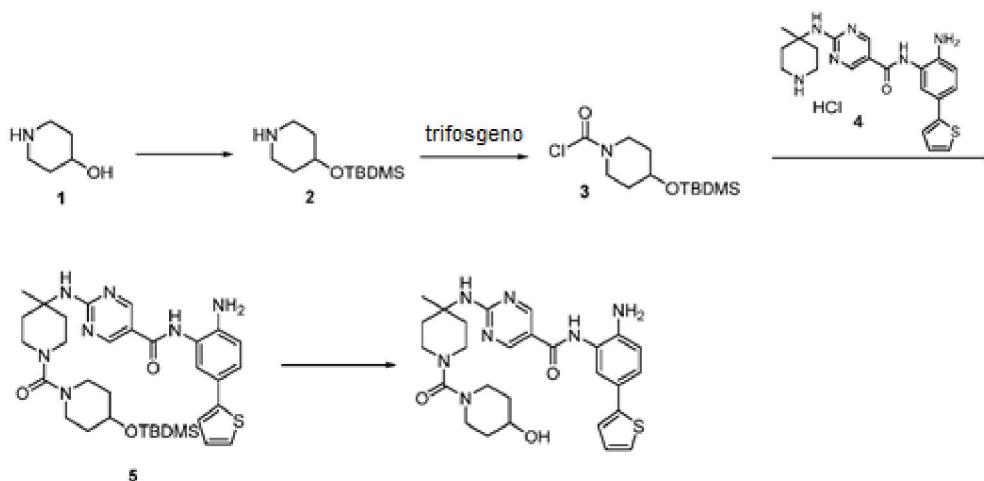
Etapa 4: A una solución de compuesto 7 (120 mg, 0,20 mmol) en DCM (5 ml) se le añadió TFA (3 ml) a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se concentró para proporcionar compuesto 8 (80 mg, 100%), que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 5: A una solución del compuesto 8 (80 mg, 0,20 mmol) y Et₃N (106 mg, 1,05 mmol) en THF (5 ml) se añadió compuesto cloruro de pirrolidina-1-carbonilo (74 mg, 0,30 mmol) a 0°C y se agitó durante 2 h. A la mezcla se añadió EA (50 ml) y NaCl acuoso saturado (50 ml) y la mezcla se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml*2), se secó y se concentró para proporcionar un residuo que se purificó mediante Prep-TLC para obtener Compuesto 013 (99 mg, 80%) en forma de un sólido amarillo. ¹H RMN (500 MHz,

DMSO) 5 9,35 (s, 1H), 7,75 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,45 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 7,27 (dd, J = 8,3, 2,1 Hz, 1H), 7,24 (d, J = 3,5 Hz, 1H), 7,05 (dd, J = 5,0, 3,6 Hz, 1H), 6,79 (dd, J = 8,5, 3,5 Hz, 3H), 5,89 (s, 1H), 5,07 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,31 (d, J = 7,8 Hz, 1H). 3,25 (t, J = 6,4 Hz, 5H), 3,10 (t, J = 10,5 Hz, 2H), 1,97 (d, J = 13,9 Hz, 2H), 1,74 (s, 4H), 1,59 (t, J = 9,9 Hz, 2H), 1,37 (s, 3H). LCMS: m/z = 504 (M+H)⁺.

5

*** Ejemplo 14: Síntesis de Compuesto 014**



10 **Etapas 1:** Se formó una solución de la 4-hidroxipiperidina (compuesto 1, 0,8 g, 7,9 mmol), piridina (1,3 g, 16 mmol) y cloruro de terc-butildimetilsililo (1,4 g, 9,5 mmol) en CH₂Cl₂ (25 ml) a 0°C. La mezcla se agitó durante 3 h. Después de la compleción, la mezcla se concentró y se purificó mediante una columna de gel de sílice con EA:PE = 1:5 para proporcionar compuesto 2 (1,5 g, 88%) en forma de un sólido amarillo claro.

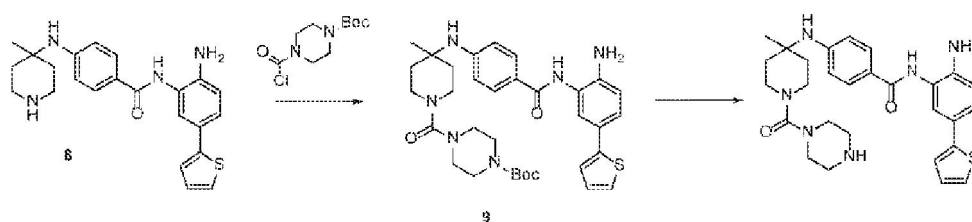
15 **Etapas 2:** A una solución de compuesto 2 (95 mg, 0,44 mmol) y Et₃N (89 mg, 0,9 mmol) en THF (5 ml) se añadió trifosgeno (74 mg, 0,25 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se utilizó directamente en la siguiente etapa.

20 **Etapas 3:** A una solución del compuesto 4 (162 mg, 0,4 mmol) y Et₃N (80 mg, 0,8 mmol) en THF (5 ml) se añadió la solución anterior de la etapa 2 que contenía compuesto 3. La mezcla se agitó a temperatura ambiente. temperatura durante 2 horas y se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional alguna.

25 **Etapas 4:** A la solución del compuesto 5 (mezcla bruta) en THF (5 ml) se le añadió TBAF (5 gotas) a 0°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, luego se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 014 (29 mg, 15%, 3 etapas). ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,67 (s, 1H), 8,86 (s, 2H), 7,56 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,39 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 7,37-7,31 (m, 1H), 7,28 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,10-7,03 (m, 1H), 6,88 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 3,59 (s, 3H), 3,42 (s, 1H), 3,25 (d, J = 13,6 Hz, 2H), 3,03 (t, J = 11,0 Hz, 2H), 2,83 (t, J = 10,6 Hz, 2H), 2,29 (d, J = 13,5 Hz, 2H), 1,70 (d, J = 9,9 Hz, 2H), 1,57 (t, J = 10,3 Hz, 2H), 1,44 (d, J = 10,4 Hz, 3H), 1,34-1,27 (m, 2H). LCMS: m/z = 536 (M+H)⁺.

30

Ejemplo 15: Síntesis de Compuesto 015

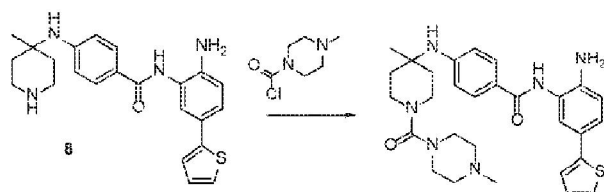


35 **Etapas 1-4:** Consultar las etapas 1-4 del Ejemplo 13 para obtener compuesto 8.

40 **Etapas 5:** A una solución del compuesto 8 (80 mg, 0,20 mmol) y Et₃N (106 mg, 1,05 mmol) en THF (5 ml) se añadió 4-(clorocarbonyl)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (74 mg, 0,30 mmol) a 0°C y la mezcla se agitó durante 2 h. A la mezcla se añadió EA (20 ml) y NaCl acuoso saturado (20 ml) y la mezcla se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml*2), se secó y se concentró para producir un residuo, que se purificó mediante TLC preparativa para proporcionar compuesto 9 (99 mg, 80%) en forma de un sólido amarillo.

Etapla 6: A una solución de compuesto 9 (90 mg, 0,15 mmol) en DCM (5 ml) se añadió lentamente TFA (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Luego, la mezcla se concentró para obtener un residuo, que se purificó mediante HPLC preparativa para producir Compuesto 015 (45 mg, 60%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,58 (s, 1H), 8,78 (s, 2H), 7,78 (t, J = 9,6 Hz, 2H), 7,52 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,42 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 7,36 (dd, J = 8,3, 2,1 Hz, 1H), 7,31 (d, J = 3,5 Hz, 1H), 7,08 (dd, J = 5,0, 3,6 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,97 (s, 6H), 3,18 (t, J = 10,6 Hz, 2H), 3,10 (s, 4H), 2,02-1,93 (m, 2H), 1,60 (t, J = 9,7 Hz, 2H), 1,37 (s, 3H). LCMS: m/z = 519 (M+H)⁺.

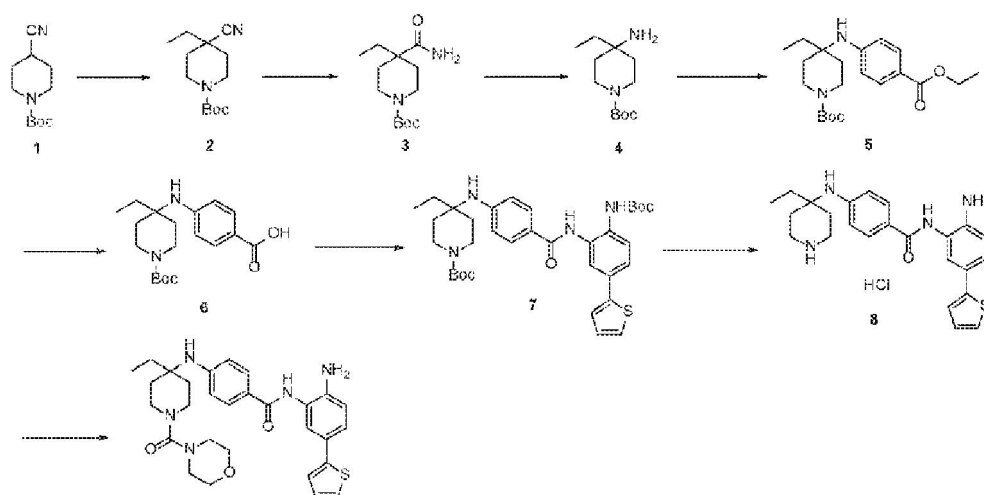
Ejemplo 16: Síntesis de Compuesto 016



Etapas 1-4: Consultar las etapas 1-4 del Ejemplo 13 para obtener compuesto 8.

Etapla 5: A una solución del compuesto 8 (80 mg, 0,20 mmol) y Et₃N (106 mg, 1,05 mmol) en THF (5 ml) se añadió cloruro de 4-metilpiperazina-1-carbonilo (49 mg, 0,30 mmol) a 0°C y la mezcla se agitó durante 2 h. La mezcla se purificó mediante TLC preparativa para proporcionar Compuesto 016 (49 mg, 46%) en forma de un sólido amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,79 (s, 1H), 9,58 (s, 1H), 7,79 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,51 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,42 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 7,36 (dd, J = 8,3, 2,1 Hz, 1H), 7,31 (d, J = 3,5 Hz, 1H), 7,08 (dd, J = 5,0, 3,6 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 3,64 (d, J = 11,6 Hz, 2H), 3,43-3,28 (m, 4H), 3,18 (t, J = 10,3 Hz, 2H), 3,10-2,96 (m, 4H), 2,81 (s, 3H), 1,99 (d, J = 13,4 Hz, 2H), 1,60 (t, J = 9,7 Hz, 2H), 1,37 (s, 3H). LCMS: m/z = 533 (M+H)⁺.

Ejemplo 17: Síntesis de Compuesto 017



Etapla 1: A una solución de bis(trimetilsilil)amida de litio (1,0 M en THF, 240 ml, 240 mmol) en un matraz de fondo redondo se añadió compuesto 1 (25 g, 120 mmol) lentamente a -76°C bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de agitar la mezcla durante 4 horas a -76 °C se añadió gota a gota yodometano (17ml, 240 mmol) al sistema. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos adicionales y luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El residuo se enfrió bruscamente con 150 ml de NH₄Cl acuoso saturado, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir compuesto 2 diana (20 g, 70%) en forma de un sólido amarillo claro.

Etapla 2: A una solución del compuesto 2 (20 g, 84 mmol) se añadió K₂CO₃ (23 g, 168 mmol) en DMSO (120 ml). Se añadió H₂O₂ (100 ml) al sistema a 60°C muy lentamente y la reacción se agitó durante la noche a 60°C. Se añadió agua fría y la mezcla se extrajo con EA (3*100 ml). Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para obtener el compuesto 3 diana (21 g, 99%) en forma de un sólido blanco.

Etapla 3: A una solución del compuesto 3 (20,5 g, 80 mmol) en CH₃CN (200 ml) y KOH 5 N (100 ml) se añadió 1,3-dibromo-5,5-dimetilimidazolidin-2,4-diona (11,1 g, 40 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después de la compleción, la mezcla se concentró para separar CH₃CN. El ajuste del pH de la fase acuosa

a 5 se realizó con HCl 2 N en un baño de hielo, la mezcla se extrajo con EA y se separó. A continuación, se ajustó el pH de la fase acuosa a 10. El precipitado se recogió para proporcionar compuesto 4 (10 g, 55%) en forma de un sólido blanco.

5 **Etapas 4:** Una solución del compuesto 4 (1,0 g, 4,4 mmol), 4-bromobenzoato de etilo (943 mg, 4,4 mmol), Pd2(dba)3 (202 mg, 0,22 mmol), Ruphos (103 mg, 0,22 mmol) y Cs2CO3 (2,9 g, 8,8 mmol) en tolueno (25 ml) se agitó a 100°C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró y se purificó mediante una columna de gel de sílice con EA/PE = 1/5 para proporcionar compuesto 5 (1,0 g, 59%) en forma de un sólido amarillo claro.

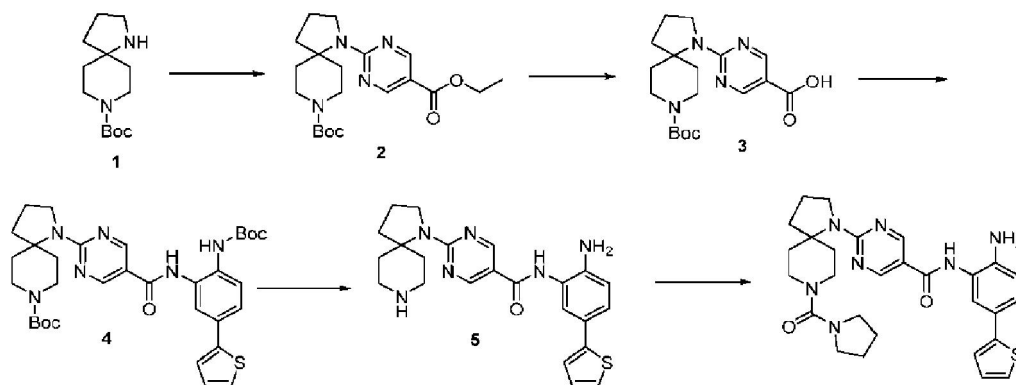
10 **Etapas 5:** Una solución del compuesto 5 (233 mg, 0,65 mmol) y NaOH 2 N (10 ml, 20 mmol) en THF (10 ml) y EtOH (10 ml) se agitó a 55 °C durante 2 horas. La concentración y el ajuste del pH de la fase acuosa a 5-6 fueron seguidos por extracción con EA (3*15 ml). Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para proporcionar compuesto 6 (200 mg, 93%) en forma de un sólido blanco.

15 **Etapas 6:** Una mezcla del compuesto 6 (200 mg, 0,6 mmol), 2-amino-4-(tiofen-2-il)fenil]carbamato de terc-butilo (173 mg, 0,6 mmol), EDCI (154 mg, 1,2 mmol) y DMAP (145 mg, 1,2 mmol) en DMF (10 ml) se agitó a 55°C durante la noche. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. Luego, la purificación mediante columna de gel de sílice con EA:PE = 1:2 produjo compuesto 7 (200 mg, 55%) en forma de un sólido púrpura.

20 **Etapas 7:** A una solución de compuesto 7 (200 mg, 0,32 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) se añadió HCl/1,4-dioxano (5 ml, 20 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La concentración y el lavado con PE proporcionaron compuesto 8 (175 mg, 100%) en forma de un sólido gris.

25 **Etapas 8:** A la solución del compuesto 8 (95 mg, 0,21 mmol) y Et3N (106 mg, 1,05 mmol) en THF (5 ml) se añadió cloruro de morfolina-4-carbonio (50 mg, 0,3 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se filtró a través de gel de sílice y se lavó con EA. La concentración y purificación por HPLC preparativa proporcionó Compuesto 017 (10 mg, 9%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,56 (s, 1H), 7,76 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,52 (s, 1H), 7,42 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,31 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 7,11-7,04 (m, 1H), 6,95 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 5,86 (s, 1H), 3,55 (s, 8H), 3,11 (s, 4H), 2,02 (d, J = 13,3 Hz, 2H), 1,76 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 1,50 (t, J = 10,9 Hz, 2H), 0,75 (t, J = 7,3 Hz, 3H). LCMS: m/z = 534 (M+H)⁺.

