

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 023 310**

51 Int. Cl.:

C07D 471/10 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
C07D 498/10 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.04.2020** **PCT/CN2020/083255**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.10.2020** **WO20200314**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.04.2020** **E 20782749 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2025** **EP 3950688**

54 Título: **Derivado espiro que contiene nitrógeno como inhibidor de RET**

30 Prioridad:

03.04.2019 CN 201910270287
29.09.2019 CN 201910937884
15.10.2019 CN 201910980684
19.03.2020 CN 202010199443

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
30.05.2025

73 Titular/es:

**GUANGZHOU BAIYUNSHAN PHARMACEUTICAL
HOLDINGS CO., LTD. BAIYUNSHAN
PHARMACEUTICAL GENERAL FACTORY
(100.00%)
No.88, Yunxiang Road, Tonghe Street, Baiyun
District
Guangzhou, Guangdong 510515, CN**

72 Inventor/es:

**WANG, JIANSONG;
FU, ZHIFEI;
LUO, ZHIBO;
LUO, MIAORONG;
ZHANG, YANG;
CAI, YALEI;
ZHU, WU;
LI, JIAN;
CHEN, SHUHUI;
BAO, YINGXIA;
WANG, WEI y
XIE, ZHOUFAN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 3 023 310 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

Derivado espiro que contiene nitrógeno como inhibidor de RET

5 La presente solicitud reivindica las siguientes prioridades:

Documento CN201910270287.2, la fecha de presentación es el 3 de abril de 2019;

10 Documento CN201910937884.6, la fecha de presentación es el 29 de septiembre de 2019;

Documento CN201910980684.9, la fecha de presentación es el 15 de octubre de 2019; y

Documento CN202010199443.3, la fecha de presentación es el 19 de marzo de 2020.

15 Campo técnico

La presente divulgación se refiere a una serie de compuestos con una estructura espiro que contiene nitrógeno y a usos de los mismos en la preparación de un inhibidor de la quinasa RET. Específicamente, la presente divulgación se refiere a compuestos de fórmula (I) y fórmula (II) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Antecedentes

25 Una proteína RET es un receptor de la tirosina quinasa (RTK), y también es una glicoproteína transmembrana. La proteína RET es expresada por un protooncogén RET (Reorganizado durante la Transfección) y desempeña un papel importante en el desarrollo de sistemas nerviosos entéricos y renales en la etapa embrionaria. Además, la homeostasis de la proteína RET es crucial en una variedad de tejidos, tales como células nerviosas, células neuroendocrinas, tejidos hematopoyéticos y células germinales masculinas. A diferencia de otras RTK, RET no se une directamente a moléculas de ligando, tales como la familia de ligandos GDNF (GFL), que incluyen neurodina (artemina), el factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF), neurturina y persefina. Estos GFL se unen típicamente al receptor α de la familia GDNF (GFR α) para formar un grupo compuesto GFL-GFR α , que media la autodimerización de la proteína RET, causa la reacción de trans-autofosforilación de la tirosina en un dominio intracelular, recluta proteínas conectoras relevantes, y activa la reacción en cascada de señalización tal como la proliferación celular. Las rutas de señalización relevantes incluyen MAPK, PI3K, JAK-STAT, PKA, PKC y similares.

40 Existen dos mecanismos principales de activación carcinogénica de RET: un mecanismo es que la transposición del cromosoma genera nuevas proteínas de fusión, que generalmente incluyen un dominio quinasa de RET y una proteína de fusión que contiene un dominio de autodimerización; el otro mecanismo es que la mutación de RET activa directa o indirectamente la actividad quinasa de RET. El cambio en el nivel de estas células somáticas o células germinales implica patogénesis de múltiples cánceres. La reorganización cromosómica de RET se encuentra en el 5%-10% de los pacientes que padecen carcinoma papilar de tiroides; la mutación puntual de RET se encuentra en el 60% de los pacientes que padecen carcinoma medular de tiroides; aproximadamente el 1%-2% de los pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) tienen proteínas de fusión de RET, en las cuales KIF5B-RET es la más común.

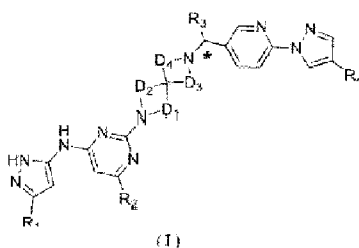
Las solicitudes WO 2017/079140 y WO 2018/017983 divulgan inhibidores de RET de tipo silvestre.

50 En resumen, en múltiples tumores y trastornos del tracto gastrointestinal, tales como el síndrome del intestino alérgico, se encuentra expresión o activación anormal de RET. Por tanto, los inhibidores de RET tienen valor clínico potencial en tumores y enfermedades de trastornos del tracto gastrointestinal.

Sumario

55 La invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

La presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



en donde,

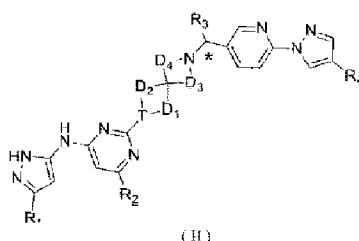
- 5 R₁ se selecciona de H, F, Cl, Br, I y alquilo C₁₋₆, y el alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_a;
 R₂ se selecciona de H, F, Cl, Br, I y alquilo C₁₋₆, y el alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_b;
 R₃ se selecciona de H, F, Cl, Br, I y alquilo C₁₋₆, y el alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_c;
 10 R₄ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂ y alquilo C₁₋₃, y el alquilo C₁₋₃ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_d;
 D₁ es -CH₂CH₂- opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_e;
 15 D₂ es -CH₂CH₂- opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_f;

D₃ se selecciona de -CH₂- y , y el -CH₂- está opcionalmente sustituido con 1 ó 2 R_g;

- 20 D₄ se selecciona de -CH₂CH₂- y -CH₂CH₂CH₂-, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_h;
 R_a, R_b, R_c y R_d se seleccionan independientemente de F, Cl, Br, I, OH, NH₂ y CH₃;
 25 R_e, R_f, R_g y R_h se seleccionan independientemente de F, Cl, Br, I y CH₃;

un átomo de carbono con "*" es un átomo de carbono quiral, que está presente en forma de enantiómero individual (R) o (S) o en una forma enantiómera enriquecida.

- 30 La presente divulgación también proporciona un compuesto de fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,



35 en donde,

T se selecciona de CH y N,

- 40 R₁ se selecciona de H, F, Cl, Br, I y alquilo C₁₋₆, y el alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_a;
 R₂ se selecciona de H, F, Cl, Br, I y alquilo C₁₋₆, y el alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_b;
 R₃ se selecciona de H, F, Cl, Br, I y alquilo C₁₋₆, y el alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_c;
 45 R₄ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂ y alquilo C₁₋₃, y el alquilo C₁₋₃ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_d;
 D₁ es -CH₂CH₂- opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_e;

D₂ es -CH₂CH₂- opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_i;

D₃ se selecciona de -CH₂- y , y el -CH₂- está opcionalmente sustituido con 1 ó 2 R_g;

- 5 D₄ se selecciona de -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂- y -O-CH₂CH₂-, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_h;

R_a, R_b, R_c y R_d se seleccionan independientemente de F, Cl, Br, I, OH, NH₂ y CH₃;

- 10 R_e, R_f, R_g y R_h se seleccionan independientemente de F, Cl, Br, I y CH₃;

un átomo de carbono con "*" es un átomo de carbono quiral, que está presente en forma de enantiómero individual (R) o (S) o una forma enantiomérica enriquecida.

- 15 En algunas realizaciones de la presente divulgación, en el compuesto, o en su sal farmacéuticamente aceptable, en donde R₁ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH₃, CH₂CH₃,  y , y el CH₃, CH₂CH₃,  y  están opcionalmente sustituidos con 1, 2 ó 3 R_a, y otras variables son como se definen en el presente documento.

- 20 En algunas realizaciones de la presente divulgación, R₁ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH₃, CF₃, CH₂CH₃, CH₂CF₃, ,  y  y otras variables son como se definen en el presente documento.

En algunas realizaciones de la presente divulgación, R₁ es CH₃ y otras variables son como se definen en el presente documento.

- 25 En algunas realizaciones de la presente divulgación, R₂ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH₃, CH₂CH₃,  y , en donde CH₃, CH₂CH₃,  y  están opcionalmente sustituidos con 1, 2 ó 3 R_b y otras variables son como se definen en el presente documento.

- 30 En algunas realizaciones de la presente divulgación, R₂ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH₃, CF₃, CH₂CH₃, CH₂CF₃, ,  y  y otras variables son como se definen en el presente documento.

En algunas realizaciones de la presente divulgación, R₂ es CH₃ y otras variables son como se definen en el presente documento.

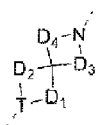
- 35 En algunas realizaciones de la presente divulgación, R₃ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH₃, CH₂CH₃,  y , en donde CH₃, CH₂CH₃,  y  están opcionalmente sustituidos con 1, 2 ó 3 R_c y otras variables son como se definen en el presente documento.

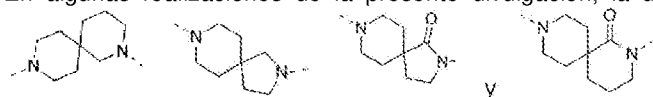
- 40 En algunas realizaciones de la presente divulgación, R₃ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH₃, CF₃, CH₂CH₃, CH₂CF₃, ,  y  y otras variables son como se definen en el presente documento.

En algunas realizaciones de la presente divulgación, R₃ es CH₃ y otras variables son como se definen en el presente documento.

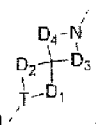
- 45 En algunas realizaciones de la presente divulgación, R₄ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH₃, CF₃, CH₂CH₃, CH₂CF₃, ,  y  y otras variables son como se definen en el presente documento.

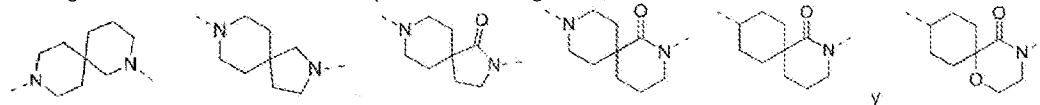
- 50 En algunas realizaciones de la presente divulgación, R₄ es F, y otras variables son como se definen en el presente documento.

En algunas realizaciones de la presente divulgación, la unidad de estructura  se selecciona de

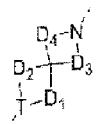


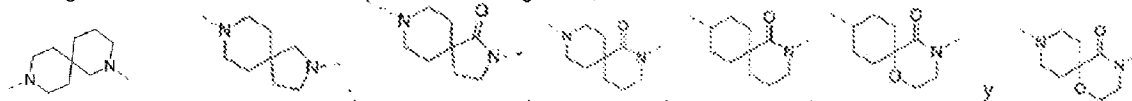
y otras variables son como se definen en el presente documento.

5 En algunas realizaciones de la presente divulgación, la unidad de estructura  se selecciona de



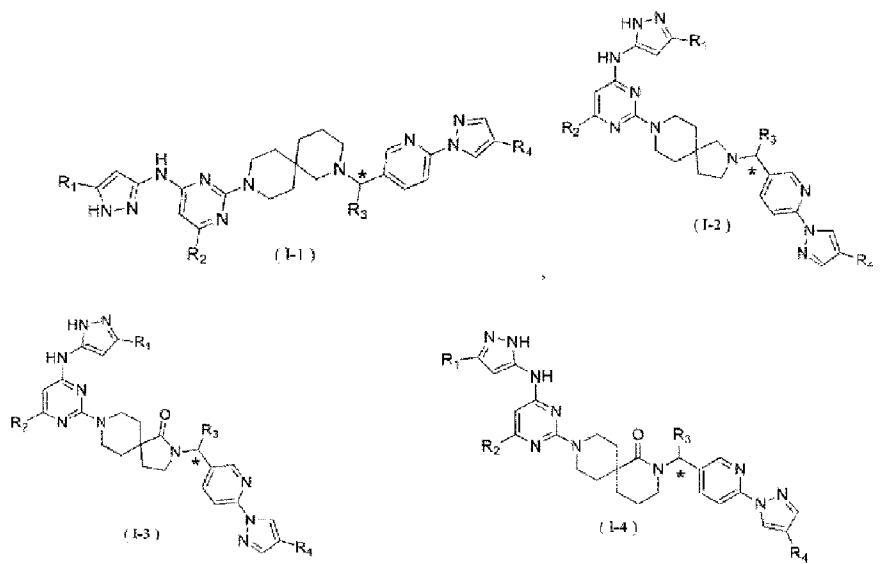
y otras variables son como se definen en el presente documento.

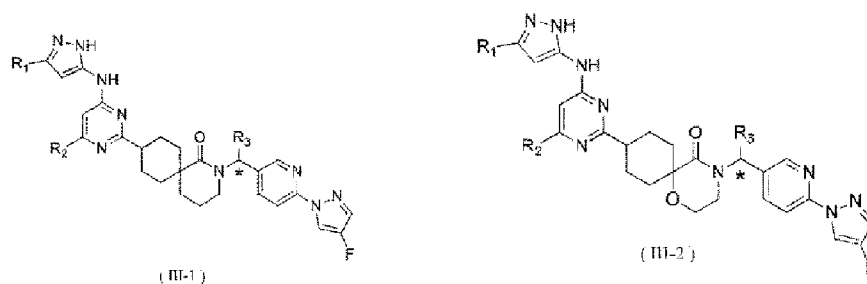
En algunas realizaciones de la presente divulgación, la unidad de estructura  se selecciona de



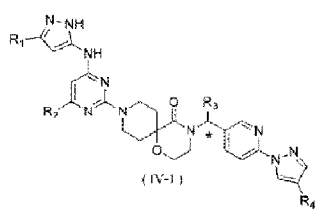
10 otras variables son como se definen en el presente documento.

En algunas realizaciones de la presente divulgación, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se selecciona de





y



5

en donde, R₁, R₂, R₃ y R₄ son como se definen en el presente documento.

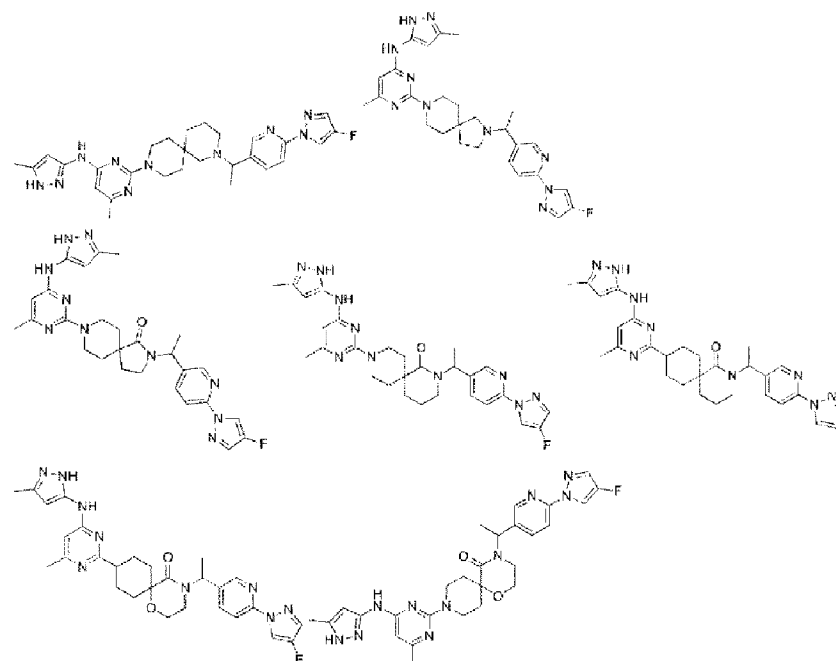
10

un átomo de carbono con "*" es un átomo de carbono quiral, que está presente en forma de enantiómero individual (R) o (S) o en una forma enantiómera enriquecida.

La presente divulgación también proporciona algunas realizaciones que están formadas por cualquier combinación de las variables anteriores.