* Ejemplo 18: Síntesis de Compuesto 018



35 **Etapas 1:** A una solución de compuesto 1 (1,2 g, 5 mmol) en dioxano (20 ml) se añadió DIPEA (1,3 g, 10 mmol) y 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (5,5 mmol, 1,0 g). La mezcla se agitó a 100°C durante la noche. Después de la compleción, la concentración y purificación directa mediante TLC preparativa con PE:EA = 2:1 proporcionó compuesto 2 (1,37 g, 70%) en forma de un sólido blanco.

40 **Etapas 2:** A una solución del compuesto 2 (220 mg, 0,56 mmol) en EtOH (5 ml) y THF (5 ml) se añadió NaOH acuoso (2 M, 2 ml). La reacción se agitó a 60°C durante 2 h. La mezcla se concentró para obtener un residuo. Al residuo se añadió agua (10 ml) y se añadió ácido cítrico acuoso para ajustar a pH < 7 a 0°C, y la mezcla se filtró para proporcionar compuesto 3 (200 mg, bruto) en forma de un sólido blanco.

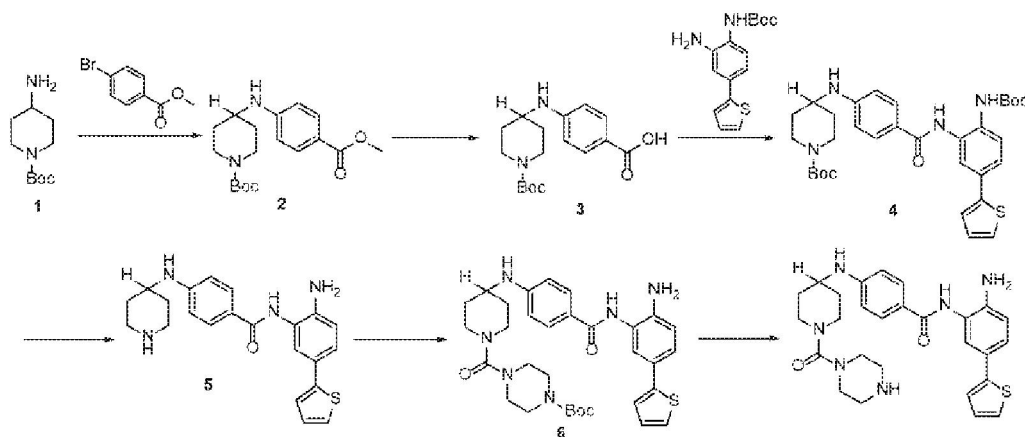
45 **Etapas 3:** Una mezcla del compuesto 3 (200 mg, bruto), 2-amino-4-(tiofen-2-il)fenil]carbamato de terc-butilo (160 mg, 0,55 mmol), EDCI (154 mg, 1,2 mmol) y DMAP (145 mg, 1,2 mmol) en DMF (10 ml) se agitó a 67°C durante la noche. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con EA para proporcionar compuesto 4 (200 mg, 55%) en forma de un aceite amarillo.

50

Etapla 4: A la solución de compuesto 4 (200 mg, 0,32 mmol) en DCM (10 ml) se añadió TFA (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La concentración y el lavado con PE proporcionaron compuesto 5 (250 mg, bruto) en forma de un aceite pardo.

Etapla 5: A una solución de compuesto 5 (250 mg, bruto) y Et₃N (106 mg, 1,05 mmol) en THF (5 ml) se añadió cloruro de pirrolidina-1-carbonilo (70 mg, 0,5 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se filtró a través de gel de sílice y se lavó con EA. La concentración y purificación por HPLC preparativa proporcionó Compuesto 018 (61 mg, 60%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,72 (s, 1H), 8,91 (s, 2H), 7,53 (s, 1H), 7,42 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,32 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 7,12-7,04 (m, 1H), 6,95 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,85-6,13 (m, 1H), 3,70 (dd, J = 13,5, 7,5 Hz, 4H), 3,29 (s, 4H), 3,07 (t, J = 10,5 Hz, 2H), 2,81 (t, J = 12,8 Hz, 2H), 2,11 (dd, J = 14,5, 7,9 Hz, 2H), 1,93-1,84 (m, 2H), 1,76 (s, 4H), 1,32 (d, J = 12,1 Hz, 2H). LCMS: m/z = 532 (M+H)⁺.

Ejemplo 19: Síntesis de Compuesto 019



Etapla 1: Una mezcla de 4-bromobenzoato de metilo (2,1 g, 10 mmol, 1 eq), compuesto 1 (6,0 g, 30 mmol, 3 eq), Pd₂(dba)₃ (915 mg, 1 mmol, 0,1 eq), Xantphos (478 mg, 1 mmol, 0,1 eq) y Cs₂CO₃ (9,75 g, 30 mmol, 3 eq) en tolueno (30 ml) se agitó a 95°C bajo atmósfera de nitrógeno durante la noche. La mezcla se enfrió y la adición de EA (100 ml), la filtración y la concentración produjeron un residuo, que se purificó mediante una columna de gel de sílice para proporcionar compuesto 2 (1,97 g, 59%) en forma de un sólido amarillo claro.

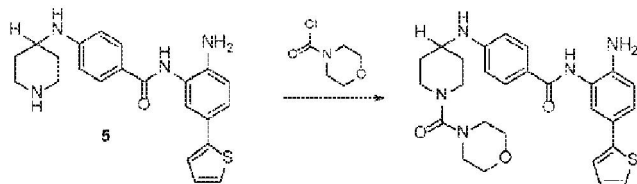
Etapla 2: A una solución del compuesto 2 (3,34 g, 10 mmol) en EtOH (15 ml) y THF (15 ml) se le añadió NaOH acuoso (2 M, 15 ml) y se agitó a 60°C durante 5 h. La mezcla se concentró para obtener un residuo. La mezcla se diluyó con agua (100 ml) y la adición de ácido cítrico acuoso a pH < 7 a 0°C y la filtración proporcionaron compuesto 3 (3,07 g, 96%) en forma de un sólido blanco.

Etapla 3: Una mezcla de compuesto 3 (3,2 g, 10 mmol, 1 eq), Boc-amina (2,6 g, 9 mmol, 0,9 eq), EDCI (5,7 g, 30 mmol, 3 eq) en Py (15 ml) se agitó a 25°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (100 ml) y ácido cítrico acuoso (50 ml) y la mezcla se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se secó y se concentró para producir un residuo, que se purificó mediante una columna de gel de sílice para producir el compuesto 4 (3,7 g, 70%) en forma de un sólido amarillo claro.

Etapla 4: A una solución de compuesto 4 (2,96 g, 5 mmol) en DCM (20 ml) se añadió TFA (20 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se concentró para producir un residuo. A la mezcla se añadió agua (100 ml) y NaOH (solución 2 M) para ajustar a pH > 7, y la mezcla se filtró para producir compuesto 5 (1,86 g, 95%) en forma de un sólido amarillo claro.

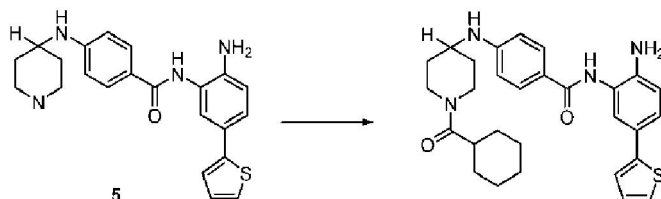
Etapla 5: A la solución de compuesto 5 (100 mg, 0,25 mmol) y Et₃N (50 mg, 0,5 mmol) en THF (5 ml) se añadió 4-(clorocarbonyl)piperazina-1-carboxilato de terc.-butilo (68 mg, 0,275 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de la compleción, la mezcla se concentró para proporcionar el compuesto 6 bruto (110 mg) para la siguiente etapa.

Etapla 6: A una solución de compuesto 6 (110 mg, bruto) en DCM (5 ml) se añadió lentamente TFA (2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Luego, la mezcla se concentró para obtener un residuo, que se purificó mediante HPLC preparativa para producir Compuesto 019 (40 mg, 32%, 2 etapas) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,37 (s, 1H), 8,71 (s, 2H), 7,79 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,45 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 7,30-7,20 (m, 3H), 7,05 (dd, J = 5,1, 3,6 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,66 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 3,63 (d, J = 13,5 Hz, 2H), 3,48-3,42 (m, 1H), 3,30 (s, 4H), 3,11 (s, 4H), 2,96 (t, J = 11,9 Hz, 2H), 1,92 (d, J = 9,8 Hz, 2H), 1,34 (d, J = 10,8 Hz, 2H), 1,05 (t, J = 7,0 Hz, 1H). LCMS: m/z = 505 (M+H)⁺.

Ejemplo 20: Síntesis de Compuesto 020

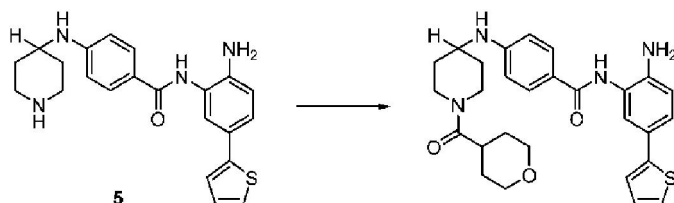
5 Etapas 1-4: Consultar las etapas 1-4 del Ejemplo 19 para obtener compuesto 5.

Etapas 5: A la solución de compuesto 5 (100 mg, 0,25 mmol) y Et₃N (50 mg, 0,5 mmol) en THF (5 ml) se añadió 4-(clorocarbonyl)piperazina-1-carboxilato de terc.-butilo (41 mg, 0,275 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Luego, la mezcla se concentró para obtener un residuo, que se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 020 (32 mg, 25%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,37 (s, 1H), 7,78 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,45 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 7,30 - 7,20 (m, 2H), 7,05 (dd, J = 5,0, 3,7 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,65 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,20 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,07 (s, 2H), 3,60-3,52 (m, 6H), 3,18 - 3,06 (m, 4H), 2,92 (t, J = 11,6 Hz, 2H), 2,08 (s, 1H), 1,91 (d, J = 10,2 Hz, 2H), 1,33 (dd, J = 20,7, 9,8 Hz, 2H). LCMS: m/z = 506 (M+H)⁺.

*** Ejemplo 21: Síntesis de Compuesto 021**

20 Etapas 1-4: Consultar las etapas 1-4 del Ejemplo 19 para obtener compuesto 5.

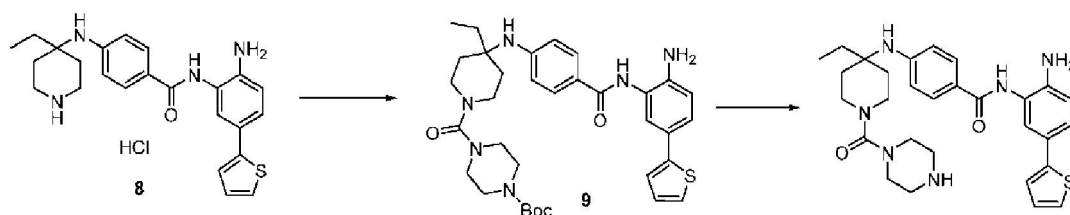
Etapas 5: A la solución del compuesto 5 (100 mg, 0,25 mmol) y Et₃N (50 mg, 0,5 mmol) en THF (5 ml) se añadió cloruro de ciclohexanocarbonilo (41 mg, 0,275 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Luego, la mezcla se concentró para obtener un residuo, que se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 021 (30 mg, 24%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,61 (s, 1H), 7,81 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,53 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,43 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,38 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,33 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,13-7,05 (m, 1H), 6,98 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,29 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 3,92 (d, J = 12,5 Hz, 1H), 3,66-3,57 (m, 1H), 3,27-3,13 (m, 1H), 2,85-2,73 (m, 1H), 2,67-2,56 (m, 1H), 2,03-1,88 (m, 2H), 1,75-1,58 (m, 5H), 1,37-1,12 (m, 7H). LCMS: m/z = 503 (M+H)⁺.

*** Ejemplo 22: Síntesis de Compuesto 022**

35 Etapas 1-4: Consultar las etapas 1-4 del Ejemplo 19 para obtener compuesto 5.

Etapas 5: A la solución de compuesto 5 (100 mg, 0,25 mmol) y Et₃N (50 mg, 0,5 mmol) en THF (5 ml) se añadió cloruro de tetrahidro-2H-piran-4-carbonilo (41 mg, 0,275 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Luego, la mezcla se concentró para obtener un residuo, que se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 022 (20 mg, 16%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,57 (s, 1H), 7,80 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,52 (s, 1H), 7,46-7,29 (m, 3H), 7,1-7,06 (m, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,68 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 4,29 (d, J = 14,4 Hz, 1H), 3,97 (d, J = 13,9 Hz, 1H), 3,85 (d, J = 9,7 Hz, 2H), 3,71-3,55 (m, 1H), 3,39 (t, J = 11,5 Hz, 2H), 3,22 (t, J = 11,6 Hz, 1H), 2,98-2,87 (m, 1H), 2,81 (t, J = 12,1 Hz, 1H), 2,08-1,86 (m, 2H), 1,68-1,43 (m, 4H), 1,39-1,13 (m, 2H). LCMS: m/z = 505 (M+H)⁺.

Ejemplo 23: Síntesis de Compuesto 023

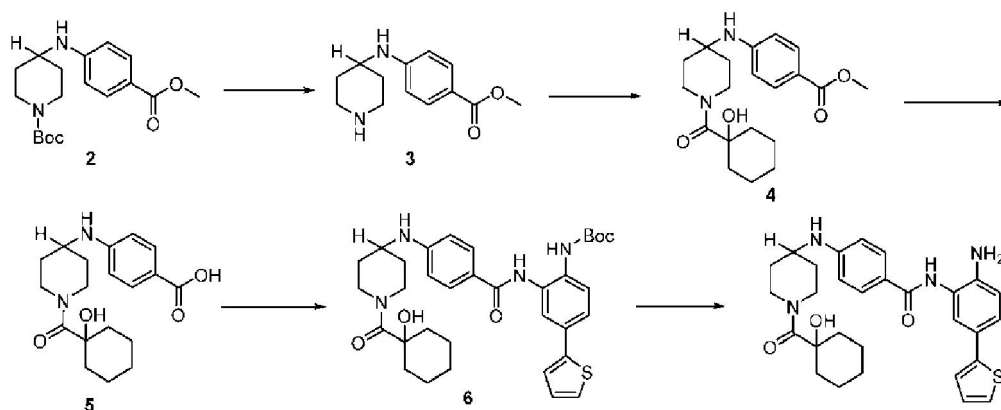


Etapas 1-7: Consultar las etapas 1-7 del Ejemplo 17 para obtener compuesto 8.

5 **Etapas 8:** A una mezcla de compuesto 8 (175 mg, 0,4 mmol) y Et₃N (106 mg, 1,05 mmol) en THF (5 ml) se añadió 4-(clorocarbonil)piperazina-1-carboxilato de terc.-butilo (125 mg, 0,5 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La filtración a través de gel de sílice y el lavado con EA produjeron compuesto 9 (175 mg, 67%) en forma de un aceite amarillo.

10 **Etapas 9:** A la solución del compuesto 9 (175 mg, 0,28 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) se añadió HCl/1,4-dioxano (5 ml, 20 mmol) a temperatura ambiente, seguido de agitación durante la noche. La concentración y lavado con PE para proporcionar Compuesto objetivo 023 (92 mg, 63%) en forma de un sólido amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 10,21 (s, 1H), 9,30 (s, 3H), 7,91 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,81 (s, 1H), 7,59 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 7,51 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,45 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,19-7,12 (m, 1H), 6,90 (s, 2H), 3,48-3,41 (m, 1H), 3,33 (s, 4H), 3,18-3,10 (m, 2H), 3,06 (s, 4H), 2,04 (d, J = 13,0 Hz, 2H), 1,77 (d, J = 7,0 Hz, 2H), 1,59-1,48 (m, 2H), 1,08-1,02 (m, 2H), 0,78 (t, J = 7,0 Hz, 3H). LCMS: m/z = 533 (M+H)⁺.

*** Ejemplo 24: Síntesis de Compuesto 024**



Etapas 1: Una solución del compuesto 2 (300 mg, 0,90 mmol) en TFA (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Luego, la concentración y el lavado con PE produjeron compuesto diana 3 (200 mg, 95%) en forma de un sólido gris.

Etapas 2: Se formó una solución del compuesto 3 (180 mg, 0,77 mmol), ácido 1-hidroxíciclohexano-carboxílico (111 mg, 0,77 mmol), HATU (351 mg, 0,92 mmol) y DIPEA (199 mg, 1,5 mmol) en DMF (10 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se disolvió en agua y se extrajo con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. Luego, la purificación mediante columna de gel de sílice con EA:PE = 1:2 produjo compuesto 4 (150 mg, 54%) en forma de un sólido púrpura.

Etapas 3: La solución de compuesto 4 (150 mg, 0,42 mmol) y NaOH 2 N (10 ml, 20 mmol) en THF (10 ml) y EtOH (10 ml) se agitó a 60 °C durante 6 horas. Luego, la mezcla se concentró y el pH de la fase acuosa se ajustó a 5-6 seguido de extracción con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir el compuesto 5 diana (130 mg, 90%) en forma de un sólido blanco.