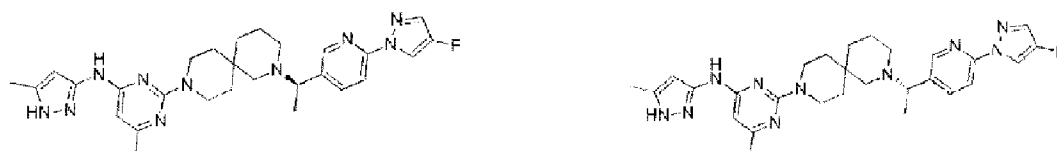
15

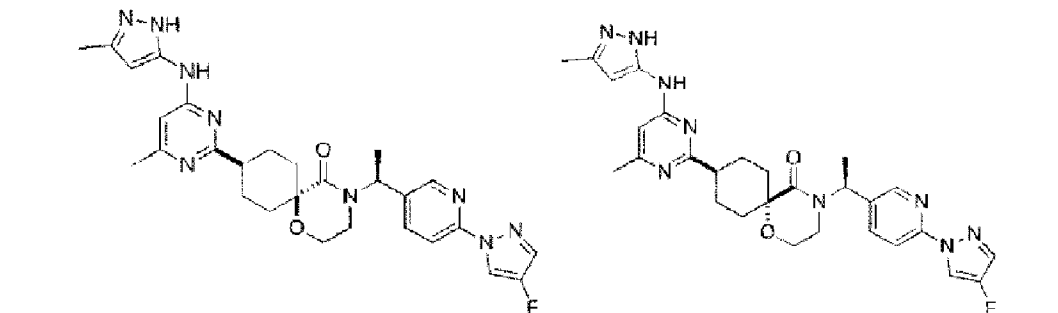
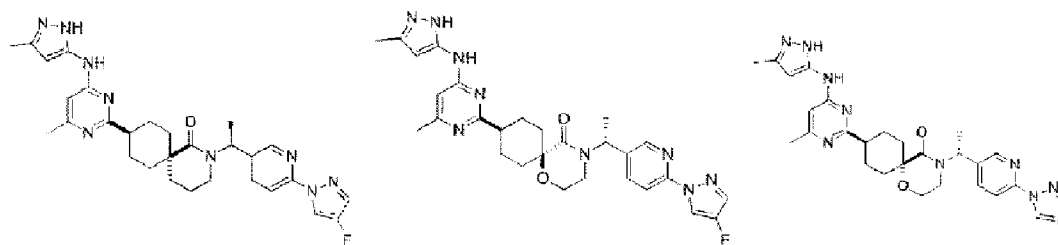
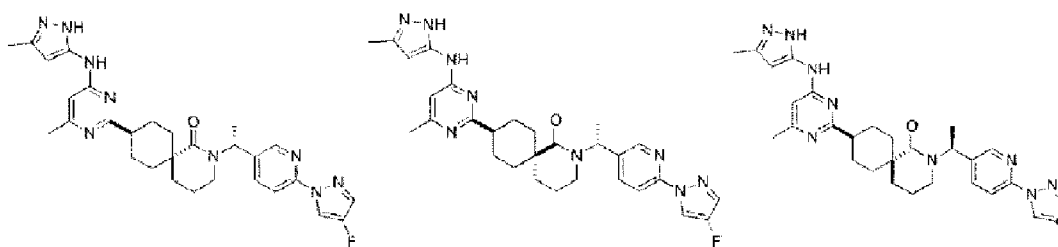
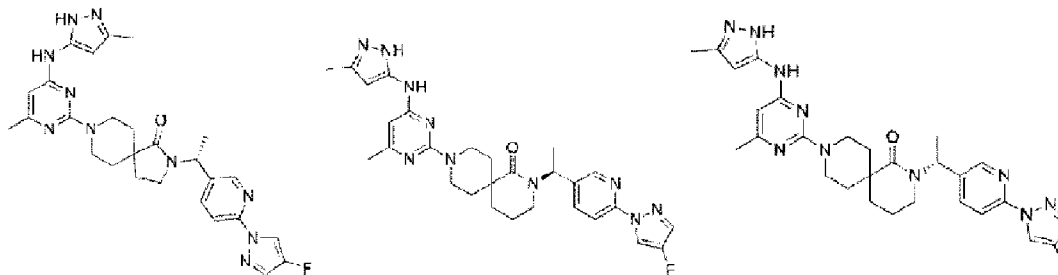
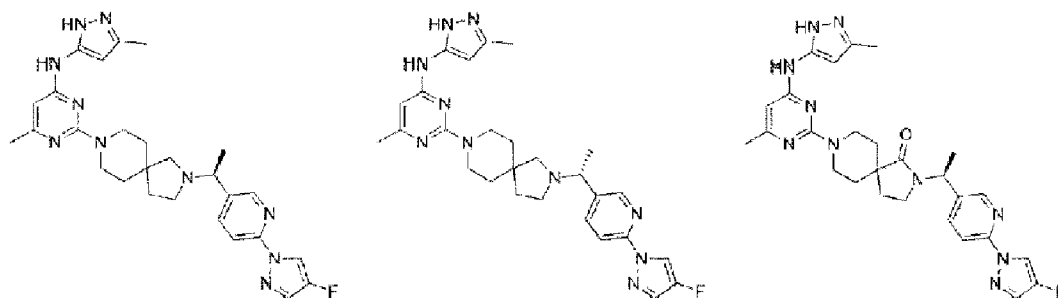
La presente divulgación también proporciona un compuesto como se muestra en las siguiente fórmulas, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



20

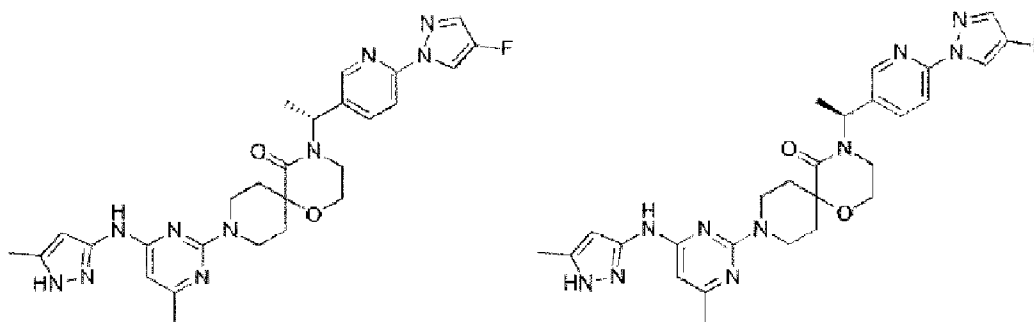
La presente divulgación también proporciona un compuesto como se muestra en las siguientes fórmulas, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:





5

10



La presente divulgación también proporciona una composición farmacéutica, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto anterior, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable

La presente divulgación también proporciona el uso del compuesto anterior, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o la composición anterior en la preparación de un inhibidor de la quinasa RET.

Definiciones e ilustración

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos, expresiones y frases usados en la presente memoria pretenden tener los siguientes significados. Un término, expresión o frase específica no debe considerarse indefinido o poco claro sin definiciones particulares, y debe entenderse según significados comunes. Los nombres comerciales en la presente memoria indican sus correspondientes productos o su ingrediente activo.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" usada en el presente documento significa que los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación son adecuados para su uso en contacto con tejidos humanos y animales dentro del alcance de un criterio médico fiable, sin excesiva toxicidad, irritación, reacciones alérgicas u otros problemas o complicaciones, y según una relación beneficio/riesgo razonable.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal de un compuesto de la presente divulgación, que se prepara a partir de un compuesto que tiene un sustituyente específico de la presente divulgación y un ácido o álcali relativamente no tóxico. Cuando los compuestos de la presente divulgación contienen grupos funcionales relativamente ácidos, se puede obtener una sal de adición de álcali poniendo en contacto una cantidad suficiente de álcali con formas neutras de tales compuestos en una solución pura o un disolvente inerte apropiado. Las sales de adición de álcali farmacéuticamente aceptables incluyen sales de sodio, potasio, calcio, amonio, amina orgánica o magnesio, o sales similares. Cuando los compuestos de la divulgación contienen grupos funcionales relativamente alcalinos, se puede obtener una sal de adición de ácido poniendo en contacto una cantidad suficiente de ácido con las formas neutras de tales compuestos en una solución pura o un disolvente inerte apropiado. Los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen sales de ácidos inorgánicos, por ejemplo ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido carbónico, bicarbonato, ácido fosfórico, monohidrógeno-fosfato, dihidrógeno-fosfato, ácido sulfúrico, hidrógeno-sulfato, ácido yodhídrico y ácido fosforoso, y similares; y sales de ácidos orgánicos, que incluyen, por ejemplo, ácidos similares tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido isobutírico, ácido maleico, ácido malónico, ácido benzoico, ácido succínico, ácido octanodioico, ácido fumárico, ácido láctico, ácido mandélico, ácido ftálico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido cítrico, ácido tartárico y ácido metanosulfónico, y similares; también incluyen sales de aminoácidos (tales como arginina); y sales de ácidos orgánicos tales como ácido glucurónico. Algunos compuestos particulares de la presente divulgación contienen grupos funcionales alcalinos y ácidos, para convertirse en una cualquiera de las sales de adición de ácidos o álcalis.

La sal farmacéuticamente aceptable de la presente divulgación puede sintetizarse mediante compuestos originales que contienen radicales ácidos o grupos alcalinos usando un método químico convencional. En general, el método de preparación de tal sal es como sigue: se hacen reaccionar los compuestos que tienen forma ácida o alcalina libre con álcalis o ácidos apropiados en cantidad estequiométrica en agua o un disolvente orgánico o una mezcla de ambos.

La estructura del compuesto de la presente divulgación puede confirmarse mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica. Si la presente divulgación se refiere a una configuración absoluta de un compuesto, la configuración absoluta puede confirmarse por medios técnicos convencionales en la técnica. Por ejemplo, difracción de rayos X de monocristal (SXRD), los datos de la intensidad de difracción del monocristal cultivado se recogen mediante un instrumento de difracción Bruker D8 Venture, la fuente de luz es radiación CuK α , la manera de exploración es exploración ϕ/ω , y después de recoger los datos relevantes la

estructura cristalina se analiza usando un método directo (Shelxs97) para confirmar la configuración absoluta.

El compuesto de la presente divulgación puede tener formas geométricas o estereoisómeras particulares. En la presente divulgación, se concibe que todos estos compuestos incluyen isómeros cis y trans, enantiómeros (-) y (+), enantiómeros (R) y (S), diastereómeros, isómeros (D), isómeros (L), y sus mezclas racémicas y otras mezclas, por ejemplo una mezcla enriquecida de enantiómeros o diastereómeros, todas estas mezclas caen dentro del alcance de la presente divulgación. Los sustituyentes tales como alquilo pueden tener átomos de carbono asimétricos adicionales. Todos estos isómeros y sus mezclas están incluidos dentro del alcance de la presente descripción.

A menos que se indique lo contrario, el término "enantiómeros" o la expresión "isómeros ópticos" se refieren a estereoisómeros que están en una relación de imagen especular mutua.

A menos que se indique lo contrario, el término "isómero cis-trans" o "isómero geométrico" está causado por el hecho de que un doble enlace o un enlace sencillo de un átomo de carbono formador de anillo no pueden girar libremente.

A menos que se indique lo contrario, el término "diastereoisómero" se refiere a un estereoisómero en donde la molécula tiene dos o más centros quirales, y la relación entre las moléculas es una imagen no especular.

A menos que se indique lo contrario, "(D)" o "(+)" representan dextrorrotación, "(L)" o "(-)" representan levorrotación, "(DL)" o "(±)" representan racemización.