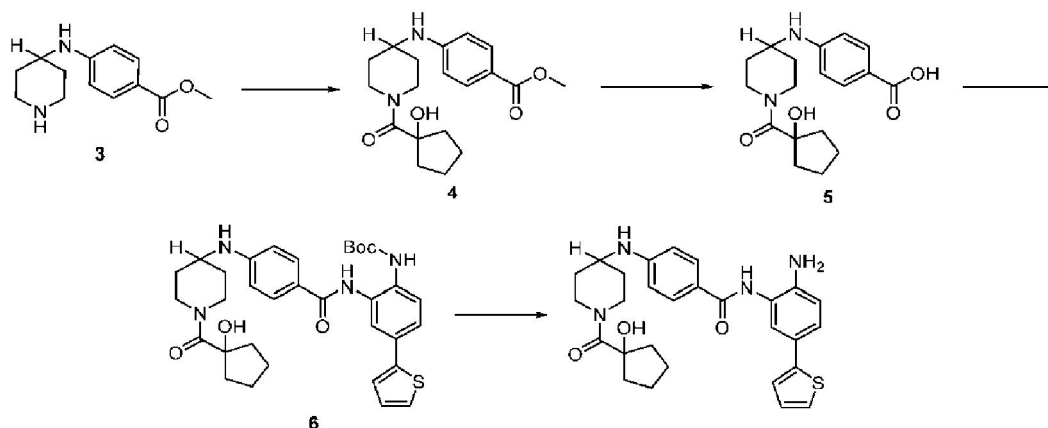
Etapas 4: Se formó una mezcla del compuesto 5 (70 mg, 0,2 mmol), 2-amino-4-(tiofen-2-il)fenilcarbamato de terc.-butilo (59,0 mg, 0,2 mmol), EDCI (39,0 mg, 0,3 mmol), HOAT (41 mg, 0,3 mmol) y DIPEA (52 mg, 0,4 mmol) en DMF (10 ml). La mezcla se agitó a 65 °C durante la noche. Luego, la mezcla se disolvió en agua y se extrajo con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. Luego, la purificación mediante columna de gel de sílice con EA:PE = 1:2 produjo compuesto 6 (20 mg, 16%) en forma de un sólido púrpura.

Etapas 5: A la solución del compuesto 6 (20 mg, 0,03 mmol) en DCM (10 ml) se añadió HCl/1,4-dioxano (2 ml, 8,0 mmol), seguido de agitación a temperatura ambiente durante la noche. La concentración y el lavado con PE

proporcionó el Compuesto diana 024 (12 mg, 71%) en forma de un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,41 (s, 1H), 7,80 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,46 (s, 1H), 7,36 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 7,30-7,22 (m, 2H), 7,09-7,03 (m, 1H), 6,80 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,66 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,26 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,24 (s, 1H), 5,09 (s, 2H), 2,04-1,87 (m, 3H), 1,76-1,39 (m, 10H), 1,35-1,14 (m, 6H). LCMS: m/z = 519 ($M+H$) $^+$.

5

*** Ejemplo 25: Síntesis de Compuesto 025**



10 **Etapa 1:** Consultar la etapa 1 del Ejemplo 24 para obtener compuesto 3.

Etapa 2: Se formó una mezcla del compuesto 3 (400 mg, 1,7 mmol), ácido 1-hidrox ciclohexano-carboxílico (222 mg, 1,7 mmol), HATU (969 mg, 2,6 mmol) y DIPEA (439 mg, 3,4 mmol) en DMF (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se disolvió en agua y se extrajo con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera, luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. Luego, la purificación mediante columna de gel de sílice con EA:PE = 1:2 produjo compuesto 4 (300 mg, 51%) en forma de un sólido púrpura.

15

Etapa 3: A una solución del compuesto 4 (300 mg, 0,87 mmol) en THF (10 ml) y EtOH (10 ml) se añadió NaOH 2 N (10 ml, 20 mmol) a 60 °C y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 6 horas. La concentración y el ajuste del pH de la fase acuosa a 5-6 fueron seguidos de extracción con EA (2*15 ml). Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir compuesto 5 diana (250 mg, 87%) en forma de un sólido blanco.

20

Etapa 4: Se formó una mezcla del compuesto 5 (250 mg, 0,75 mmol), 2-amino-4-(tiofen-2-il)fenilcarbamato de terc.-butilo (218 mg, 0,75 mmol), EDCI (143,0 mg, 1,1 mmol), HOAT (147 mg, 1,1 mmol) y DIPEA (194 mg, 1,5 mmol) en DMF (10 ml). La reacción se agitó a 65 °C durante la noche. Luego, la mezcla se disolvió en agua y se extrajo con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. Luego, la purificación mediante columna de gel de sílice con EA:PE = 1:2 produjo compuesto 6 (50 mg, 11%) en forma de un sólido púrpura.

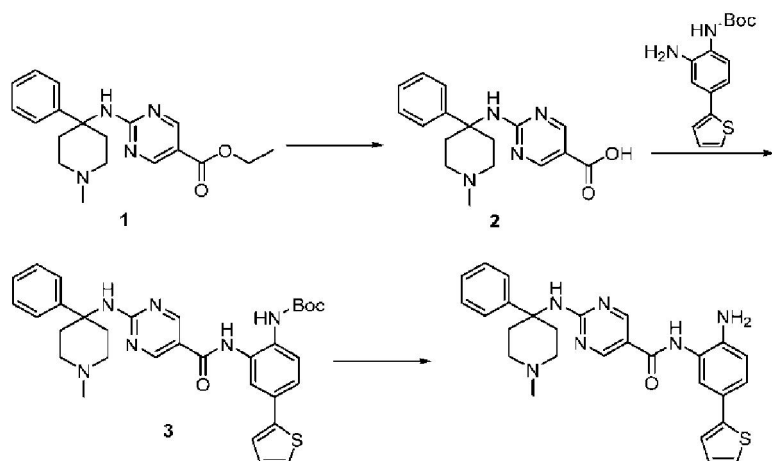
25

30

Etapa 5: A una solución del compuesto 6 (50 mg, 0,08 mmol) en DCM se añadió HCl/1,4-dioxano (2 ml, 8,0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La concentración y el lavado con PE proporcionaron el Compuesto diana 025 (13 mg, 32%) en forma de un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,61 (s, 1H), 7,81 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,53 (s, 1H), 7,46-7,30 (m, 3H), 7,11-7,07 (m, 1H), 6,98 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,57-4,44 (m, 1H), 4,36-4,19 (m, 1H), 3,24-3,17 (m, 1H), 2,90-2,79 (m, 1H), 2,39-2,25 (m, 1H), 2,08-1,91 (m, 4H), 1,74-1,63 (m, 4H), 1,57-1,52 (m, 2H), 1,38-1,22 (m, 2H). LCMS: m/z = 505 ($M+H$) $^+$.

35

*** Ejemplo 26: Síntesis de Compuesto 026**

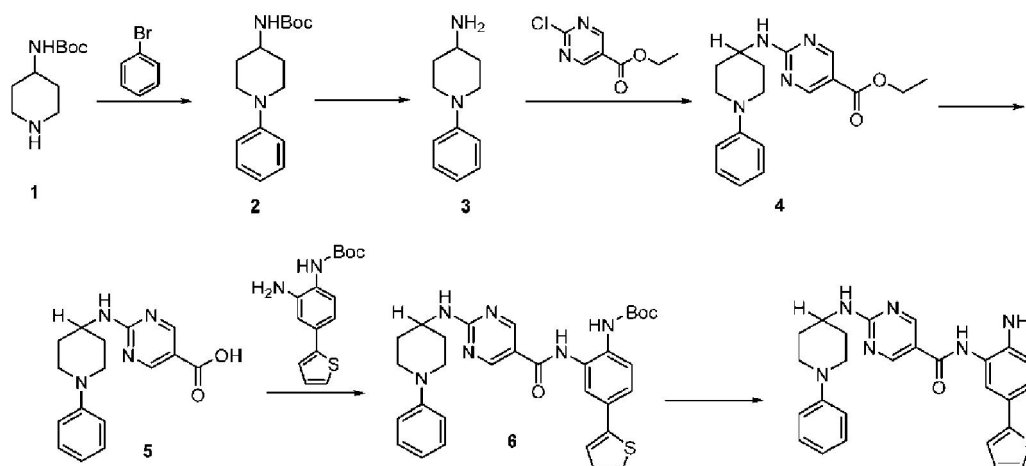


Etapla 1: A una mezcla de compuesto 1 (300 mg, 0,88 mmol) en THF (5 ml) y EtOH (5 ml) se añadió NaOH 2 M (a lo largo de 5 min) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 60°C durante 5 h. La mezcla se concentró para proporcionar un residuo, que se purificó mediante columna de resolución instantánea para producir compuesto 2 (180 mg, rendimiento: 65%) en forma de un sólido amarillo.

Etapla 2: Una mezcla de compuesto 2 (150 mg, 0,48 mmol), compuesto Boc-amina (139 mg, 0,48 mmol), HOAT (131 mg, 0,96 mmol) y EDCI (183 mg, 0,96 mmol) en DMF (4 ml) se agitó a 60°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (30 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml*2), se secó y se concentró para proporcionar un residuo, que se purificó mediante TLC preparativa para proporcionar compuesto 3 (100 mg, 35%) en forma de un sólido amarillo.

Etapla 3: A una solución de compuesto 3 (100 mg, 0,17 mmol) en DCM (3 ml) se añadió TFA (3 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se concentró para obtener un residuo, que se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 026 (20 mg, 24%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,53 (s, 1H), 8,76 (d, J = 86,5 Hz, 2H), 8,41 (d, J = 13,8 Hz, 1H), 7,43-7,38 (m, 3H), 7,37-7,31 (m, 3H), 7,29 (dd, J = 8,3, 2,2 Hz, 1H), 7,22 (dd, J = 7,7, 4,2 Hz, 2H), 7,04 (dd, J = 5,1, 3,6 Hz, 1H), 6,79 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,46 (d, J = 11,2 Hz, 2H), 3,34-3,20 (m, 2H), 2,96-2,90 (m, 2H), 2,86 (d, J = 4,5 Hz, 3H), 2,26-2,08 (m, 2H). LCMS: m/z = 485 (M+H)⁺.

* Ejemplo 27: Síntesis de Compuesto 027



Etapla 1: una mezcla de compuesto 1 (3,0 g, 15 mmol), bromobenceno (7,0 g, 45 mmol), Pd2(dba)3 (1,4 g, 1,5 mmol), Ruphos (700 mg, 1,5 mmol) y Cs2CO3 (14,6 g, 45 mmol) en tolueno (100 ml) se agitó a 95°C bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró seguido de lavado con PE (30 ml) para proporcionar compuesto 2 (3,5 g, rendimiento: 85%) en forma de un sólido amarillo claro.

Etapla 2: A una solución de compuesto 2 (3,5 g, 12,6 mmol) en 1,4-dioxano (50 ml) se añadió HCl en 1,4-dioxano (9,45 ml, 37,8 mmol) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó durante la noche. La mezcla se filtró para proporcionar compuesto 3 (2,0 g, 90%) en forma de un sólido blanco.

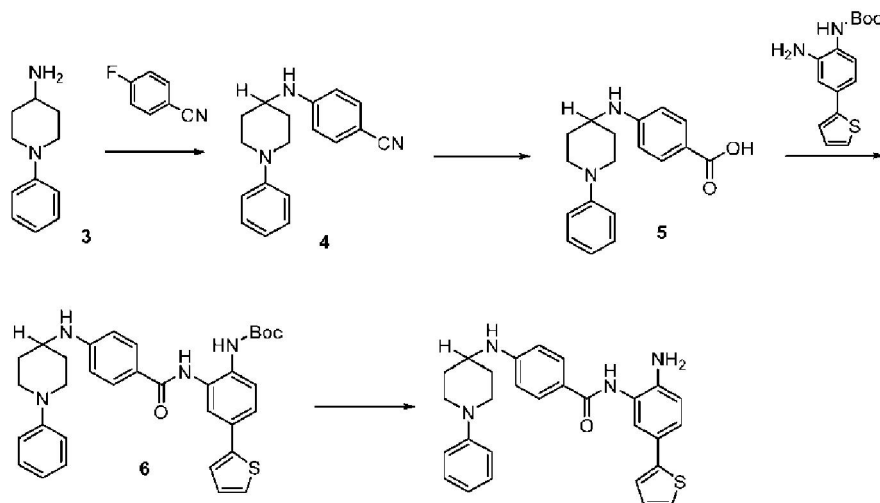
Etapas 3: Una mezcla de compuesto 3 (500 mg, 2,8 mmol), 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (352 mg, 1,9 mmol) y NEt₃ (576 mg, 5,7 mmol) en 1,4-dioxano (15 ml) se agitó a 60°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (100 ml) y ácido cítrico saturado acuoso (30 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml*2), se secó y se concentró y se lavó con PE (30 ml) para producir compuesto 4 (500 mg, 81%) en forma de un sólido amarillo.

Etapas 4: A una solución del compuesto 4 (500 mg, 1,5 mmol) en EtOH (15 ml) y THF (15 ml) se añadió NaOH acuoso (2 M, 15 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 60°C durante 5 h. A la mezcla se le añadió ácido cítrico saturado acuoso para ajustar a pH < 7, seguido de filtración para producir compuesto 5 (400 mg, 87%) en forma de un sólido blanco.

Etapas 5: Una mezcla de compuesto 5 (150 mg, 0,5 mmol), compuesto Boc-amina (145 mg, 0,5 mmol), HOAT (136 mg, 1 mmol), EDCI (191 mg, 1 mmol) y NEt₃ (202 mg, 2 mmol) en DMF (5 ml) se agitó a 60°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (100 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml*2), se secó y se concentró y se lavó con CH₃CN (10-20 ml) para proporcionar compuesto 6 (140 mg, 49%) en forma de un sólido amarillo.

Etapas 6: A una solución del compuesto 6 (140 mg, 0,25 mmol) en DCM (5 ml) se añadió TFA (3 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. La mezcla se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 027 (110 mg, 95%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,52 (s, 1H), 8,86 (s, 2H), 7,87 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,35 (d, J = 4,9 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,25-7,18 (m, 3H), 7,07-7,02 (m, 1H), 6,96 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 6,83-6,73 (m, 2H), 5,20 (s, 2H), 3,72 (d, J = 12,2 Hz, 2H), 2,82 (t, J = 11,7 Hz, 2H), 1,99 (s, 1H), 1,96 (d, J = 10,5 Hz, 2H), 1,69-1,58 (m, 2H). LCMS: m/z = 471 (M+H)⁺.

* Ejemplo 28: Síntesis de Compuesto 028



Etapas 1-2: Consultar las etapas 1-2 del Ejemplo 27 para obtener compuesto 3.

Etapas 3: Una mezcla de compuesto 3 (300 mg, 1,7 mmol), 4-fluorobenzonitrilo (181 mg, 1,5 mmol) y K₂CO₃ (414 mg, 3 mmol) en DMSO (10 ml) se agitó a 100°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (100 ml) y ácido cítrico saturado acuoso (30 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml*2), se secó y se concentró y se purificó mediante una columna de gel de sílice para producir compuesto 4 (300 mg, 72%) en forma de un sólido amarillo.

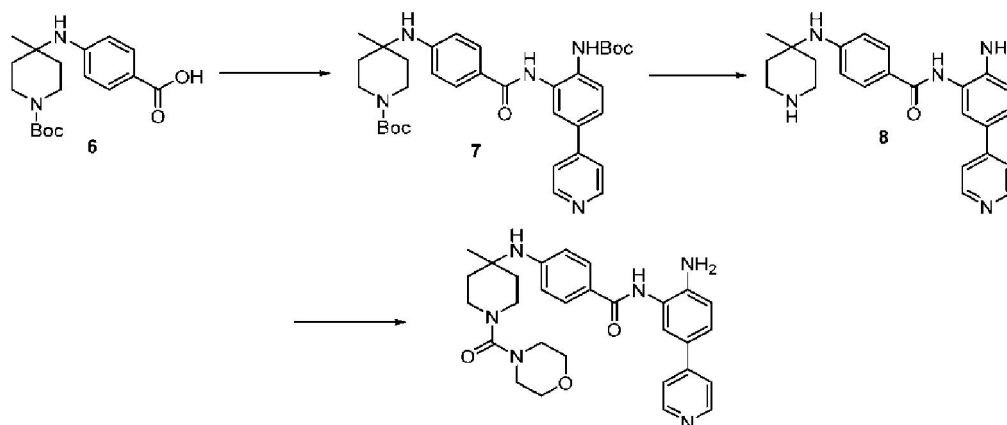
Etapas 4: Una solución de compuesto 4 (300 mg, 1,1 mmol) en HCl 6 M (20 ml) se agitó a 80°C durante 3 días. La mezcla se filtró para proporcionar compuesto 5 (250 mg, 78%) en forma de un sólido blanco.

Etapas 5: Una mezcla de compuesto 5 (150 mg, 0,5 mmol), compuesto Boc-amina (145 mg, 0,5 mmol), HOAT (136 mg, 1 mmol), EDCI (191 mg, 1 mmol) y NEt₃ (202 mg, 2 mmol) en DMF (5 ml) se agitó a 60°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (80 ml) y NaCl saturado acuoso (80 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (30 ml*2), se secó y se concentró y se purificó mediante TLC preparativa para proporcionar compuesto 6 (50 mg, 18%) en forma de un sólido amarillo.

Etapas 6: A una solución de compuesto 6 (50 mg, 0,09 mmol) en DCM (5 ml) se le añadió TFA (3 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. La mezcla se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 028 (5 mg, 12%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 9,36 (s, 1H), 7,79 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,46 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,35 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 7,27 (dd, J = 8,3, 2,0 Hz, 1H),

7,25-7,18 (m, 3H), 7,08-7,03 (m, 1H), 6,96 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 6,80 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,75 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 6,67 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,22 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,07 (s, 2H), 3,70 (d, J = 12,8 Hz, 2H), 3,53 (s, 1H), 2,89 (t, J = 11,0 Hz, 2H), 2,01 (d, J = 10,8 Hz, 2H), 1,51 (dd, J = 20,6, 10,5 Hz, 2H). LCMS: m/z = 469 (M+H)⁺.

5 * Ejemplo 29: Síntesis de Compuesto 029



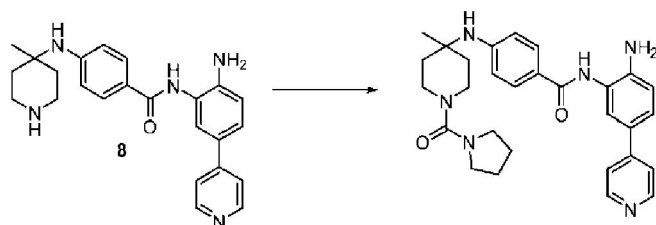
Etapas 1-2: Consultar las etapas 1-2 del Ejemplo 13 para obtener compuesto 6.

Etapas 3: Una mezcla de compuesto 6 (630 mg, 1,89 mmol), compuesto Boc-amina (484 mg, 1,7 mmol), HOAT (510 mg, 3,78 mmol), EDCI (721 mg, 3,78 mmol), DIPEA (487 mg, 3,78 mmol) y DMAP (461 mg, 3,78 mmol) en DMF (25 ml) se agitó a 67°C durante 3 días. A la mezcla se añadió EA (100 ml) y NaCl saturado acuoso (100 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml*2), se secó y se concentró y se purificó mediante una columna de gel de sílice para proporcionar compuesto 7 (473 mg, 46%) en forma de un sólido amarillo.

Etapas 4: A una solución de compuesto 7 (250 mg, 0,42 mmol) en DCM (10 ml) se añadió TFA (3 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. La mezcla se concentró para proporcionar compuesto 8 (300 mg, bruto) y se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapas 5: A una solución del compuesto 8 (150 mg, bruto) y Et₃N (50 mg, 0,5 mmol) en THF (5 ml) se añadió compuesto cloruro de morfolina-4-carbonilo (37 mg, 0,25 mmol) a 0°C y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. A la mezcla se le añadió EA (10 ml) y NaCl acuoso saturado (10 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (10 ml*2), se secó y se concentró y se purificó por HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 029 (44 mg, 35%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,36 (s, 1H), 8,51 (dd, J = 4,7, 1,5 Hz, 2H), 7,76 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,66 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,57 (dd, J = 4,7, 1,6 Hz, 2H), 7,47 (dd, J = 8,4, 2,2 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,79 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 5,87 (s, 1H), 5,29 (s, 2H), 3,60-3,51 (m, 4H), 3,32-3,24 (m, 2H), 3,17-3,08 (m, 6H), 1,98 (d, J = 13,8 Hz, 2H), 1,64-1,55 (m, 2H), 1,36 (s, 3H). LCMS: m/z = 515 (M+H)⁺.

* Ejemplo 30: Síntesis de Compuesto 030



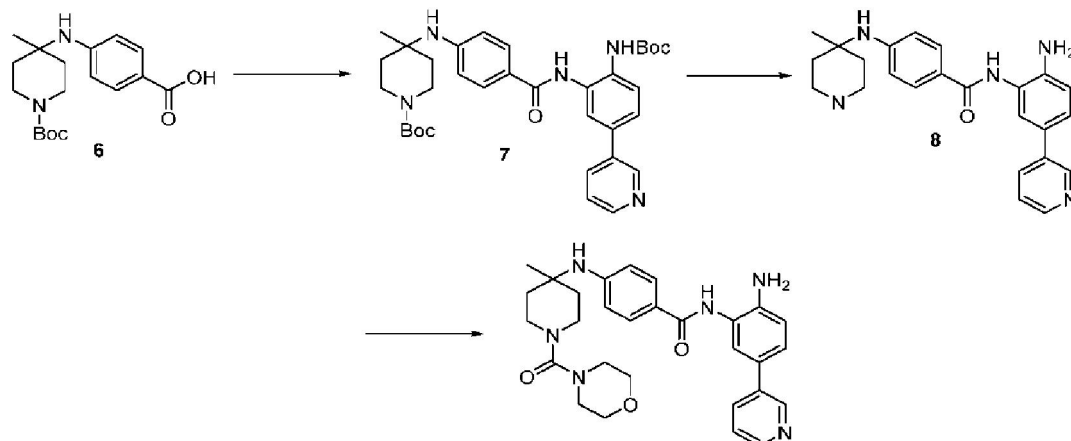
Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 29 para obtener compuesto 8.

Etapas 3: A una solución del compuesto 8 (150 mg, bruto) y Et₃N (50 mg, 0,5 mmol) en THF (5 ml) se añadió compuesto cloruro de pirrolidina-1-carbonilo (33 mg, 0,25 mmol) a 0°C y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. A la mezcla se añadió EA (10 ml) y NaCl acuoso saturado (10 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (10 ml*2), se secó y se concentró y se purificó por HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 030 (17 mg, 14%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,34 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 8,51 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 7,76 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,67 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,58 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 7,48 (dd, J = 8,3, 1,9 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,79 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 5,87 (s, 1H),

5,31 (s, 2H), 3,31-3,20 (m, 6H), 3,10 (t, J = 10,5 Hz, 2H), 1,98 (d, J = 13,5 Hz, 2H), 1,74 (s, 4H), 1,59 (t, J = 10,1 Hz, 2H), 1,37 (s, 3H). LCMS: m/z = 499 (M+H)⁺.

*** Ejemplo 31: Síntesis de Compuesto 031**

5



10

Etapas 1: Una mezcla de compuesto 6 (270 mg, 0,8 mmol), compuesto Boc-amina (205 mg, 0,72 mmol), HOAT (216 mg, 1,6 mmol), EDCI (305 mg, 1,6 mmol), DIPEA (206 mg, 1,6 mmol) y DMAP (195 mg, 1,6 mmol) en DMF (25 ml) se agitó a 67°C durante 3 días. A la mezcla se añadió EA (60ml) y NaCl saturado acuoso (60 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (20 ml*2), se secó y se concentró y se purificó mediante una columna de gel de sílice para proporcionar compuesto 7 (400 mg, 83%) en forma de un sólido amarillo.

15

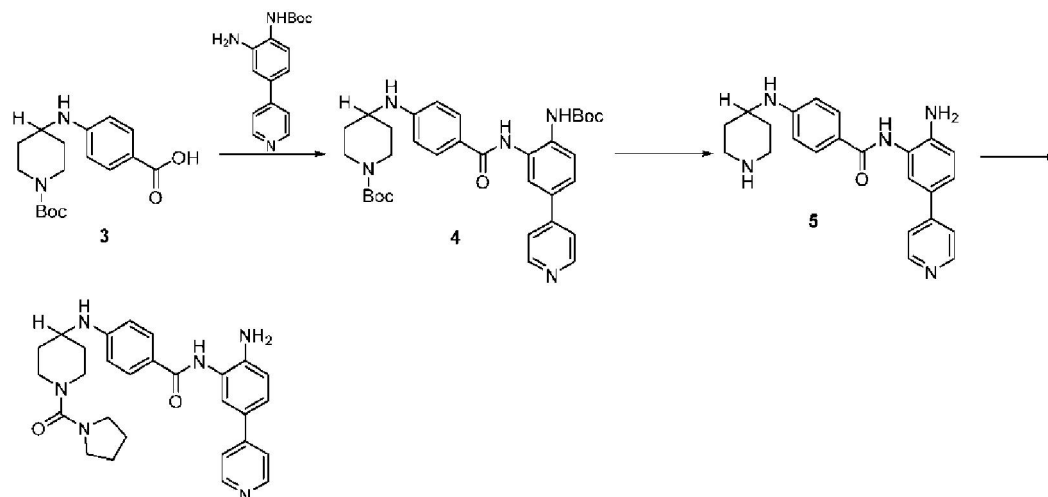
Etapas 2: A una solución de compuesto 7 (200 mg, 0,33 mmol) en DCM (10 ml) se añadió TFA (3 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se concentró para proporcionar compuesto 8 (250 mg, bruto) y se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

20

Etapas 3: A una solución del compuesto 8 (150 mg, bruto) y Et₃N (50 mg, 0,5 mmol) en THF (5 ml) se añadió compuesto cloruro de morfolina-4-carbonilo (37 mg, 0,25 mmol) a 0°C. y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. A la mezcla se le añadió EA (10 ml) y NaCl acuoso saturado (10 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (10 ml*2), se secó y se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 031 (55 mg, 60%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,57 (s, 1H), 9,09 (s, 1H), 8,76-8,58 (m, 2H), 8,01-7,69 (m, 4H), 7,56 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,05-6,87 (m, 3H), 3,56 (s, 4H), 3,17 (d, J = 39,8 Hz, 8H), 1,96 (s, 2H), 1,61 (s, 2H), 1,37 (s, 3H). LCMS: m/z = 515 (M+H)⁺.

25

*** Ejemplo 32: Síntesis de Compuesto 032**



30

Etapas 1-2: Consultar las etapas 1-2 del Ejemplo 19 para obtener compuesto 3.

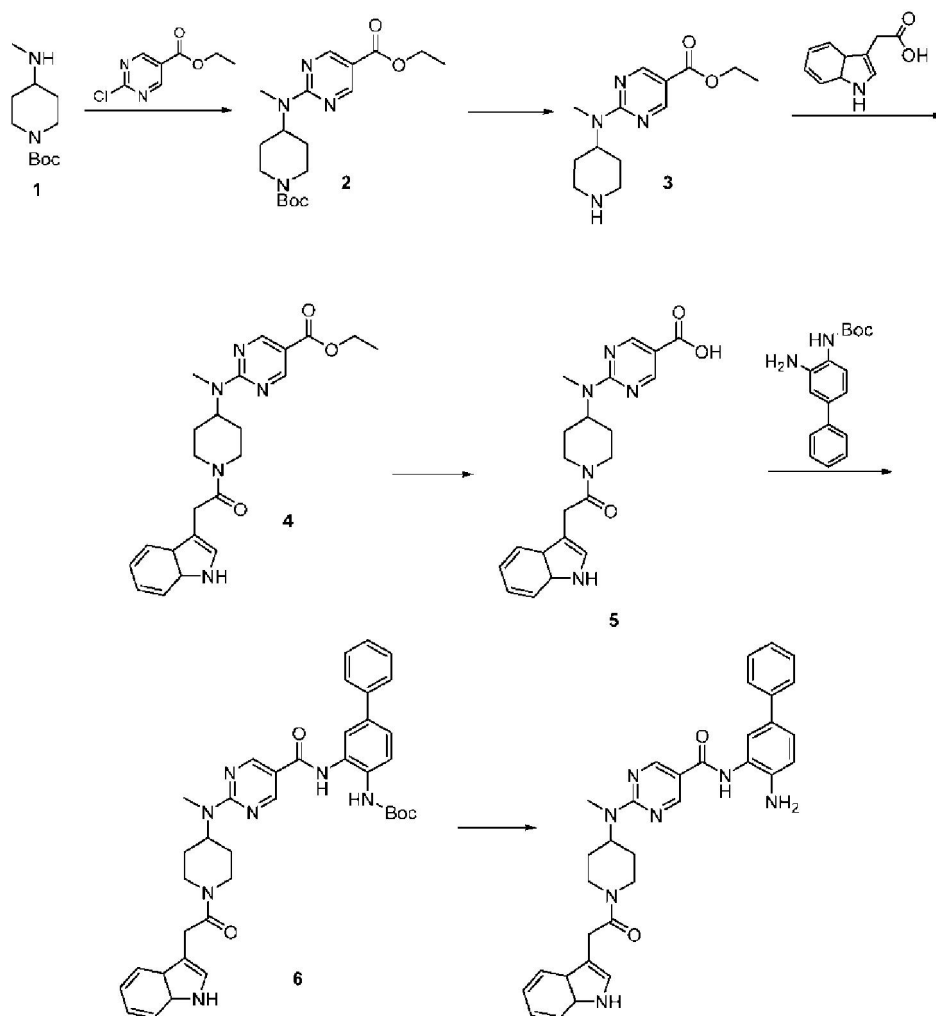
Etapas 3: Una mezcla de compuesto 3 (150 mg, 0,45 mmol), compuesto Boc-amina (130 mg, 0,45 mmol), HOAT (103 mg, 0,76 mmol), EDCI (145 mg, 0,76 mmol) y NEt₃ (154 mg, 1,52 mmol) en CH₃CN (5 ml) se agitó a 60°C durante la

noche. A la mezcla se añadió EA (10 ml) y NaCl saturado acuoso (10 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (10 ml*2), se secó y se concentró y se purificó mediante una columna de gel de sílice para proporcionar compuesto 4 (90 mg, 30%) en forma de un sólido amarillo.

5 **Etapla 4:** A una solución de compuesto 4 (90 mg, 0,15 mmol) en DCM (5 ml) se añadió TFA (3 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. La mezcla se concentró para proporcionar compuesto 5 (58 mg, bruto) y se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

10 **Etapla 5:** A una solución del compuesto 5 (58 mg, 0,15 mmol) y Et₃N (33 mg, 0,33 mmol) en THF (5 ml) se añadió compuesto cloruro de pirrolidina-1-carbonilo (20 mg, 0,15 mmol) a 0°C. y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. La mezcla se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 032 (12 mg, 17%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,37 (s, 1H), 8,58 (d, J = 5,1 Hz, 2H), 7,79 (d, J = 8,8 Hz, 4H), 7,76 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,59 (dd, J = 8,5, 2,2 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,66 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,22 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 3,63 (d, J = 13,2 Hz, 2H), 3,26 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,87 (t, J = 11,3 Hz, 2H), 1,91 (d, J = 10,0 Hz, 2H), 1,75 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 1,34 (dd, J = 20,2, 10,4 Hz, 2H). LCMS: m/z = 485 (M+H)⁺.

*** Ejemplo 33: Síntesis de Compuesto 033**



20 **Etapla 1:** Una mezcla de compuesto 1 (2,1 g, 9,6 mmol), 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (600 mg, 3,2 mmol) y NEt₃ (970 mg, 9,6 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml) se agitó a 95°C durante la noche. La mezcla se concentró seguido de la adición de EA (60 ml) y ácido cítrico acuoso (60 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se secó y se concentró para proporcionar compuesto 2 (880 mg, rendimiento: 75%) en forma de un sólido amarillo claro.

25 **Etapla 2:** A una solución de compuesto 2 (880 mg, 2,4 mmol) en DCM (10 ml) se le añadió TFA (5 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. La mezcla se concentró para proporcionar compuesto 3 (630 mg, 99%) en forma de un sólido amarillo.