A menos que se indique lo contrario, para representar la configuración absoluta del estereocentro se usan un enlace en forma de línea continua conformada en cuña () y un enlace en forma de línea discontinua conformada en cuña () para representar la configuración relativa del estereocentro se usan un enlace en forma de línea continua recta () y un enlace en forma de línea discontinua recta () y una línea ondulada () se usa para representar un enlace en forma de línea continua conformado en cuña () o un enlace en forma de línea discontinua conformado en cuña () o la línea ondulada () se usa para representar el enlace en forma de línea recta continua () y el enlace en forma de línea recta discontinua ()

El compuesto de la presente divulgación puede existir en una forma específica. A menos que se indique lo contrario, el término "tautómero" o la expresión "forma tautómera" significan que diferentes isómeros funcionales están en equilibrio dinámico a temperatura ambiente y pueden transformarse rápidamente entre sí. Si el tautómero es posible (por ejemplo, en solución), se puede lograr el equilibrio químico del tautómero. Por ejemplo, un tautómero protónico (también denominado tautómero prototrópico) incluye la transformación mutua a través de la migración de protones, tal como la isomerización ceto-enol y la isomerización imina-enamina. Un tautómero de valencia incluye transformación mutua realizada por recombinación de algunos electrones del enlace. El ejemplo específico de la isomerización ceto-enol es la transformación mutua entre dos tautómeros, a saber, pentano-2,4-diona y 4-hidroxipent-3-en-2-ona. El ejemplo específico de la isomerización imina-enamina es



A menos que se indique lo contrario, las expresiones "enriquecer un isómero", "enriquecimiento de un isómero", "enriquecer un enantiómero" o "enriquecimiento de un enantiómero" significan que el contenido de un isómero o enantiómero es menor del 100%, y el contenido del isómero o enantiómero es mayor o igual al 60%, o mayor o igual al 70%, o mayor o igual al 80%, o mayor o igual al 90%, o mayor o igual al 95%, o mayor o igual al 96%, o mayor o igual al 97%, o mayor o igual al 98%, o mayor o igual al 99%, o mayor o igual al 99,5%, o mayor o igual al 99,6%, o mayor o igual al 99,7%, o mayor o igual al 99,8%, o mayor o igual al 99,9%.

A menos que se indique lo contrario, la expresión "exceso isomérico" o "exceso enantiomérico" se refiere a la diferencia entre los porcentajes relativos de dos isómeros o dos enantiómeros. Por ejemplo, si el contenido de un isómero o enantiómero es del 90% y el contenido del otro isómero o enantiómero es del 10%, el valor del exceso isomérico o enantiomérico (valor ee) es del 80%.

Los isómeros ópticamente activos (R) y (S) y D y L pueden prepararse mediante síntesis quiral o reactivos quirales u otras técnicas convencionales. Si se desea obtener un enantiómero de un compuesto de la presente descripción, el enantiómero se puede preparar por síntesis asimétrica o derivatización con agentes auxiliares quirales, que comprende separar la mezcla diastereómera resultante y escindir el grupo auxiliar para obtener el enantiómero puro deseado. Alternativamente, cuando la molécula contiene un grupo funcional alcalino (tal como amino) o un grupo funcional ácido (tal como carboxilo), junto con un ácido o álcali ópticamente activo

apropiado forma una sal diastereómera, los diastereoisómeros se resuelven mediante un método convencional conocido en la técnica, y los enantiómeros puros se recuperan y obtienen. Además, la separación de enantiómeros y diastereómeros se realiza normalmente usando cromatografía con una fase estacionaria quiral, y opcionalmente combinada con un método de derivatización química (por ejemplo, se forma un carbamato a partir de una amina).

El compuesto de la presente divulgación puede contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más átomos que constituyen este compuesto. Por ejemplo, los compuestos pueden marcarse con radioisótopos, tales como tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I) o C-14 (^{14}C). De nuevo, por ejemplo, el hidrógeno puede sustituirse por hidrógeno pesado para formar un fármaco deuterado. El enlace que consiste en deuterio y carbono es más firme que el enlace formado por hidrógeno y carbono ordinarios. En comparación con un fármaco no deuterado, el fármaco deuterado tiene las ventajas de efectos tóxicos y secundarios reducidos, mayor estabilidad del fármaco, eficacia curativa potenciada y semivida biológica prolongada. Las transformaciones en todos los isótopos del compuesto de la presente divulgación, ya sean radiactivas o no, están incluidas en el alcance de la presente descripción.

"Opcional" u "opcionalmente" significa que los eventos o condiciones descritos posteriormente ocurren posible pero innecesariamente, y esta descripción incluye una situación en la cual ocurre el evento o condición y una situación en la cual no ocurre el evento o condición.

El término "sustituido" significa que uno cualquiera o más átomos de hidrógeno en un átomo particular están sustituidos con sustituyentes, y se pueden incluir variantes de deuterio e hidrógeno, siempre que la valencia del átomo particular sea normal y el compuesto sustituido sea estable. Cuando el sustituyente es oxígeno (es decir, $=\text{O}$), significa que dos átomos de hidrógeno están sustituidos. La sustitución de oxígeno no se produce en los grupos aromáticos. La expresión "opcionalmente sustituido" significa que puede estar sustituido o no. A menos que se especifique lo contrario, el tipo y número de sustituyentes pueden variar aleatoriamente siempre que sean químicamente alcanzables.

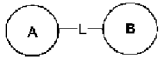
Cuando cualquier variable (por ejemplo R) aparece más de una vez en la composición o estructura de un compuesto, su definición es independiente en cada caso. Así, por ejemplo, si un grupo está sustituido con 0-2 R, el grupo puede estar opcionalmente sustituido con como máximo dos R, y el sustituyente R se selecciona independientemente en cada caso. Además, las combinaciones de sustituyentes y/o variantes de los mismos son permisibles solo si tales combinaciones pueden generar compuestos estables.

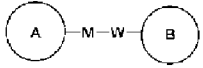
Cuando el número de un grupo de unión es 0, tal como $-(\text{CRR})_0$, significa que este grupo de unión es un enlace sencillo.

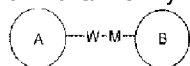
Cuando una de las variables se selecciona de un enlace sencillo, significa que los dos grupos unidos de ese modo están unidos directamente. Por ejemplo, cuando L en A-L-Z representa el enlace sencillo, esta estructura es realmente A-Z.

Cuando un sustituyente está ausente, significa que el sustituyente no existe. Por ejemplo, cuando X en A-X está ausente, significa que la estructura es realmente A.

Cuando el grupo de enlace enumerado no indica su dirección de enlace, la dirección de enlace es arbitraria,

por ejemplo, cuando el grupo de enlace L en  es -M-W-, -M-W- puede unir el anillo A y el anillo

B en la misma dirección que la secuencia de lectura de izquierda a derecha para formar , o unir el anillo A y el anillo B en el sentido opuesto a la secuencia de lectura de izquierda a derecha para formar



La combinación de los grupos de enlace, sustituyentes y/o variantes de los mismos puede ser permisible solo si dicha combinación puede generar un compuesto estable.

A menos que se especifique lo contrario, la expresión "alquilo C_{1-6} " se usa para representar un grupo hidrocarburo saturado lineal o ramificado compuesto de 1-6 átomos de carbono. El alquilo C_{1-6} incluye alquilo C_{1-5} , alquilo C_{1-4} , alquilo C_{1-3} , alquilo C_{1-2} , alquilo C_{2-6} , alquilo C_{2-4} , alquilo C_6 y alquilo C_5 . El alquilo C_{1-6} puede ser monovalente (tal como metilo), divalente (tal como metileno) o multivalente (tal como metino). Los ejemplos de alquilo C_{1-6} incluyen, pero no se limitan a, metilo (Me), etilo (Et), propilo (que incluye n-propilo e isopropilo), butilo (que incluye n-butilo, isobutilo, s-butilo y t-butilo), pentilo (que incluyen n-pentilo, isopentilo y neopentilo) y hexilo, y similares.

A menos que se especifique lo contrario, la expresión "alquilo C_{1-3} " se usa para representar un grupo hidrocarbonado saturado lineal o ramificado compuesto de 1-3 átomos de carbono. El alquilo C_{1-3} incluye alquilo

C₁₋₂ y alquilo C₂₋₃. El alquilo C₁₋₃ puede ser monovalente (tal como metilo), divalente (tal como metileno) o multivalente (tal como metino). Ejemplos de alquilo C₁₋₃ incluyen, pero no se limitan a, metilo (Me), etilo (Et) y propilo (incluyendo n-propilo e isopropilo), y similares.

A menos que se especifique lo contrario, C_{n-n+m} o C_n-C_{n+m} incluye cualquier condición específica de n a n+m carbonos, por ejemplo, C₁₋₁₂ incluye C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁ y C₁₂, también incluye cualquier intervalo de n a n+m, por ejemplo, C₁₋₁₂ incluye C₁₋₃, C₁₋₆, C₁₋₉, C₃₋₆, C₃₋₉, C₃₋₁₂, C₆₋₉, C₆₋₁₂ y C₉₋₁₂. De manera similar, miembro n a miembro n+m significa que el número de átomos en el anillo es de n a n+m, por ejemplo, el anillo de 3-12 miembros incluye un anillo de 3 miembros, un anillo de 4 miembros, un anillo de 5 miembros, un anillo de 6 miembros, un anillo de 7 miembros, un anillo de 8 miembros, un anillo de 9 miembros, un anillo de 10 miembros, un anillo de 11 miembros y un anillo de 12 miembros, y también incluye cualquier intervalo de n a n+m, por ejemplo, el anillo de 3-12 miembros incluye un anillo de 3-6 miembros, un anillo de 3-9 miembros, un anillo de 5-6 miembros, un anillo de 5-7 miembros, un anillo de 6-7 miembros, un anillo de 6-8 miembros y un anillo de 6-10 miembros.

A menos que se especifique lo contrario, el término "halo" o "halógeno" solo o como parte de otro sustituyente representa un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

La expresión "grupo saliente" se refiere a un grupo funcional o un átomo que puede estar sustituido con otro grupo funcional o átomo a través de una reacción de sustitución (por ejemplo, reacción de sustitución por afinidad). Por ejemplo, los grupos salientes representativos incluyen trifluorometanosulfonato; cloro, bromo y yodo; grupos sulfonato tales como mesilato, tosilato, p-bromobencenosulfonato, p-toluenosulfonato; grupos aciloxi, tales como acetoxi y trifluoroacetoxi.