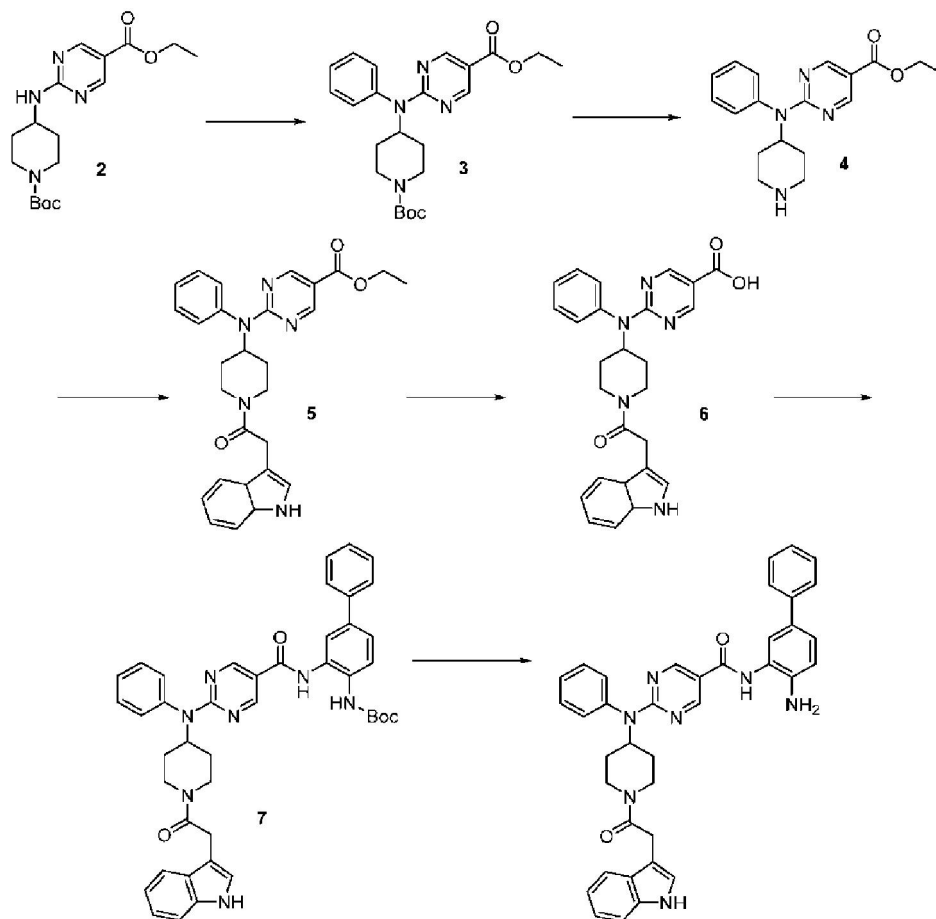
Etapa 3: Una mezcla de compuesto 3 (630 mg, 2,4 mmol), ácido 2-indolacético (531 mg, 3 mmol), HOAT (816 mg, 6 mmol), EDCI (1,1 g, 6 mmol) y NEt₃ (1,2 g, 12 mmol) en DMF (15 ml) se agitó a 60°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (100 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml*2), se secó y se concentró para obtener un residuo, que se purificó mediante TLC preparativa para producir compuesto 4 (600 mg, 60%) en forma de un sólido amarillo.

Etapa 4: A una solución del compuesto 4 (600 mg, 1,4 mmol) en EtOH (15 ml) y THF (15 ml) se añadió NaOH acuoso (2 M, 15 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 60°C durante 5 h. La mezcla se concentró para producir un residuo. A la mezcla se añadió agua (100 ml) y ácido cítrico acuoso para ajustar a pH < 7 a 0°C, seguido de filtración para producir compuesto 5 (400 mg, 72%) en forma de un sólido blanco.

Etapa 5: Una mezcla de compuesto 5 (150 mg, 0,38 mmol), compuesto Boc-amina (108 mg, 0,38 mmol), HOAT (103 mg, 0,76 mmol), EDCI (145 mg, 0,76 mmol) y NEt₃ (154 mg, 1,52 mmol) en DMF (5 ml) se agitó a 60°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (20 ml) y NaCl saturado acuoso (20 mL) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (20 ml*2), se secó y se concentró y se purificó mediante TLC preparativa para proporcionar compuesto 6 (150 mg, 59%) en forma de un sólido amarillo.

Etapa 6: A una solución de compuesto 6 (150 mg, 0,23 mmol) en DCM (5 ml) se le añadió TFA (3 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. La mezcla se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 033 (28 mg, 22%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 10,94 (s, 1H), 9,75 (s, 1H), 8,91 (s, 2H), 7,58 (dd, J = 15,8, 7,9 Hz, 5H), 7,41 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 7,36 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,31-7,24 (m, 3H), 7,08 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,01-6,97 (m, 2H), 4,84 (d, J = 11,4 Hz, 2H), 4,58 (d, J = 14,0 Hz, 2H), 4,14 (d, J = 11,9 Hz, 1H), 3,82 (c, J = 15,1 Hz, 3H), 3,09 (t, J = 12,1 Hz, 1H), 2,82 (s, 3H), 2,63 (t, J = 12,0 Hz, 1H), 1,63-1,44 (m, 5H), 1,31 (d, J = 8,2 Hz, 2H). LCMS: m/z = 562 (M+H)⁺.

*** Ejemplo 34: Síntesis de Compuesto 034**



Etapa 1: Consultar la etapa 1 del Ejemplo 3 para obtener compuesto 2.

Etapa 2: A una solución de compuesto 2 (5,25 g, 15 mmol) en DMSO (50 ml) se añadió K₂CO₃ (4,14 g, 30 mmol) y Cu (960 mg, 15 mmol). La mezcla se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno a 145°C durante la noche. La mezcla se filtró y el filtrado se recogió, seguido de purificación en una columna para proporcionar el compuesto 3 (2,4, 38%) en forma de un sólido blanco.

Etapa 3: A una solución del compuesto 3 (600 mg, 1,5 mmol) en 1,4-dioxano (15 ml) se añadió HCl 4 M en 1,4-dioxano (10 ml) a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró para obtener compuesto 4 (437 mg, 95%) en forma de un sólido amarillo.

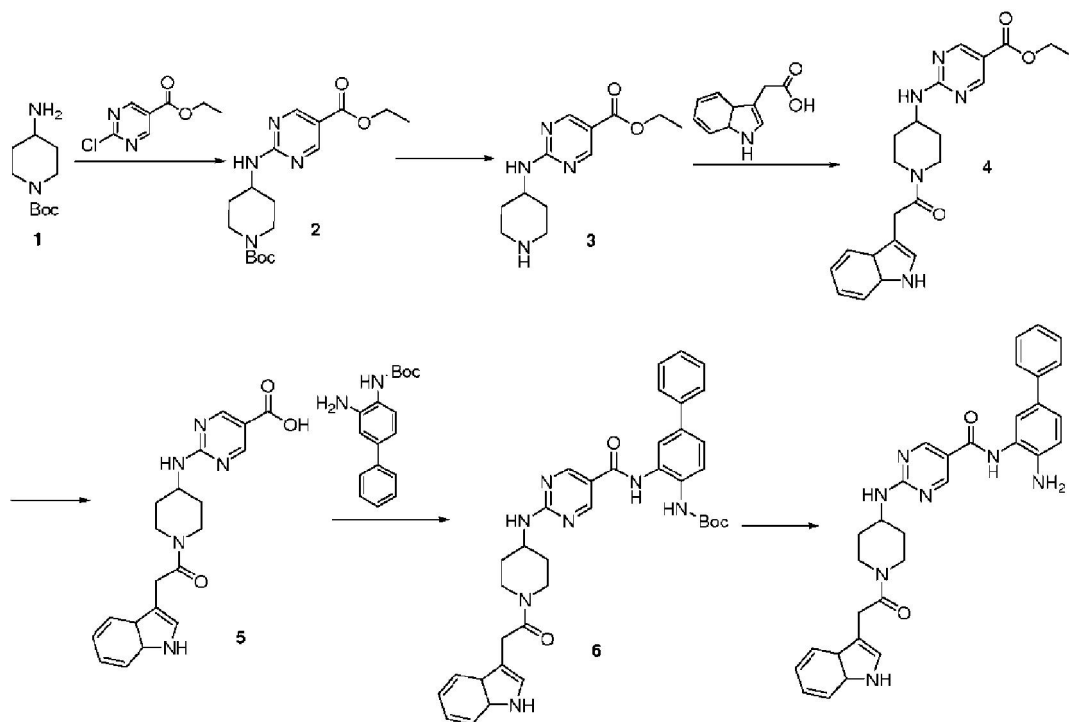
Etapa 4: Una mezcla de compuesto 4 (437 mg, 1,75 mmol), EDCI (543 mg, 3,5 mmol), HOAT (476 mg, 3,5 mmol), DIPEA (903 mg, 7 mmol) y ácido 2-indolacético (307 mg, 1,75 mmol) en 5 ml de DMF se agitó a 60°C durante la noche. Después de la extracción por EA, se proporcionó el compuesto 5 (600 mg, 84%) después de la purificación mediante columna con EA.

Etapa 5: A una solución de compuesto 5 (600 mg, 1,47 mmol) en EtOH/THF se añadió NaOH 2 N (5 ml) y luego la mezcla de reacción resultante se agitó a 60°C durante la noche. Una vez que se hubo evaporado el disolvente, la mezcla se extrajo mediante EA y luego la capa orgánica combinada se secó para producir el compuesto 6 deseado en forma de un sólido blanco (140 mg, 25%).

Etapa 6: Una mezcla de compuesto 6 (200 mg, 0,33 mmol), EDCI (102 mg, 0,66 mmol), HOAT (88 mg, 0,66 mmol), DIPEA (170 mg, 1,32 mmol) y amina (102 mg, 0,33 mmol) en 5 ml de DMF se agitó a 60°C durante la noche. Después de la extracción por EA, se proporcionó el compuesto 7 (200 mg, 20 %) en forma de un sólido blanco.

Etapa 7: A una mezcla de compuesto 7 (200 mg, 0,28 mmol) en 5 ml de CH₂Cl₂ se añadieron 2 ml de TFA y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la extracción por EA, el Compuesto diana 034 (10 mg, 6%) se purificó mediante HPLC preparativa. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 10,86 (s, 1H), 9,67 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 7,57-7,52 (m, 2H), 7,47,41 (m, 3H), 7,40-7,35 (m, 3H), 7,33 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,26 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,09 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,07-7,04 (m, 2H), 6,92 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 4,96 (s, 1H), 4,49 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 4,12 (d, J = 10,9 Hz, 1H), 3,71 (c, J = 15,0 Hz, 2H), 3,44 (c, J = 7,0 Hz, 2H), 3,10 (t, J = 12,3 Hz, 1H), 2,64 (t, J = 12,2 Hz, 1H), 2,09 (s, 2H), 1,87 (dd, J = 26,7, 12,8 Hz, 2H), 1,16-1,08 (m, 1H), 1,05 (t, J = 7,0 Hz, 3H). LCMS: m/z = 622 (M+H)⁺.

* Ejemplo 35: Síntesis de Compuesto 035



Etapa 1: Una mezcla de 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (1,86 g, 10 mmol), compuesto 1 (3,00, 15 mmol) y NEt₃ (3,0 g, 30 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml) se agitó a 95°C durante la noche. La mezcla se concentró y se añadieron EA (60 ml) y ácido cítrico acuoso (60 ml). La mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se secó y se concentró para proporcionar compuesto 2 (3,4 g, rendimiento: 97%) en forma de un sólido amarillo claro.

Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

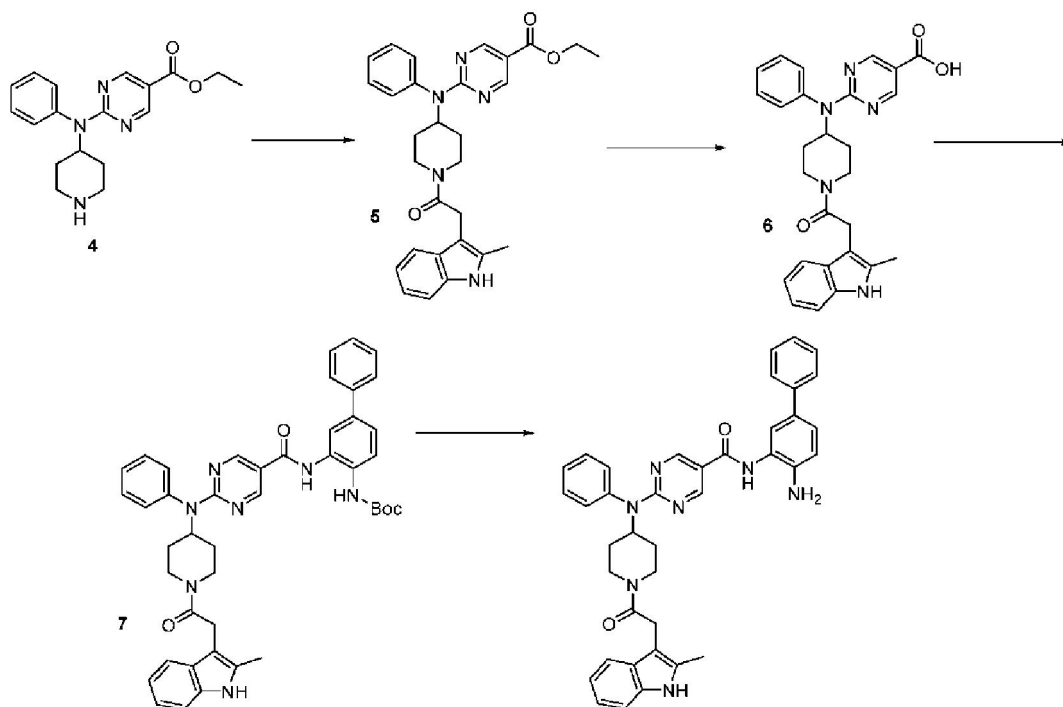
Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

* Ejemplo 36: Síntesis de Compuesto 036



Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

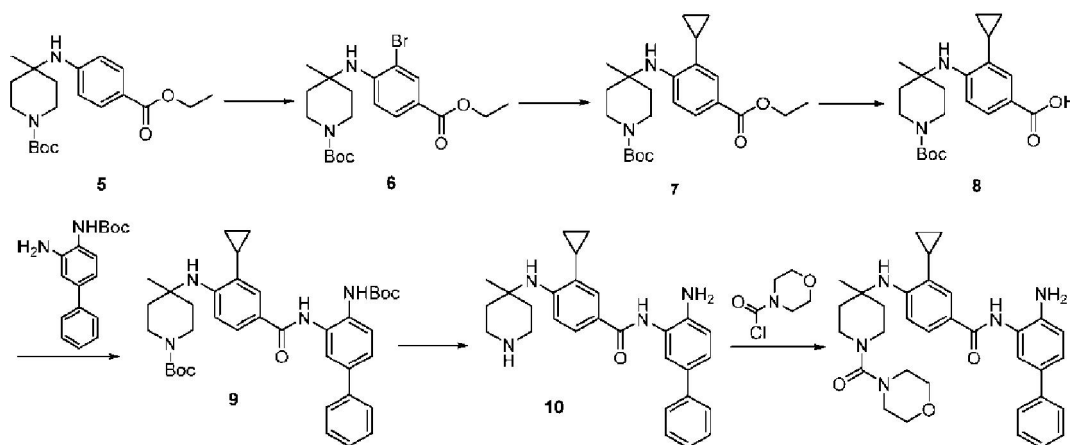
Etapas 1-3: Consultar las etapas 1-3 del Ejemplo 34 para obtener compuesto 4.

Etapa 5: A una solución de compuesto 5 (508 mg, 1 mmol) en EtOH/THF (10 ml) se añadió NaOH 2 N (5 ml) y luego la mezcla de reacción resultante se agitó a 60°C durante la noche. Después de haber separado por evaporación el disolvente, se ajustó el pH de la mezcla a 4-5. El precipitado se recogió para proporcionar el compuesto 6 deseado en forma de un sólido blanco (460 mg, 96%).

Etapa 6: Una mezcla de compuesto 6 (200 mg, 0,42 mmol), EDCI (160 mg, 0,84 mmol), HOAT (113 mg, 0,84 mmol), DIPEA (108 mg, 0,84 mmol) y amina (120 mg, 0,42 mmol) en 5 ml de DMF se agitó a 60°C durante la noche. Después de la extracción por EA, se proporcionó el compuesto 7 diana (200 mg, bruto) en forma de un aceite.

Etapa 7: A una mezcla de compuesto 7 (200 mg, bruto) en 5 ml de CH₂Cl₂ se añadieron 2 ml de TFA y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la extracción por EA, el Compuesto diana 036 (94 mg, 46 %) se purificó mediante HPLC preparativa. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 10,74 (s, 1H), 9,78 (s, 1H), 8,84 (s, 2H), 7,61-7,54 (m, 3H), 7,48-7,36 (m, 6H), 7,34-7,25 (m, 2H), 7,22 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,04-6,94 (m, 4H), 6,86 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 4,93 (t, J = 11,9 Hz, 1H), 4,48 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 3,98 (d, J = 12,1 Hz, 1H), 3,64 (dd, J = 45,6, 15,4 Hz, 2H), 3,07 (t, J = 12,4 Hz, 1H), 2,62 (t, J = 12,2 Hz, 1H), 2,22 (s, 3H), 1,85 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 1,75 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 1,08 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 0,94 (d, J = 8,5 Hz, 1H). LCMS: m/z = 636 (M+H)⁺.

* Ejemplo 37: Síntesis de Compuesto 037



Etapa 1: Consultar la etapa 1 del Ejemplo 13 para obtener compuesto 5.