La expresión "grupo protector" incluye, pero no se limita a, "grupo protector de amino", "grupo protector de hidroxilo" o "grupo protector de tiol". La expresión "grupo protector de amino" se refiere a un grupo protector adecuado para prevenir una reacción secundaria en una posición de nitrógeno del grupo amino. Los grupos protectores de amino representativos incluyen, pero no se limitan a, formilo; acilo, tal como alcanilo (tales como acetilo, tricloroacetilo o trifluoroacetilo); alcóxicarbonilo, tal como terc-butoxicarbonilo (Boc); arilmetiloxycarbonilo, tal como benciloxycarbonilo (Cbz) y 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc); arilmetilo, tal como bencilo (Bn), tritilo (Tr), 1,1-di-(4'-metoxifenil)metilo; sililo, tal como trimetilsililo (TMS) y terc-butildimetilsililo (TBS), y similares. La expresión "grupo protector de hidroxilo" se refiere a un grupo protector adecuado para prevenir una reacción secundaria del grupo hidroxilo. Los grupos protectores de hidroxilo representativos incluyen, pero no se limitan a, alquilo, tal como metilo, etilo y terc-butilo; acilo, tal como alcanilo (tal como acetilo); arilmetilo, tal como bencilo (Bn), p-metoxibencilo (PMB), 9-fluorenilmetilo (Fm) y difenilmetilo (DPM); sililo, tal como trimetilsililo (TMS) y terc-butil-dimetilsililo (TBS), y similares.

El compuesto de la presente divulgación puede prepararse mediante diversos métodos sintéticos bien conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo las realizaciones específicas enumeradas a continuación, las realizaciones formadas combinando las realizaciones específicas enumeradas a continuación con otros métodos de síntesis química, y maneras de sustitución equivalentes bien conocidas por los expertos en la técnica. Las realizaciones preferidas incluyen, pero no se limitan a, las realizaciones de la presente divulgación.

Los disolventes usados en la presente divulgación están disponibles comercialmente. En la presente divulgación se usan las siguientes abreviaturas: eq significa cantidad equivalente o cantidad igual; M significa mol/L; DMSO significa dimetilsulfóxido; EtOH significa etanol; Boc significa terc-butoxicarbonilo; TFA significa ácido trifluoroacético; p.o. significa administración oral; BID significa administración dos veces al día.

Los compuestos se nombran según principios de denominación convencionales en la técnica o usando el software ChemDraw® y los compuestos comercialmente disponibles se nombran basándose en el nombre del catálogo del proveedor.

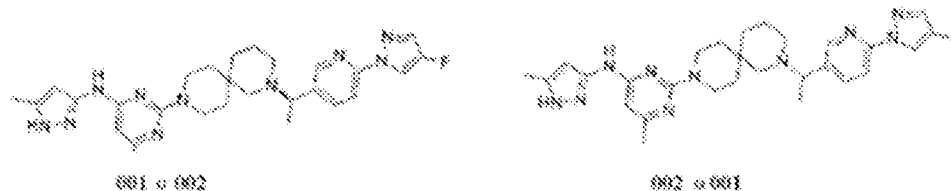
Efecto técnico

El compuesto de la presente divulgación muestra buena actividad inhibidora contra RET de tipo silvestre y el mutante V804M. El compuesto de la presente divulgación tiene una excelente propiedad farmacocinética.

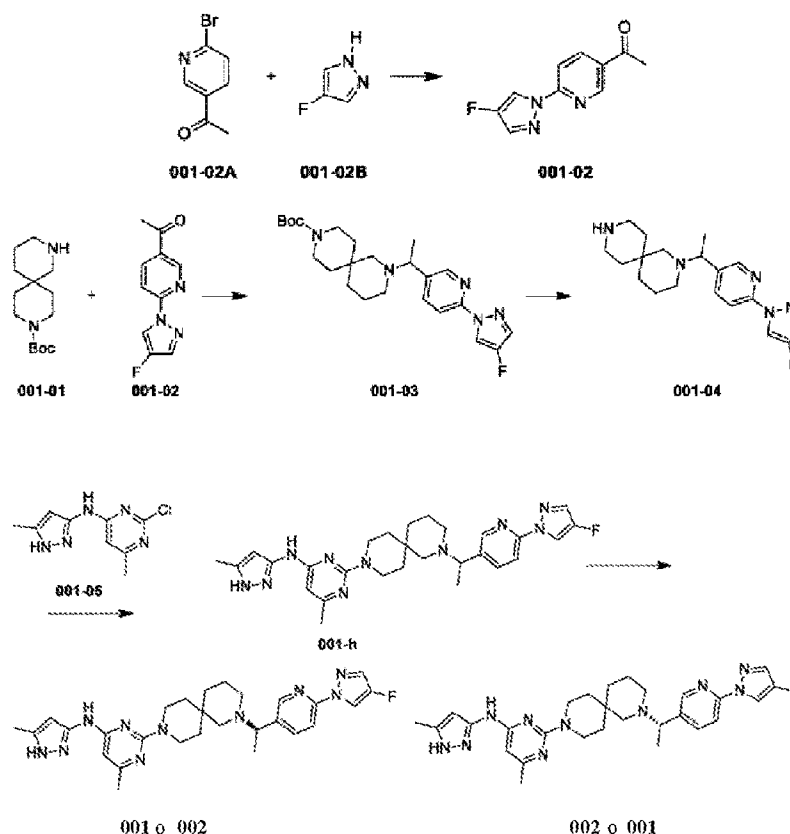
Descripción detallada

La presente divulgación se describirá en detalle a través de los ejemplos a continuación, pero no se pretende limitar adversamente la presente divulgación. La presente divulgación se ha descrito en detalle en el presente documento, en el cual también se han divulgado las realizaciones específicas de la misma. Para los expertos en la técnica, será obvio realizar diversas variaciones y mejoras a las realizaciones específicas de la presente divulgación sin apartarse del alcance de la presente invención como se define en las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo 1



Ruta sintética:



Etapa 1: síntesis del compuesto 001-02

001-02B (473,30 mg, 5,50 mmoles, 1,1 eq), 001-02A (1,0 g, 5,00 mmoles, 4,99 mL, 1,0 eq), carbonato de potasio (1,73 g, 12,50 mmoles, 2,5 eq) y N,N-dimetilformamida (2 mL) se añadieron a un matraz y se agitaron a 90 °C durante 16 h. La solución de reacción se diluyó con 5 mL de diclorometano y se filtró, el sólido se empapó en 5 mL de diclorometano, y la solución obtenida se agitó a 50 °C durante 15 min y se filtró en caliente, y los dos filtrados se combinaron y se concentraron, se diluyeron con 20 mL de acetato de etilo, y se lavaron con 20 mL de sulfato de sodio saturado tres veces. La fase orgánica se secó con sulfato sódico anhidro durante 30 min y se secó mediante un método de centrifugación para obtener el compuesto 001-02.

Etapa 2: síntesis del compuesto 001-3

001-01 (150 mg, 731,04 μmoles, 1 eq), 001-02 (278,93 mg, 1,10 mmoles, 1,5 eq), tetraisopropóxido de titanio (2 mL), cianoborohidruro de sodio (229,70 mg, 3,66 mmoles, 5,0 eq) y etilenglicol dimetil éter (10 mL) se añadieron a un matraz de 10 mL y se agitaron a 70 °C durante 10 h. Se añadieron 20 mL de agua, las sustancias insolubles se eliminaron por filtración, el filtrado se separó para obtener una fase orgánica, la fase orgánica se secó mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (acetato de etilo:éter de petróleo = 0-33%) para obtener el compuesto 001-03. LCMS: MS (ESI) m/z: 444,2 [M+1]⁺.

Etapa 3: síntesis del compuesto 001-04

001-03 (160 mg, 338,18 μ moles, 1 eq) se añadió a un matraz de 50 mL, se añadió cloruro de hidrógeno/dioxano (1 mL) y la solución de reacción se agitó a 25 °C durante 6 h. La solución de reacción se secó mediante un método de centrifugación para obtener el producto 001-04 bruto. LCMS: MS (ESI) m/z: 344,1 [M+1]⁺,

Etapa 4: síntesis del compuesto 001 y el compuesto 002

001-05 (50 mg, 223,55 μ moles, 1,0 eq), 001-04 (115,17 mg, 335,33 μ moles, 1,5 eq), diisopropiletilamina (130,01 mg, 1,01 mmoles, 175,22 μ L, 4,5 eq) e isopropanol (2 mL) se añadieron a un matraz de 50 mL y se sometieron a reacción de microondas durante 1 h a 120 °C. La solución de reacción se secó mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó inicialmente por cromatografía en columna (metanol:diclorometano = 0-5%) para obtener 001-h, y 001-h se separó mediante una columna preparativa quiral (columna cromatográfica: DAICEL CHIRALPAK AS (250 mm $\times$ 30 mm, 10 μ m); fase móvil: [A: CO₂, B: 0,1% de amoníaco en agua y etanol]; B%: 50%-50%) para obtener compuestos diana, concretamente el compuesto 001 y el compuesto 002.