Etapa 2: Se agitó una mezcla de compuesto 5 (250 mg, 0,69 mmol) y NBS (123 mg, 0,69 mmol) en DCM (10 ml) a 0°C durante 30 min. A la mezcla se añadió EA (20 ml) y Na₂SO₃ acuoso saturado (20 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (20 ml x 2), se secó y se concentró y se purificó mediante TLC preparativa para producir compuesto 6 (258 mg, 85%) en forma de un sólido amarillo.

Etapa 3: Una mezcla de compuesto 6 (240 mg, 0,55 mmol), ácido ciclopropilborónico (232 mg, 2,7 mmol), Pd(OAc)₂ (11 mg, 0,05 mmol), triclorohexilfosfina (14 mg, 0,05 mmol) y K₃PO₄ (360 mg, 1,7 mmol) en tolueno (30 ml) y H₂O (5 ml) se agitó a 95°C bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche. La mezcla se enfrió y a la mezcla se añadió EA (100 ml). La filtración, concentración y purificación mediante columna de gel de sílice proporcionó compuesto 7 (200 mg, 90%) en forma de un sólido amarillo claro.

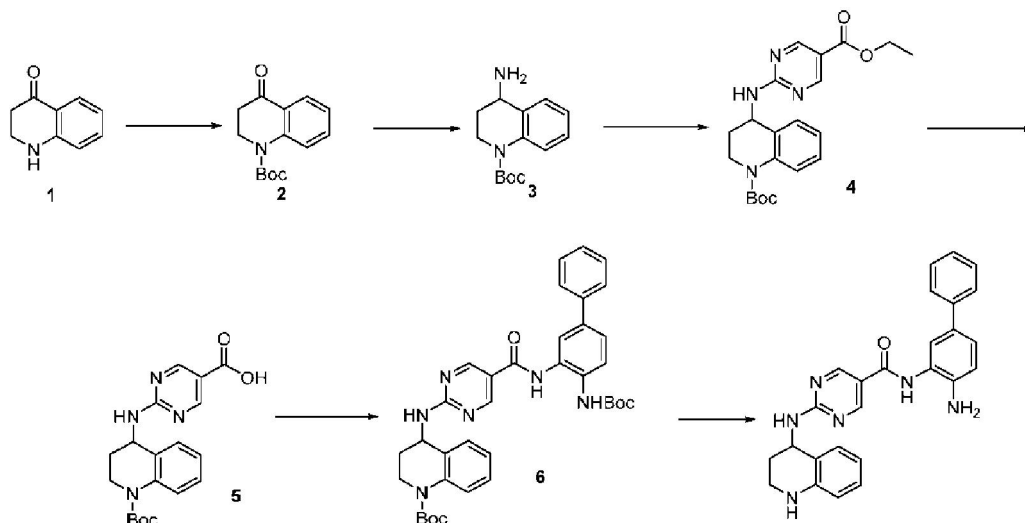
Etapa 4: A una solución del compuesto 7 (200 mg, 0,5 mmol) en EtOH (15 mL) y THF (15 ml) se añadió NaOH acuoso (2 M, 15 mL) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 60°C durante 2 h. La mezcla se concentró y luego, a la mezcla se añadió agua (20 ml) y ácido cítrico acuoso para ajustar a pH < 7 a 0°C, seguido de filtración para producir compuesto 8 (168 mg, 90%) en forma de un sólido blanco.

Etapa 5: Una mezcla de compuesto 8 (150 mg, 0,40 mmol), compuesto Boc-amina (114 mg, 0,40 mmol), HOAT (103 mg, 0,76 mmol), EDCI (145 mg, 0,76 mmol) y NEt₃ (154 mg, 1,52 mmol) en DMF (5 ml) se agitó a 60°C durante la noche. La mezcla se extrajo con EA (10 ml x 2), se secó y se concentró y se purificó mediante TLC preparativa para proporcionar compuesto 9 (120 mg, 50%) en forma de un sólido amarillo.

Etapa 6: A una solución de compuesto 9 (120 mg, 0,20 mmol) en DCM (5 ml) se añadió TFA (3 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. La mezcla se concentró para proporcionar compuesto 10 (80 mg, 100%) y se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapla 7: A una solución del compuesto 10 (80 mg, 0,20 mmol) y Et₃N (106 mg, 1,05 mmol) en THF (5 ml) se añadió cloruro de morfolina-4-carbonilo (45 mg, 0,30 mmol) a 0°C y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 h. A la mezcla se añadió EA (10 ml) y NaCl acuoso saturado (10 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se concentró y se purificó por HPLC preparativa para proporcionar Compuesto 037 (3 mg, 3%) en forma de un sólido amarillo. ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ 7,78 (d, J = 7,1 Hz, 2H), 7,58 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,48 (s, 1H), 7,39 (t, J = 7,9 Hz, 3H), 7,26 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 3,71-3,66 (m, 4H), 3,50 (d, J = 13,6 Hz, 2H), 3,30-3,20 (m, 6H), 2,19 (d, J = 13,9 Hz, 2H), 2,05 (s, 1H), 1,84-1,67 (m, 3H), 1,53 (s, 3H), 1,33 (d, J = 17,9 Hz, 1H), 1,06-0,99 (m, 2H), 0,67 (d, J = 4,4 Hz, 2H). LCMS: m/z = 554 (M+H)⁺.

* Ejemplo 38: Síntesis de Compuesto 038



Etapla 1: Una mezcla del compuesto 1 (1,5 g, 10,2 mmol), (Boc)₂O (2,2 g, 10,2 mmol) y TEA (2,06 g, 20,4 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La concentración y purificación mediante columna de gel de sílice con EA:PE = 1:5 proporcionó compuesto 2 (1,5 g, 60%) en forma de un sólido amarillo.

Etapla 2: La mezcla de compuesto 2 (1,4 g, 5,7 mmol), NaBH₃CN (539 mg, 8,6 mmol) y acetato de amonio (3,1 g, 40,0 mmol) en MeOH (20 ml) se agitó a 70 °C durante 2 horas. La concentración y purificación mediante columna de gel de sílice con EA:PE = 1/1 proporcionó compuesto 3 (1,2 g, 85%) en forma de un sólido amarillo.

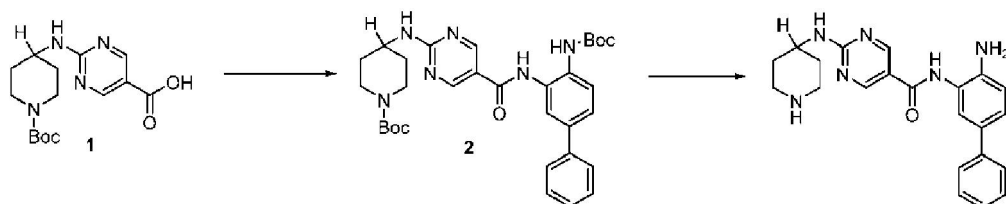
Etapla 3: Se formó una solución del compuesto 3 (800 mg, 3,2 mmol), 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (603 mg, 3,2 mmol) y DIPEA (826 mg, 6,4 mmol) en 1,4-dioxano (25 ml). La mezcla se calentó a 95°C y se agitó durante la noche. La concentración y purificación mediante columna de gel de sílice con EA:PE = 1:10 proporcionó compuesto 4 (1,0 g, 79%) en forma de un sólido amarillo claro.

Etapla 4: Se formó una solución del compuesto 4 (1,0 g, 2,5 mmol) y NaOH 2 N (10 ml, 20 mmol) en THF (10 ml) y EtOH (10 ml). La mezcla se calentó a 60 °C y se agitó durante 6 horas. La concentración y el ajuste del pH de la fase acuosa a 5-6 fueron seguidos de extracción con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para producir compuesto 5 diana (600 mg, 65%) en forma de un sólido blanco.

Etapla 5: Se formó una mezcla del compuesto 5 (100 mg, 0,27 mmol), 3-aminobifenil-4-ilcarbamato de terc.-butilo (77 mg, 0,27 mmol), EDCI (53,0 mg, 0,41 mmol), HOAT (55,0 mg, 0,41 mmol) y DIEA (70 mg, 0,54 mmol) en DMF (10 ml). La mezcla se calentó a 65 °C y se agitó durante la noche. Luego, la mezcla se disolvió en agua y se extrajo con EA. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. La purificación mediante columna de gel de sílice con EA:PE = 1:1 produjo compuesto 6 (130 mg, 76%) en forma de un sólido púrpura.

Etapla 6: A una solución agitada de compuesto 6 (130 mg, 0,2 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) se añadió HCl/1,4-dioxano (2 ml, 8,0 mmol) y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La concentración y el lavado con PE proporcionó el Compuesto diana 038 (55 mg, 62%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,58 (s, 1H), 8,92 (s, 2H), 8,10 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,6-7,47 (m, 3H), 7,45-7,29 (m, 3H), 7,24 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 6,98-6,81 (m, 3H), 6,54-6,40 (m, 2H), 5,85 (s, 1H), 5,29 (s, 1H), 3,13-3,04 (m, 1H), 1,94 (d, J = 5,1 Hz, 2H), 1,18 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 0,85 (s, 1H). LCMS: m/z = 437 (M+H)⁺.

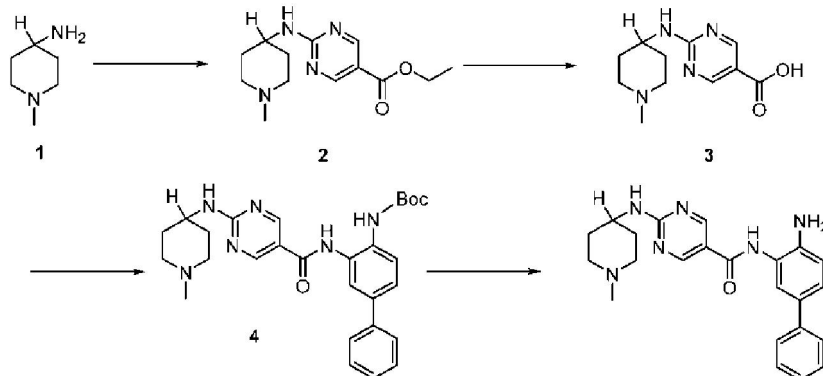
* Ejemplo 39: Síntesis de Compuesto 039



Etapla 1: Una mezcla de compuesto 1 (200 mg, 0,62 mmol), EDCI (192 mg, 1,24 mmol), HOAT (170 mg, 1,24 mmol), DIPEA (400 mg, 2,5 mmol) y amina (177 mg, 0,62 mmol) en 5 ml de DMF se agitó a 60°C durante la noche. Después de la extracción por EA, se proporcionó el compuesto diana 2 (220 mg, 59 %) en forma de un aceite bruto.

Etapla 2: A una mezcla de compuesto 2 (220 mg, 0,4 mmol) en 5 ml de CH₂Cl₂ se añadió 1 ml de TFA. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la extracción por EA (10 ml) y agua (10 ml*2), el Compuesto diana 039 (120 mg, 67%) se purificó mediante HPLC preparativa. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,65 (s, 1H), 8,89 (s, 2H), 8,58 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,07 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 7,62-7,49 (m, 3H), 7,39 (dd, J = 17,1, 9,2 Hz, 3H), 7,26 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 6,92 (s, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,33 (d, J = 12,8 Hz, 2H), 3,05 (d, J = 9,9 Hz, 2H), 2,05 (d, J = 11,4 Hz, 2H), 1,77-1,63 (m, 2H). LCMS: m/z = 389 (M+H)⁺.

* Ejemplo 40: Síntesis de Compuesto 040



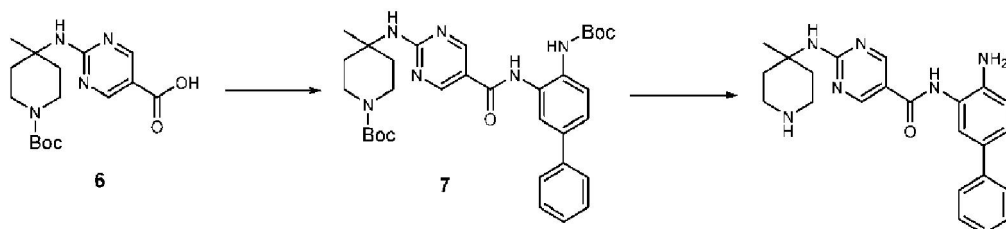
Etapla 1: Una mezcla de compuesto 1 (2,0 g, 17,5 mmol), 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (3,2 g, 17,5 mmol) y DIPEA (4,5 mg, 35,0 mmol) en 5 ml de CH₂Cl₂ se agitó a temperatura ambiente. durante 2 h. Después de la extracción por EA (2*50 ml), la capa orgánica combinada se secó para proporcionar el compuesto diana 2 (2,0 g, 43%) en forma de un sólido blanco.

Etapla 2: Se agitó una solución de compuesto 2 (400 mg, 1,5 mmol) en HCl 6 M a 100°C durante la noche y el compuesto 3 deseado se secó mediante liofilizador (300 mg, 85%).

Etapla 3: Una mezcla de compuesto 3 (150 mg, 0,63 mmol), EDCI (197 mg, 1,26 mmol), HOAT (171 mg, 1,26 mmol), DIPEA (325 mg, 2,5 mmol) y amina (179 mg, 0,63 mmol) en 5 ml de DMF se agitó a 60°C durante la noche. Después de la extracción por EA, el compuesto diana (200 mg, 63%) se purificó por columna con CH₂Cl₂:CH₃OH (10:1).

Etapla 4: A una mezcla de compuesto 4 (100 mg, 0,2 mmol) en 5 ml de CH₂Cl₂ se añadió TFA (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la extracción por EA (10 ml) y agua (10 ml*2), el Compuesto diana 040 (20 mg, 25%) se purificó mediante HPLC preparativa. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,52 (s, 1H), 8,84 (s, 2H), 7,78 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,59 - 7,46 (m, 3H), 7,39 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,32 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,24 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 6,85 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 5,14 (s, 2H), 3,77 (s, 1H), 2,75 (d, J = 11,5 Hz, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,95 (t, J = 10,9 Hz, 2H), 1,83 (d, J = 10,4 Hz, 2H), 1,55 (d, J = 9,5 Hz, 2H). LCMS: m/z = 403 (M+H)⁺.

* Ejemplo 41: Síntesis de Compuesto 041

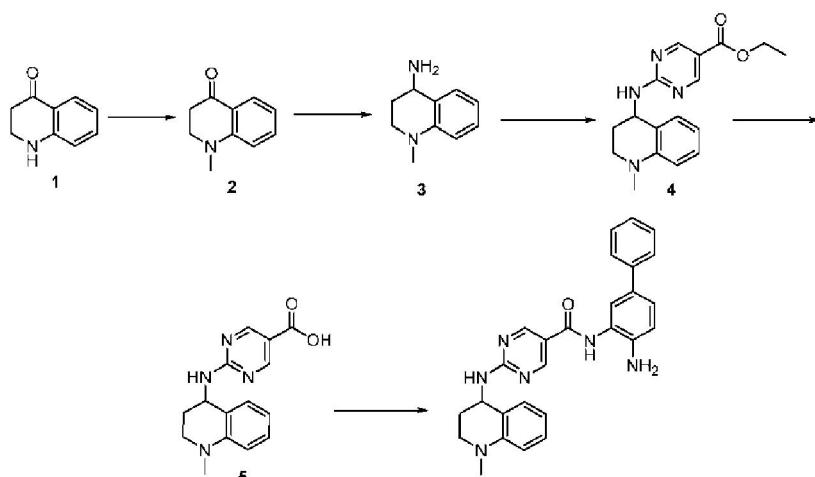


Etapas 1-5: Consultar las etapas 1-5 del Ejemplo 7 para obtener compuesto 6.

5 **Etapas 6:** Una mezcla de compuesto 6 (200 mg, 0,62 mmol), EDCI (192 mg, 1,24 mmol), HOAT (170 mg, 1,24 mmol), DIPEA (400 mg, 2,5 mmol) y amina (177 mg, 0,62 mmol) en 5 ml de DMF se agitó a 60°C durante la noche. Después de la extracción por EA, se proporcionó el compuesto diana 7 (187 mg, 50 %) en forma de un aceite bruto.

10 **Etapas 7:** A una mezcla de compuesto 7 (186 mg, 0,31 mmol) en 5 ml de CH₂Cl₂ se añadió 1 ml de TFA. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la extracción por EA (10 ml) y agua (10 ml²), el Compuesto diana 041 (90 mg, 70%) se purificó mediante HPLC preparativa. ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 9,57 (s, 1H), 8,88 (s, 2H), 7,63 (s, 1H), 7,54 (d, J = 7,4 Hz, 2H), 7,49 (s, 1H), 7,39 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 7,35-7,29 (m, 1H), 7,24 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 6,85 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,16 (s, 2H), 3,04 (d, J = 13,0 Hz, 2H), 2,96 (t, J = 10,8 Hz, 2H), 2,43 (s, 2H), 1,68 (t, J = 10,7 Hz, 2H), 1,44 (s, 3H). LCMS: m/z = 402 (M+H)⁺.