Compuesto 001 (posición del pico: 0,949 min)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,16-1,46 (m, 5H), 1,55 (br s, 3H), 1,67 (br s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,31 (s, 2H), 2,36 (br s, 2H), 2,64 (br s, 1H), 3,44-3,68 (m, 3H), 3,71-3,86 (m, 2H), 4,64 (s, 2H), 6,06 (br s, 1H), 6,22 (br s, 1H), 7,68 (d, J = 4,27 Hz, 1H), 7,89-7,98 (m, 2H), 8,40 (s, 1H), 8,50 (d, J = 4,27 Hz, 1H).

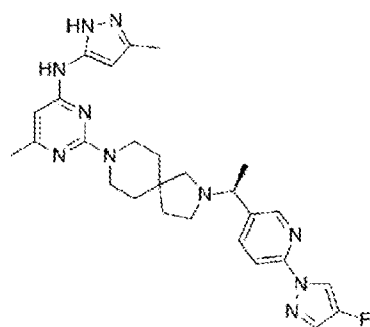
LCMS: MS (ESI) m/z: 531,1 [M+1]⁺.

Compuesto 002 (posición del pico: 2,405 min)

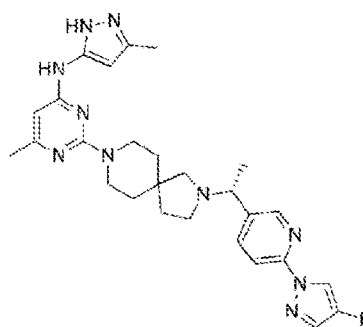
¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,16-1,46 (m, 5H), 1,55 (br s, 3H), 1,67 (br s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,31 (s, 2H), 2,36 (br s, 2H), 2,64 (br s, 1H), 3,44-3,68 (m, 3H), 3,71-3,86 (m, 2H), 4,64 (s, 2H), 6,06 (br s, 1H), 6,22 (br s, 1H), 7,68 (d, J = 4,27 Hz, 1H), 7,89-7,98 (m, 2H), 8,40 (s, 1H), 8,50 (d, J = 4,27 Hz, 1H).

LCMS: MS (ESI) m/z: 531,1 [M+1]⁺,

Ejemplo 2

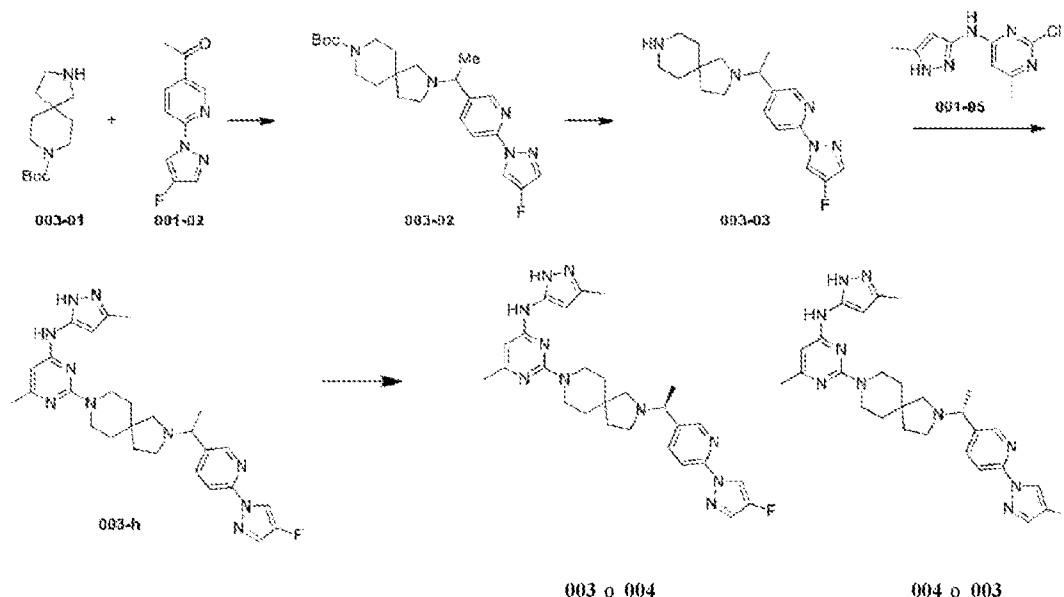


003 o 004



004 o 003

Ruta sintética:



5

Etapa 1: síntesis del compuesto 003-02

El compuesto 001-02 (200 mg, 832,15 μ moles, 1,5 eq), 003-01 (113,83 mg, 554,77 μ moles, 1 eq) y cianoborohidruro de sodio (104,59 mg, 1,66 mmoles, 3 eq) se añadieron a una mezcla de titanato de tetraisopropilo (5 mL) y dicloroetano (5 mL), el aire en el sistema de reacción se evacuó y se cargó nitrógeno para protección, y la solución de reacción se agitó a 70 °C durante 3,5 h. Se añadieron 20 mL de agua, las sustancias insolubles se eliminaron por filtración, el filtrado se separó para obtener una fase orgánica y la fase orgánica se secó por un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por una columna de cromatografía (diclorometano/metanol = 1/0 a 20/1) para obtener el compuesto 003-02. LCMS (ESI) m/z: 430,2 [M+1]⁺.

Etapa 2: síntesis del compuesto 003-03

El compuesto 003-02 (220 mg, 512,19 μ moles, 1 eq) se añadió a diclorometano (2,5 mL), se añadió ácido trifluoroacético (1,36 g, 11,89 mmoles, 880,00 μ L, 23,21 eq), y la solución de reacción se agitó a 25 °C durante 1,5 h. La solución de reacción se secó directamente mediante un método de centrifugación, se añadieron 10 mL de diclorometano, y la solución de reacción se secó mediante un método de centrifugación, y las operaciones anteriores se repitieron tres veces. El compuesto 003-03 se obtuvo sin purificación adicional. LCMS (ESI) m/z: 330,1 [M+1]⁺.

Etapa 2: síntesis del compuesto 003 y el compuesto 004

El compuesto 003-03 (120 mg, 364,28 μ moles, 2 eq) y el compuesto 001-05 (40,74 mg, 182,14 μ moles, 1 eq) se añadieron a n-butanol (3 mL), se añadió N,N-diisopropiletilamina (1,11 g, 8,61 mmoles, 1,50 mL, 47,28 eq), y la solución de reacción se calentó a 130 °C y se agitó durante 16 h. La solución de reacción se secó directamente mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por una columna cromatográfica (diclorometano/metanol = 20/1) para obtener el compuesto 003-h. El compuesto 003-h se sometió a resolución quiral (columna: DAICEL CHIRALCEL OJ-H (250 mm x 30 mm, 5 μ m); fase móvil: [A: CO₂, B: 0,1% de amoníaco en agua y EtOH]; B%: 35%-35%), para obtener los compuestos diana, concretamente el compuesto 003 y el compuesto 004.

Compuesto 003 (posición del pico: 4,488 min)

LCMS (ESI) m/z: 517,1 [M+1]⁺

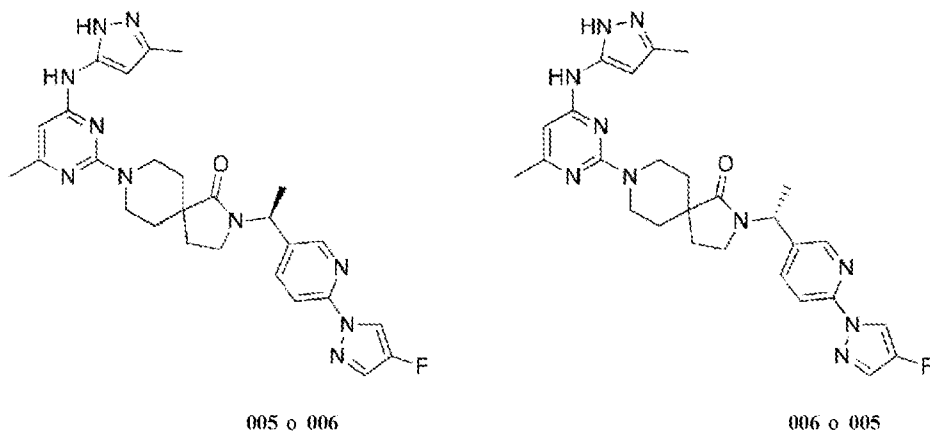
¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,45 (d, J = 6,53 Hz, 3H), 1,60 (q, J = 6,02 Hz, 4H), 1,70-1,82 (m, 2H), 2,19 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,40 (d, J=9,29 Hz, 1H), 2,47-2,62 (m, 2H), 2,72-2,83 (m, 1H), 3,57-3,71 (m, 2H), 3,73-3,93 (m, 2H), 6,04 (s, 1H), 5,92-6,08 (m, 1H), 6,15 (s, 1H), 7,69 (d, J=4,02 Hz, 1H), 7,86-8,02 (m, 2H), 8,39 (d, J=1,25 Hz, 1H), 8,51 (d, J=4,27 Hz, 1H).

Compuesto 004 (posición del pico: 4,755 min)

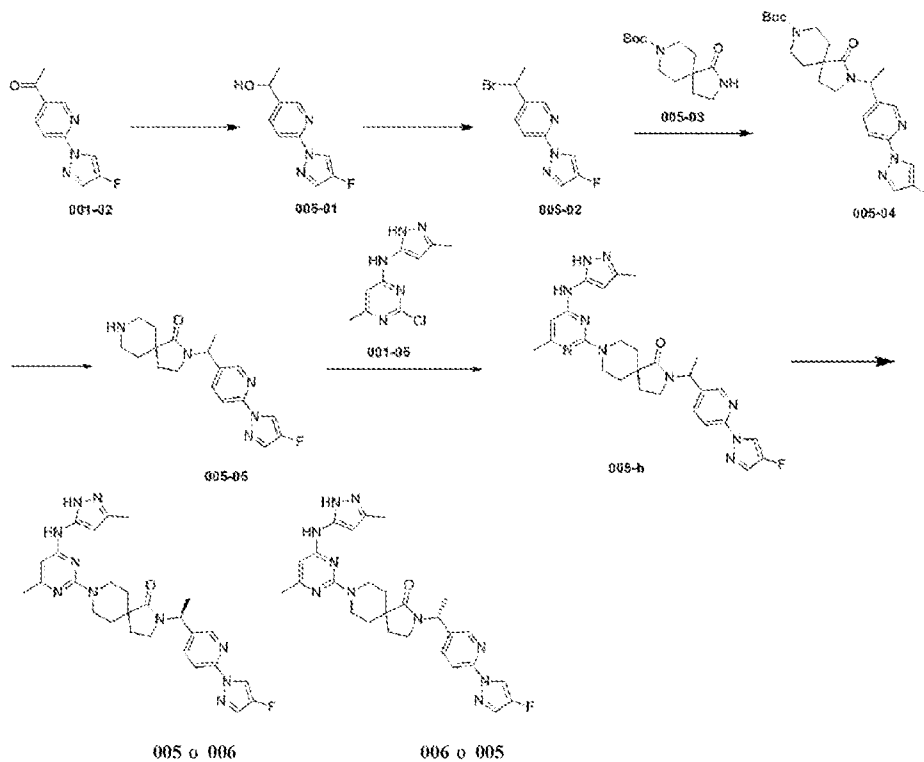
LCMS (ESI) m/z: 517,1 [M+1]⁺

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,45 (d, J = 6,53 Hz, 3H), 1,60 (q, J = 6,19 Hz, 4H), 1,69-1,81 (m, 2H), 2,19 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,39 (d, J=9,79 Hz, 1H), 2,45-2,60 (m, 2H), 2,73-2,83 (m, 1H), 3,60-3,70 (m, 2H), 3,73-3,93 (m, 2H), 6,04 (s, 1H), 5,92-6,08 (m, 1H), 6,14 (s, 1H), 7,67-7,72 (m, 1H), 7,89-8,00 (m, 2H), 8,39 (d, J=1,51 Hz, 1H), 8,51 (dd, J=4,52, 0,75 Hz, 1H).

Ejemplo 3



Ruta sintética:



Etapa 1: síntesis del compuesto 005-01

El compuesto 001-02 se disolvió en una mezcla de diclorometano (5 mL) y metanol (10 mL), se añadió borohidruro de sodio (276,57 mg, 7,31 mmoles, 3 eq) a 20 °C y la solución de reacción se hizo reaccionar durante 0,5 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida a 43 °C. El concentrado se disolvió en 30 mL de agua y 30 mL de diclorometano y se extrajo y, mientras tanto, la fase acuosa se extrajo con diclorometano (30 mL*3). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por una columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etilo = 3:1) para obtener el compuesto 005-01, para su uso en la siguiente etapa.

Etapa 2: síntesis del compuesto 005-02

El compuesto 005-01 se disolvió en diclorometano (5 mL), se añadió gota a gota dibromosulfóxido (5,02 g, 24,13 mmoles, 1,87 mL, 10 eq) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 50 °C durante 3 h. La solución de reacción se concentró a presión reducida a 43 °C. El concentrado se disolvió en 10 mL de diclorometano, y se concentró a presión reducida. Las operaciones anteriores se repitieron tres veces. El producto bruto resultante se purificó mediante una columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1) para obtener el compuesto 005-02. LCMS (ESI) m/z: 269,8 [M+1]⁺.

Etapa 3: síntesis del compuesto 005-04

El compuesto 005-03 (155,36 mg, 610,88 µmoles, 1,1 eq) e hidruro de sodio (26,65 mg, 666,42 µmoles, 60% de pureza, 1,2 eq) se añadieron a N,N-dimetilformamida (3 mL) a 0 °C, el aire en el sistema de reacción se evacuó y se cargó nitrógeno para protección, se añadió el compuesto 005-02 (150 mg, 555,35 µmoles, 1 eq) después de agitar la solución de reacción durante 10 min, y la solución de reacción se agitó durante 2,5 h a 20 °C. Se añadió agua a 10 mL de la solución de reacción, y se extrajo la fase acuosa tres veces con 10 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se recogió, se secó con sulfato sódico anhidro y se secó mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por una columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etilo = 3/1) para obtener el compuesto 005-04. LCMS (ESI) m/z: 344,3 [M-Boc+1]⁺.

Etapa 4: síntesis del compuesto 005-05

El compuesto 005-04 (100 mg, 225,47 µmoles, 1 eq) se añadió a diclorometano (5 mL), se añadió ácido trifluoroacético (2,57 g, 22,51 mmoles, 1,67 mL, 99,84 eq), y la solución de reacción se agitó a 25 °C durante 1,5 h. La solución de reacción se secó directamente mediante un método de centrifugación, se añadieron 10 mL de diclorometano para secar mediante un método de centrifugación y las operaciones anteriores se repitieron 3 veces. El compuesto 005-05 se obtuvo sin purificación adicional. LCMS (ESI) m/z: 344,4 [M+1]⁺.

Etapa 5: síntesis de los compuestos 005 y 006

El compuesto 005-05 (50 mg, 145,60 µmoles, 1 eq) y el compuesto 001-05 (32,57 mg, 145,60 µmoles, 1 eq) se añadieron a n-butanol (3 mL), se añadió N,N-diisopropiletilamina (742,00 mg, 5,74 mmoles, 1 mL, 39,43 eq), y la solución de reacción se calentó y se agitó a 130 °C durante 16 h. La solución de reacción se secó directamente mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por una columna de cromatografía de líquidos de alta resolución (columna: Waters Xbridge BEH C18 150*25 mm, 5 µm; fase móvil: [agua (bicarbonato de amonio 10 mM)-acetonitrilo]; % de acetonitrilo: 37%-67%, 9,5 min) para obtener el compuesto 005-h. El compuesto 005-h se separó por una columna preparativa quiral: (DAICEL CHIRALPAK AS-H (250 mm x 30 mm, 5 µm); fase móvil: [A: CO₂, B: amoníaco al 0,1% en agua-etanol]; B%: 50%-50%) para obtener los compuestos diana, concretamente el compuesto 005 y el compuesto 006.

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,42 (d, J = 13,80 Hz, 1H), 1,48-1,57 (m, 1H), 1,62 (d, J = 7,28 Hz, 3H), 1,85 (qd, J = 12,51, 4,39 Hz, 2H), 2,01-2,16 (m, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 3,04-3,21 (m, 3H), 3,43-3,60 (m, 1H), 4,51-4,69 (m, 2H), 5,42 (q, J = 6,94 Hz, 1H), 5,87-6,45 (m, 2H), 7,69 (d, J = 4,02 Hz, 1H), 7,86-7,91 (m, 1H), 7,91-7,97 (m, 1H), 8,37 (d, J = 1,76 Hz, 1H), 8,51 (d, J = 4,27 Hz, 1H).

Compuesto diana 005 (posición del pico: 4,323)

LCMS (ESI) m/z: 531,5 [M+1]⁺

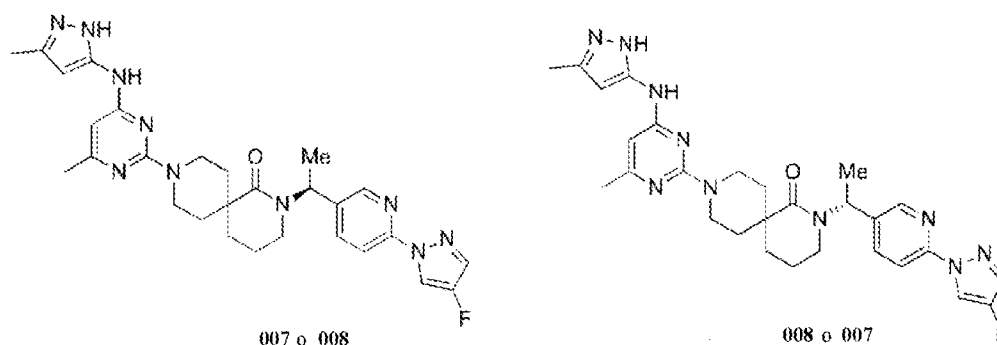
¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,42 (d, J = 13,80 Hz, 1H), 1,48-1,57 (m, 1H), 1,62 (d, J = 7,28 Hz, 3H), 1,85 (qd, J = 12,51, 4,39 Hz, 2H), 2,01-2,16 (m, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 3,04-3,21 (m, 3H), 3,43-3,60 (m, 1H), 4,51-4,69 (m, 2H), 5,42 (q, J = 6,94 Hz, 1H), 5,87-6,45 (m, 2H), 7,69 (d, J = 4,02 Hz, 1H), 7,86-7,91 (m, 1H), 7,91-7,97 (m, 1H), 8,37 (d, J = 1,76 Hz, 1H), 8,51 (d, J = 4,27 Hz, 1H).