15 *** Ejemplo 42: Síntesis de Compuesto 042**



20 **Etapas 1:** Una mezcla de compuesto 1 (2,0 g, 13,6 mmol), yodometano (5,8 g, 40,8 mmol) y K₂CO₃ (5,5 g, 40,8 mmol) en DMSO (30 ml) se agitó a 80°C durante la noche. A la mezcla se añadió EA (100 ml) y NaCl saturado acuoso (100 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml²), se secó y se concentró y se purificó mediante una columna de gel de sílice para proporcionar compuesto 2 (1,5 g, 68%) en forma de un sólido amarillo.

25 **Etapas 2:** Una mezcla de compuesto 2 (1,5 g, 9,3 mmol), NaBH₃CN (1,8 g, 27,9 mmol) y AcONH₄ (3,6 g, 46,5 mmol) en MeOH (30 ml) se agitó a 70°C durante 5 h. A la mezcla se añadió EA (100 ml) y NaCl saturado acuoso (100 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 30 min. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado (50 ml²), se secó y se concentró para proporcionar compuesto 3 (1,4 g, 80%) en forma de un sólido blanco.

30 **Etapas 3:** Una mezcla de compuesto 3 (1,6 g, 10 mmol), 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (1,7 g, 9 mmol) y DIPEA (3,9 g, 30 mmol) en DCM (30 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se purificó mediante una columna de gel de sílice para proporcionar compuesto 4 (800 mg, 29%) en forma de un sólido amarillo.

35 **Etapas 4:** A una solución de compuesto 4 (800 mg, 2,6 mmol) en EtOH (20 ml) y THF (20 ml) se añadió NaOH acuoso (2 M, 20 ml). La mezcla se agitó a 60°C durante 2 h. La mezcla se concentró para producir un residuo y a la mezcla se añadió agua (100 ml) y ácido cítrico acuoso para ajustar a pH < 7 a 0°C, seguido de filtración para proporcionar compuesto 5 (600 mg, 80%) en forma de un sólido blanco.

40 **Etapas 5:** Una mezcla de compuesto 5 (150 mg, 0,53 mmol), compuesto Boc-amina (152 mg, 0,53 mmol), HOAT (103 mg, 0,76 mmol), EDCI (145 mg, 0,76 mmol) y NEt₃ (154 mg, 1,52 mmol) en DMF (5 mL) se agitó a 60°C durante la noche. La mezcla se extrajo con EA (10 ml) y agua (10 ml²). La capa orgánica se separó, se lavó mediante NaCl saturado acuoso (20 ml²), se secó y se concentró y se purificó mediante TLC preparativa para proporcionar compuesto 6 (45 mg, 15%) en forma de un sólido amarillo.

45 **Etapas 6:** A una solución de compuesto 6 (45 mg, 0,08 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) se añadió HCl en 1,4-dioxano (0,5 ml) a temperatura ambiente, y la mezcla de reacción resultante se agitó durante la noche. La mezcla se filtró para proporcionar Compuesto 042 (15 mg, 41%). ¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ 10,43 (s, 1H), 9,00 (d, J = 29,0 Hz, 2H), 8,30 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,80 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,67 (d, J = 7,4 Hz, 2H), 7,61 (dd, J = 8,3, 1,9 Hz, 1H), 7,49 (t, J = 7,7 Hz,

2H), 7,45-7,37 (m, 2H), 7,12 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,04 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 6,72 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,63 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 5,32 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 3,39 (s, 2H), 2,90 (s, 3H), 2,07 (dd, J = 22,1, 4,2 Hz, 2H). LCMS: m/z = 451 (M+H)⁺.

Ejemplo 43: Ensayos enzimáticos HDAC

Los compuestos para el ensayo se diluyeron en DMSO a 50 veces la concentración final y se preparó una serie de diluciones de diez puntos tres veces. Los compuestos se diluyeron en tampón de ensayo (HEPES 50 mM, pH 7,4, KCl 100 mM, Tween-20 al 0,001%, BSA al 0,05%, tris(2-carboxietil)fosfina 20 µM) hasta 6 veces su concentración final. Las enzimas HDAC (adquiridas de BPS Biosciences) se diluyeron hasta 1,5 veces su concentración final en tampón de ensayo y se preincubaron con los compuestos durante 24 horas antes de la adición del sustrato.

El sustrato tripéptido, sustrato 3 (sintetizado en nuestras instalaciones) para cada una de las enzimas fue igual a la Km determinada por una curva de titulación del sustrato. Las concentraciones de enzima y sustrato utilizadas se dan en la **Tabla 2**. Los sustratos se diluyeron en tampón de ensayo a 6 veces su concentración final con tripsina de calidad de secuenciación (Sigma) 0,3 µM. La mezcla de sustrato/tripsina se añadió a la mezcla de enzima/compuesto, la placa se agitó durante 60 segundos y se colocó en un lector de placas de microtitulación Spectramax M5. Se controló el desarrollo de fluorescencia durante 30 min y se calculó la velocidad lineal de la reacción. La CI₅₀ se determinó utilizando Graph Pad Prism mediante un ajuste de curva de cuatro parámetros. Los valores de CI₅₀ obtenidos para los compuestos de esta invención se encuentran en la **Tabla 1**. Ejemplos de las curvas se encuentran en las Figuras 1 y 4

Tabla 2.

	Concentración de enzimas	Concentración del sustrato
HDAC1	3,5 ng/µl	3,8 µM
HDAC2	0,2 ng/µl	2,3 µM
HDAC3	0,08 ng/µl	3,9 µM

Ejemplo 44: Farmacocinética

Ratas SD macho se mantuvieron en ayunas durante la noche. Compuestos de la invención se disolvieron en dimetilacetamida a 10 veces la concentración final, luego se añadió Solutol HS 15 (BASF) hasta una concentración final del 10%. Finalmente, se añadió solución salina al 80% y se agitó con vórtice para lograr una solución transparente. Para la dosificación IV, se inyectó a tres animales a través de la vena dorsal de la pata con 1 mg/kg de compuesto. Para la dosificación PO, se administraron 5 mg/kg de compuesto por sonda oral. Se recogió sangre a través de la vena de la cola en tubos K2EDTA a los 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 8 horas y 24 horas después de la dosificación. La sangre se centrifugó a 2000 g durante 5 minutos a 4 °C para obtener plasma. El plasma se extrajo con acetonitrilo y el nivel de compuesto se analizó mediante LC/MS/MS. El nivel de compuesto en plasma se calculó a partir de una curva estándar en plasma de rata. El aclaramiento IV y el área bajo la curva se calcularon utilizando el software WinNonLin. El área ajustada a la dosis bajo la curva para la dosificación IV y oral se utilizó para calcular la biodisponibilidad oral.

Se presenta un resumen de los resultados en la Tabla 3 y la Tabla 4, así como en la Figura 2.

Se determinó la farmacocinética del mono cynomolgus para Compuesto 005. Compuesto 005 se disolvió en hidroxipropilmetilcelulosa al 0,5% y se dio a monos cynomolgus alimentados a razón de 20 mg/kg de peso corporal. Se recogieron muestras de plasma a lo largo del tiempo y se analizaron tal como se describe arriba. Los niveles de plasma en cada momento se muestran en la Figura 5.

Tabla 3.

Compuesto	Potencia del ensayo basado en células	Casete Rata PK (5 mg/kg PO)				
		Clr. IV	PO C _{max}	PO T _{1/2}	PO AUC	F%
Compuesto 003	3 µM	0,12	2316	17	59876	118
Compuesto 001	3 µM	0,53	988	3,8	5959	63
Compuesto 002	3 µM	1,2	1011	5,9	6091	142
Compuesto 005	1 µM	0,38	569	>24	9162	79
Compuesto 004	ND	0,57	1497	7,6	15941	209
Compuesto 006	ND	0,15	1517	14,5	31640	76

Tabla 3: Los compuestos se testaron en el ensayo de inducción de globina fetal y la concentración más baja para lograr un aumento de 2 veces en la expresión del gen de globina fetal frente al valor de referencia se presenta en la columna "Potencia del ensayo basado en células". Las propiedades farmacocinéticas se evaluaron en un experimento de dosificación en casete de rata. El aclaramiento IV (Cl_r IV) está en unidades de L/h/kg. La concentración plasmática máxima oral (PO C_{max}) está en unidades de ng / ml. La semivida plasmática oral (PO T_{1/2}) es en unidades de horas. El área oral bajo la curva (PO AUC) está en unidades de horas*ng/ml. La fracción absorbida por vía oral (F%) es un porcentaje del área oral bajo la curva al área IV bajo la curva, dosis ajustada.

Tabla 4.

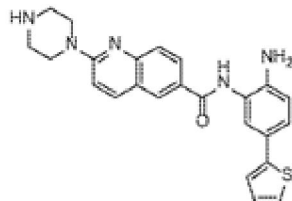
Compuesto	Tox in vitro				ADME in vitro					
					(Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción)					
	hERG	Cip	Ames	MN	Solubilidad	Estabilidad plasmática	Unión de proteínas	de	Estabilidad de microsomas	de
Comp. 003	>30 μ M	>10 μ M	Neg	Neg	54 μ M	ND	ND		4,7 min	
Comp. 001	>30 μ M		2C9		ND	ND	16,9 μ M	ND	N.D.	11 min
Comp. 002	>30 μ M		>10 μ M		ND	ND	42,7 μ M	ND	ND	ND
Comp. 005	13,8 μ M		>10 μ M		Neg	Neg	13,8 μ M	ND	ND	ND
Comp. 004	12 μ M		>10 μ M		ND	ND	12 μ M	ND	ND	ND
Comp. 006	>30 μ M		>10 μ M		ND	ND	ND	ND	N.D.	ND

Ejemplo 45: Inducción de Globina Fetal

Células CD34+ aisladas de médula ósea humana se cultivaron *in vitro* utilizando un método descrito por Bradner JE (Proc Natl Acad Sci USA. 13 de julio de 2010; 107(28):12617-22), que consiste en una fase de expansión de 7 días en medios que apoyan la diferenciación de células hacia el linaje eritroide seguido de una fase de diferenciación durante 3 días en la que continúa el desarrollo de las células eritroides. Al final del período de diferenciación, estas células son principalmente eritroblastos tardíos. Los niveles de ARNm se determinaron mediante PCR cuantitativa en tiempo real utilizando conjuntos de cebadores/sondas diseñados para β -globina mayor (β) adulta, β -globina menor (δ) adulta, globina similar a β fetal (HbG, γ) y globina similar a β embrionaria (ϵ). Los niveles de proteína se determinaron mediante citometría de flujo utilizando anticuerpos fluorescentes contra la hemoglobina fetal (HbF) o la hemoglobina adulta (HbA).

En el experimento que se muestra en la Figura 3, las células se diferenciaron en presencia de vehículo (DMSO) 0,3, 1 y 3 μ M de Compuesto A, y de 0,3, 1 y 3 μ M de Compuesto 003. En el experimento mostrado en la Figura 6, las células se diferenciaron en presencia de vehículo (DMSO) 0,3, 1 y 3 μ M de Compuesto A, y de 0,3, 1 y 3 μ M de Compuesto 005. Los niveles de ARNm de globina se determinaron el día 3 de diferenciación.

Compuesto A es un inhibidor de HDAC1/2 (Cl₅₀ es aproximadamente 4, 15, y 114 nM para HDAC1, HDAC2, y HDAC3, respectivamente) con la estructura que se muestra a continuación. La caracterización y síntesis de Compuesto A se encuentra en la Publicación de EE.UU. N° 2014-0128391.



Compuesto A

Ejemplo 46: Estudios Adicionales

Se realizaron experimentos adicionales que demuestran que **Compuesto 003** carece de hERG, inhibición de CYP y genotoxicidad.

Para los ensayos de hERG, una línea celular CHO transfectada de forma estable con ADNc de hERG y que expresan los canales de hERG se sembraron en una placa de QPatch (Sophion) a una densidad de $3-8 \times 10^6$ células/ml. La tensión de las células se amortiguó a un potencial de retención de -80 mV. La corriente hERG se activó despolarizando a +20 mV durante 5 s, después de lo cual la corriente se llevó de nuevo a -50 mV durante 5 s para eliminar la

inactivación y observar la corriente de cola desactivante. Se utilizó la cantidad máxima de tamaño de la corriente de la cola para determinar la amplitud de la corriente hERG. Se eligieron seis dosis (30, 10, 3, 1, 0,3 y 0,1 μM) de Compuesto 003 para obtener curvas de ajuste y la CI50. Los datos se analizaron utilizando el Software Assay proporcionado por Sophion y Graphpad Prism. Compuesto 003 no inhibió la actividad del canal hERG a la concentración más alta de 30 μM .

Para la inhibición de Cyp, se incubaron microsomas humanos vivos de BD Gentest con Compuesto 003 (10, 3,33, 1,11, 0,37, 0,12, 0,04, 0,01 μM) y sustrato (CYP1A2: fenacetina a 30 μM ; CYP2C9: diclofenaco a 10 μM ; CYP2C19: S-mefenitoína a 35 μM ; CYP3A4: midazolam a 5 μM y testosterona a 80 μM ; CYP2D6: bufuralol a 10 μM) para los siguientes tiempos de incubación: CYP1A2, 2C9, 2D6: 10 minutos, 37 °C; CYP2C19: 45 minutos, 37 °C; CYP3A4: 5 minutos, 37 °C. La conversión del sustrato se midió mediante cromatografía líquida/espectrometría de masas/espectrometría de masas (LC/MS/MS). La inhibición se calculó ajustando la curva en Graph Pad Prism. Compuesto 003 no inhibió la actividad de ningún Cyp hasta 10 μM .

Para la genotoxicidad, las cepas de ensayo bacterianas TA98, TA100, TA1535 y TA97a tal como se describen Ames et al. (1975) y la cepa de ensayo de E. coli WP2 uvrA tal como se describe por Green y Muriel (1976) se incubaron con Compuesto 003 a 250, 75, 25, 7,5, 2,5, 0,75, 0,25 y 0,075 $\mu\text{g/pocillo}$ en placas de 24 pocillos ya sea con o sin homogeneizado de hígado (S9) adquirido comercialmente (MolTox; Boone, NC) preparado a partir de ratas macho Sprague Dawley a las que se ha inyectado intraperitonealmente Aroclor 1254 (200 mg/mL en aceite de maíz), a una dosis de 500 mg/kg, 5 días antes del sacrificio. La mutagenicidad se evalúa contando el número de colonias que se forman en medios no permisivos. Compuesto 003 no incrementó el número de colonias revertidas de cepa alguna con o sin activación de S9.

La genotoxicidad se evaluó adicionalmente mediante un ensayo de formación de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica humana (HPBL). HPBL se obtuvieron de donantes sanos y se expusieron a Compuesto 003 a 3500, 2450, 1715, 1200, 840, 588, 412, 288, 202, 141, 98,8, 69,2, 48,4 y 33,9 $\mu\text{g/ml}$ durante 4 horas con o sin activación S9. Las células se lavaron con PBS y se incubaron en medio completo con 6 $\mu\text{g/ml}$ de citocolasina B durante 24 horas. A continuación, las células se lisaron, fijaron y montaron en portaobjetos de microscopio. Se contó el número de células mononucleadas, binucleadas y micronucleadas en condiciones ciegas. Compuesto 003 no aumentó el número de células micronucleadas a cualquier concentración.

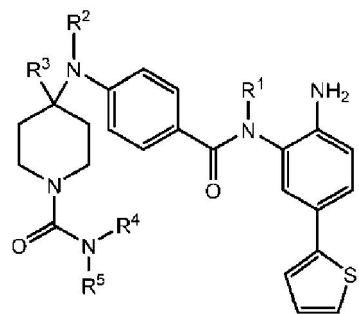
Ejemplo 47: Tratamiento de progenitores eritroides con diversos inhibidores de HDAC1/2 conduce a la inducción del ARNm de Gata2

Se expandieron células CD34+ derivadas de médula ósea humana durante 7 días tal como se describe por Sankaran et al., Science, vol. 322 (5909), págs. 1839-42 (2008). A continuación, las células se diferenciaron, en presencia de la concentración indicada de Compuesto 005, Compuesto A (otro inhibidor de HDAC1/2 conocido) o control de soporte (DMSO), durante 3 días en medios que soportan la eritropoyesis (Hu et al., "Isolation and functional characterization of human erythroblasts at distinct stages: implications for understanding of normal and disordered erythropoiesis in vivo", Blood, vol. 121(16), págs. 3246-53 (2005)). ARNm de Gata2 se determinó utilizando la PCR cuantitativa en tiempo real y se expresó con relación al nivel de control de ARNm de beta-actina. El tratamiento con Compuesto 005 o Compuesto A de progenitores eritroides primarios da como resultado una dosis equivalente y una inducción dependiente del tiempo de % HbG (Figura 6) y ARNm de Gata2 (Figura 7).

A menos que se defina lo contrario, a todos los términos y expresiones técnicos y científicos utilizados en esta memoria se les otorga el significado comúnmente conocido por un experto en la técnica.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula IIIa:



IIIa

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde

R¹ se selecciona del grupo que consiste en H y alquilo C₁-C₆;

R² se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ y arilo C₆;

R³ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ y arilo C₆;

10 o R² y R³ juntos forman un heterociclilo C₂-C₆; y

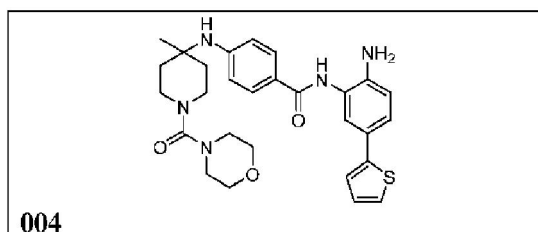
R⁴ y R⁵ juntos forman un heterociclilo seleccionado del grupo que consiste en morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo, en donde el morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo, y pirrolidinilo está opcionalmente sustituido con 1 o 2 de alquilo C₁-C₆, halo o hidroxilo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R¹ es H.

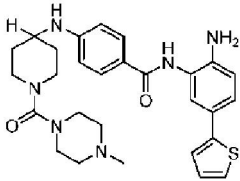
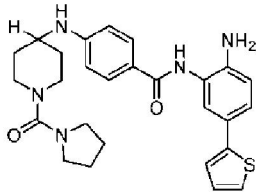
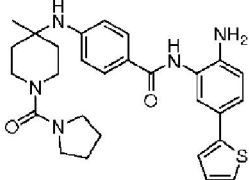
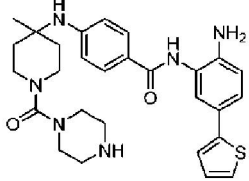
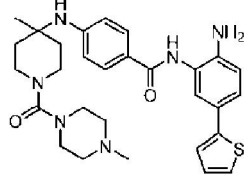
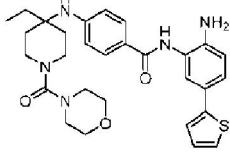
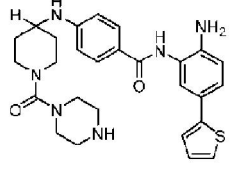
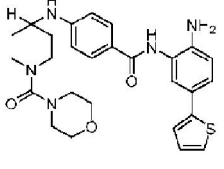
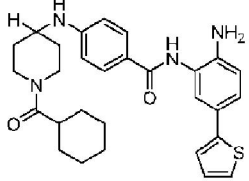
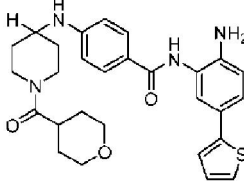
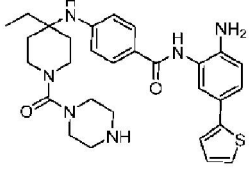
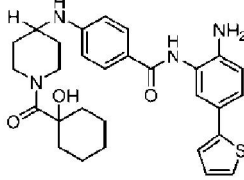
15 3. El compuesto de cualquier reivindicación precedente, en donde R² es H.

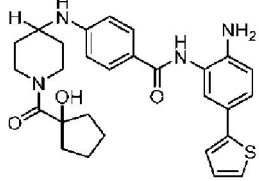
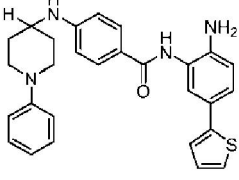
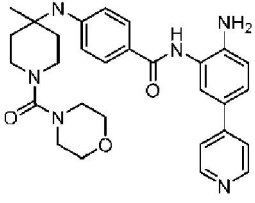
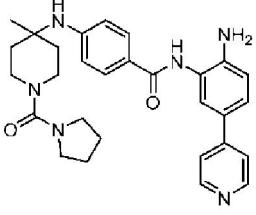
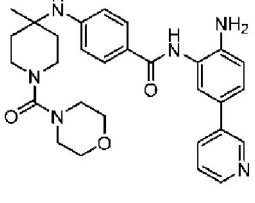
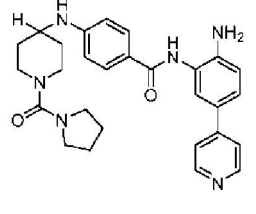
4. El compuesto de cualquier reivindicación precedente, en donde R³ es H, metilo, isopropilo o fenilo.

5. El compuesto de cualquier reivindicación precedente, seleccionado de:



004

005 	006 
013 	
015 	016 
017 	
019 	020 
021 	022 
023 	024 

 025	
 028	
 029	 030
 031	 032

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

5 6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y un soporte farmacéuticamente aceptable.

7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de un síndrome mielodisplásico, una hemoglobinopatía, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, neuroblastoma, leucemia, linfoma y neuroblastoma.

10 8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la hemoglobinopatía es anemia de células falciformes o beta-talasemia.

9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la enfermedad es leucemia mielógena aguda o leucemia megacariocítica aguda.

Figura 1

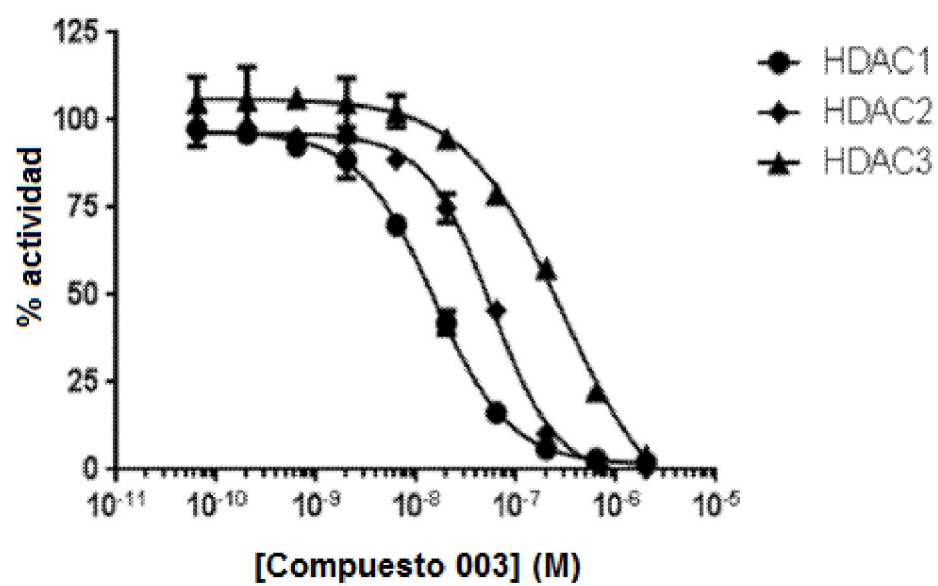


Figura 2

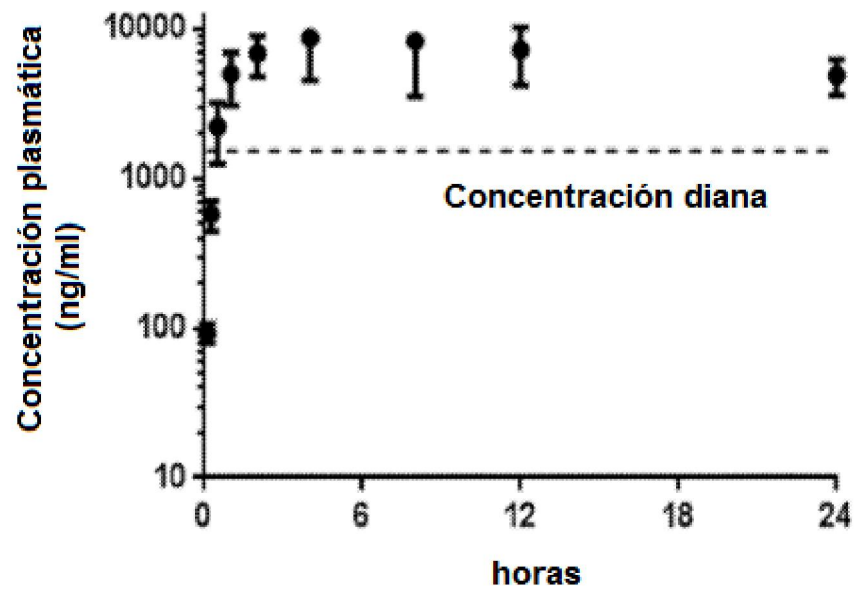


Figura 3

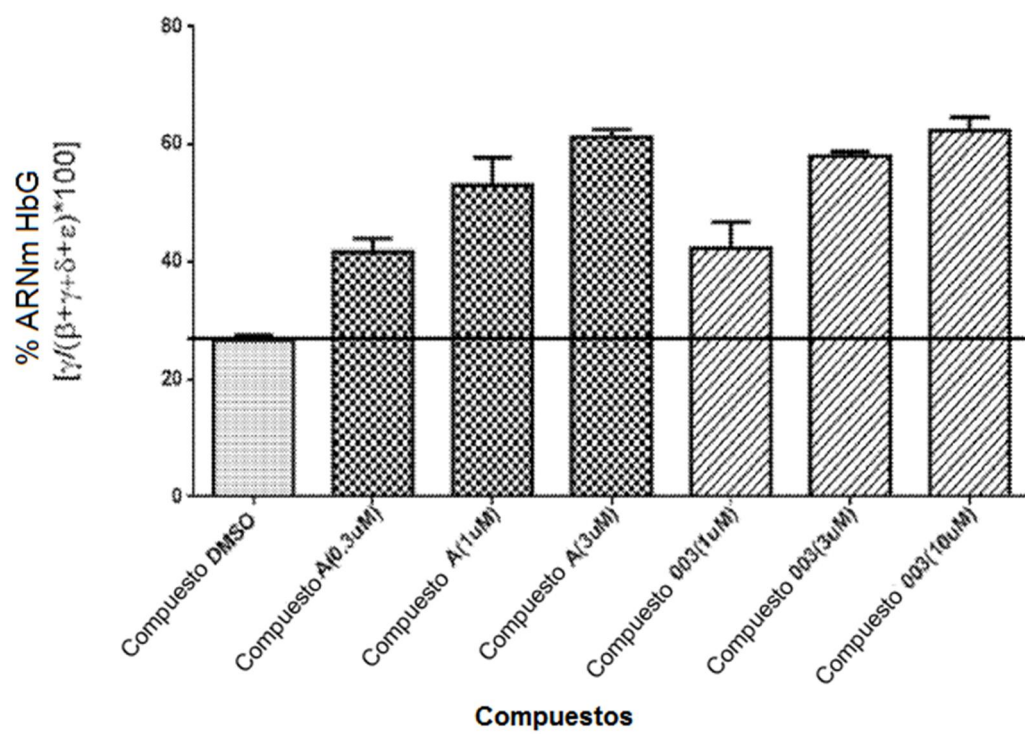


Figura 4

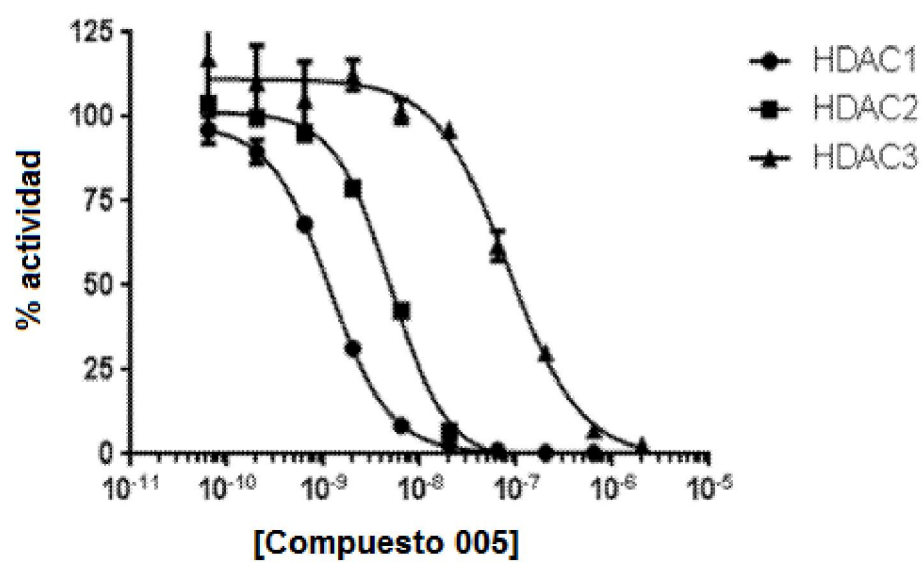


Figura 5

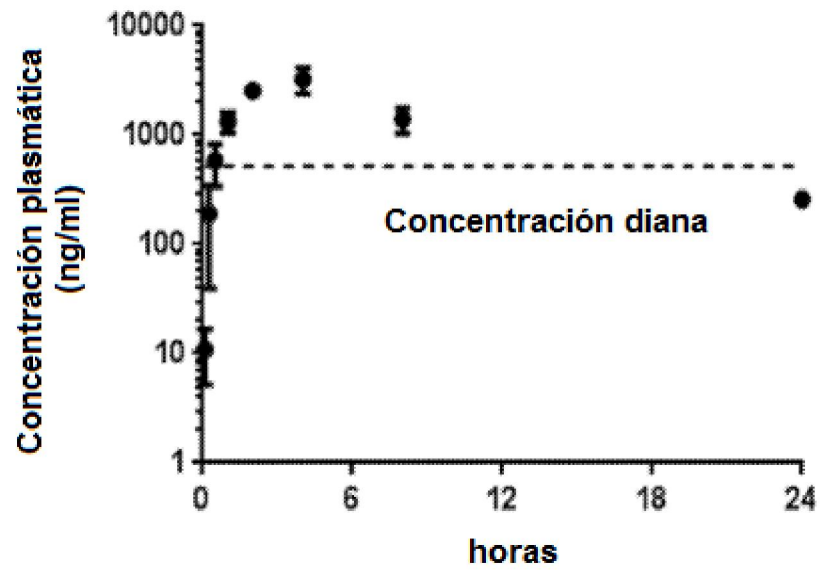


Figura 6

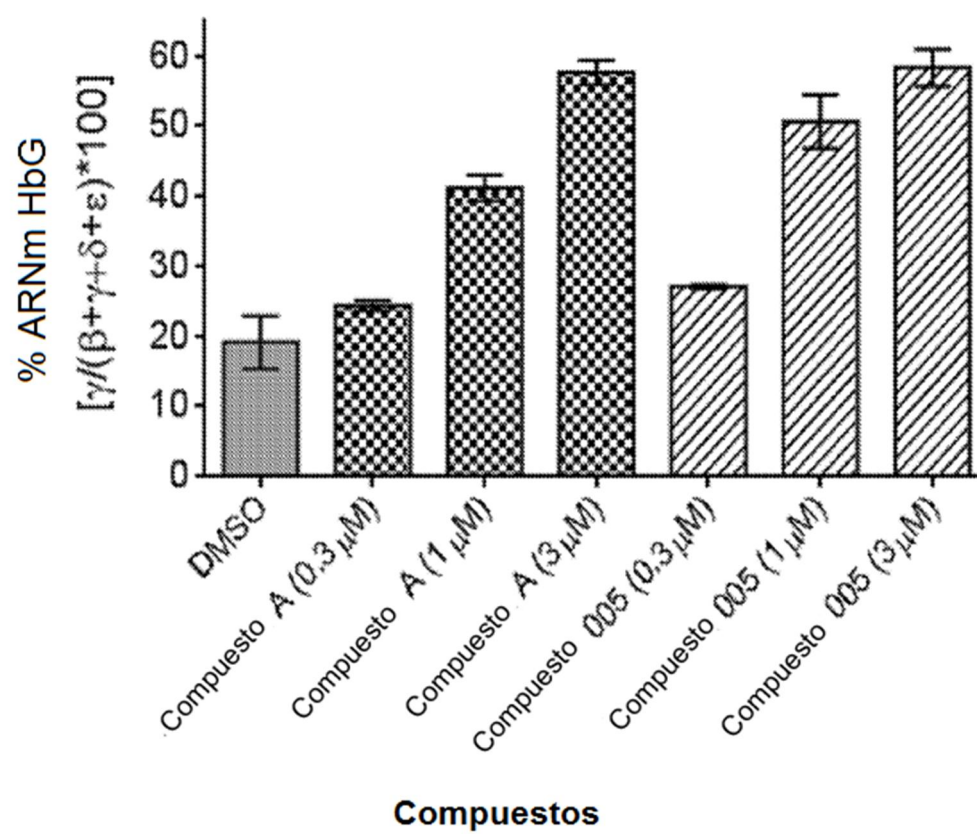


Figura 7