Compuesto diana 006 (posición del pico: 5,496)

LCMS (ESI) m/z: 531,5 [M+1]⁺

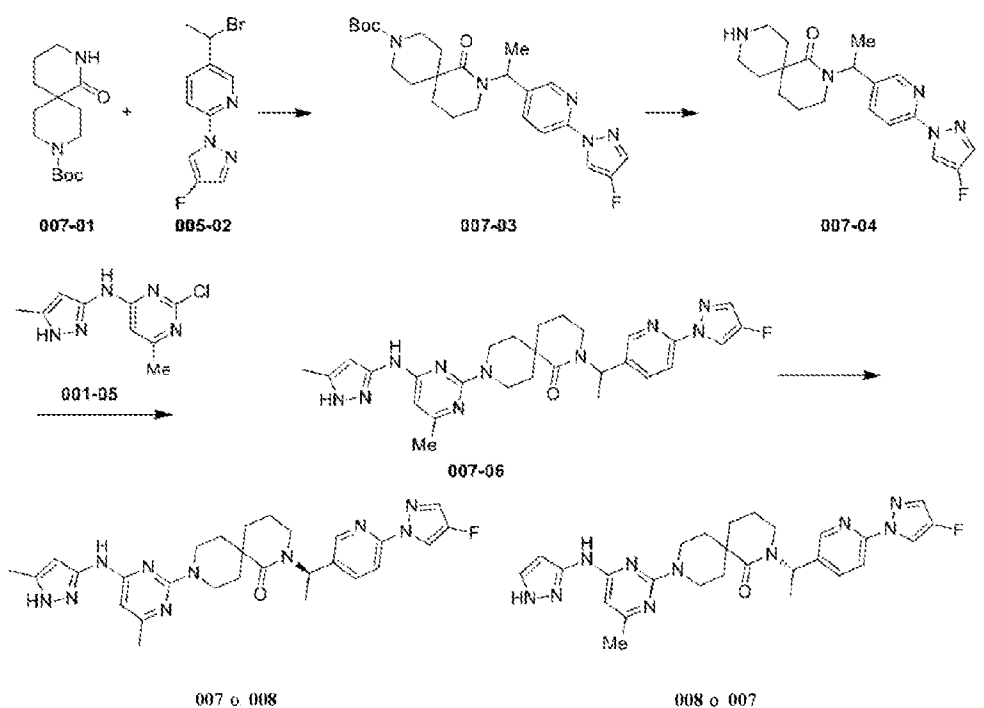
5 ¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,42 (d, J = 13,80 Hz, 1H), 1,48-1,57 (m, 1H), 1,62 (d, J = 7,28 Hz, 3H), 1,85 (qd, J = 12,51, 4,39 Hz, 2H), 2,01-2,16 (m, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 3,04-3,21 (m, 3H), 3,43-3,60 (m, 1H), 4,51-4,69 (m, 2H), 5,42 (q, J = 6,94 Hz, 1H), 5,87-6,45 (m, 2H), 7,69 (d, J = 4,02 Hz, 1H), 7,86-7,91 (m, 1H), 7,91-7,97 (m, 1H), 8,37 (d, J = 1,76 Hz, 1H), 8,51 (d, J = 4,27 Hz, 1H).

10 Ejemplo 4



15

Ruta sintética:



20

Etapla 1: síntesis del compuesto 007-03

25

007-01 (323,96 mg, 2,50 mmoles, 1,2 eq) y N,N-dimetilformamida (0,2 mL) se añadieron a un matraz de 10 mL, se bombeó nitrógeno y se reemplazó tres veces, se añadió hidruro de sodio (125,03 mg, 3,13 mmoles, pureza del 60%, 1,5 eq) a 0 °C, la solución de reacción se agitó a 25 °C durante 30 min, y se añadió 005-02 (500 mg, 2,08 mmoles, 1 eq) y se agitó durante 6 h. La solución de reacción se lavó con 10 mL de agua y se extrajo con acetato de etilo (10 mL*3). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato sódico anhidro y se secaron mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó

por cromatografía en columna para obtener el compuesto 007-03. LCMS: MS (ESI) m/z: 358,4 [M-Boc+1]⁺.

Etapa 2: síntesis del compuesto 007-04

- 5 007-03 (140 mg, 305,98 μmoles, 1 eq), una solución de ácido clorhídrico/dioxano (4 M, 764,96 μL, 10 eq) y dioxano (0,5 mL) se añadieron a un matraz de 10 mL y se agitó a 25 °C durante 6 h. La solución de reacción se secó mediante un método de centrifugación para obtener el producto 007-04 bruto.

LCMS: MS (ESI) m/z: 358,3 [M+1]⁺.

10

Etapa 3: síntesis del compuesto 007-06

- 15 001-05 (62.58 mg, 279,78 μmoles, 1,0 eq), 007-04 (100 mg, 279,78 μmoles, 1,0 eq), diisopropiletilamina (162,71 mg, 1,26 mmoles, 219,29 μL, 4,5 eq) e isopropanol (2 mL) se añadieron a un matraz de 50 mL y se agitaron a 120 °C durante 30 min bajo microondas. La solución de reacción se secó mediante un método de centrifugación y se purificó mediante cromatografía preparativa (columna cromatográfica: Agela ASB 150×25 mm×5 μm; fase móvil: [agua (HCl al 0,05%)-ACN]; % de acetonitrilo: 25%-45%, 10 min) para obtener 007-06. 007-06 se separó por una columna preparativa quiral (condiciones de separación: columna cromatográfica: DAICEL CHIRALPAK AS (250 mm×30 mm, 10 μm); fase móvil: [A: CO₂, B: amoniaco al 0,1% en EtOH]; B%: 55%-55%) para obtener los compuestos objetivo 007 y 008.

20

Compuesto diana 007 (posición del pico: 4,002 min)

- 25 ¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,57 (br s, 1H), 1,60 (d, J = 7,28 Hz, 3H), 1,65 (br s, 1H), 1,76-1,94 (m, 3H), 1,99-2,09 (m, 2H), 2,09-2,20 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,92-3,01 (m, 1H), 3,21-3,30 (m, 2H), 3,34-3,39 (m, 1H), 4,41-4,54 (m, 2H), 5,98 (q, J = 7,28 Hz, 1H), 6,06-6,23 (m, 1H), 7,71 (d, J = 4,27 Hz, 1H), 7,82-7,89 (m, 1H), 7,91-7,97 (m, 1H), 8,35 (d, J = 2,26 Hz, 1H), 8,52 (d, J = 4,52 Hz, 1H).

30

LCMS: MS (ESI) m/z: 545,0 [M+1]⁺.

30

Compuesto diana 008 (posición del pico: 6,072 min)

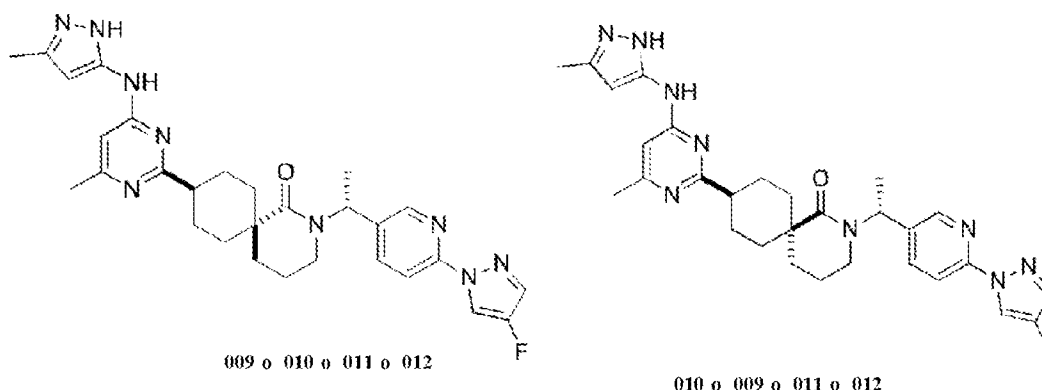
- 35 ¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,57 (br s, 1H), 1,60 (d, J = 7,28 Hz, 3H), 1,65 (br s, 1H), 1,76-1,94 (m, 3H), 1,99-2,09 (m, 2H), 2,09-2,20 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,92-3,01 (m, 1H), 3,21-3,30 (m, 2H), 3,34-3,39 (m, 1H), 4,41-4,54 (m, 2H), 5,98 (q, J = 7,28 Hz, 1H), 6,06-6,23 (m, 1H), 7,71 (d, J = 4,27 Hz, 1H), 7,82-7,89 (m, 1H), 7,91-7,97 (m, 1H), 8,35 (d, J = 2,26 Hz, 1H), 8,52 (d, J = 4,52 Hz, 1H).

40

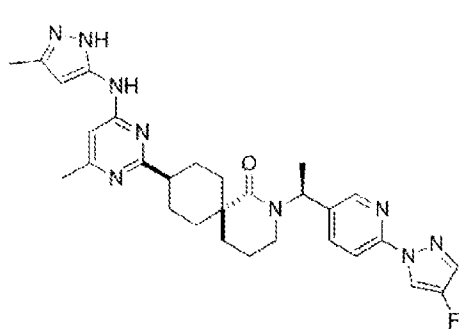
LCMS: MS (ESI) m/z: 545,4 [M+1]⁺.

40

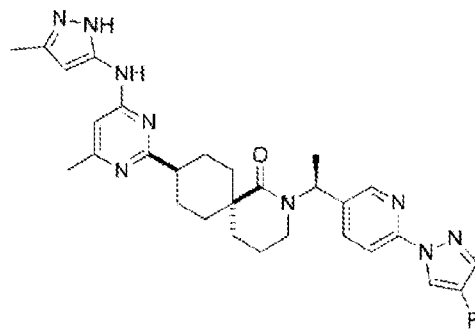
Ejemplo 5



45

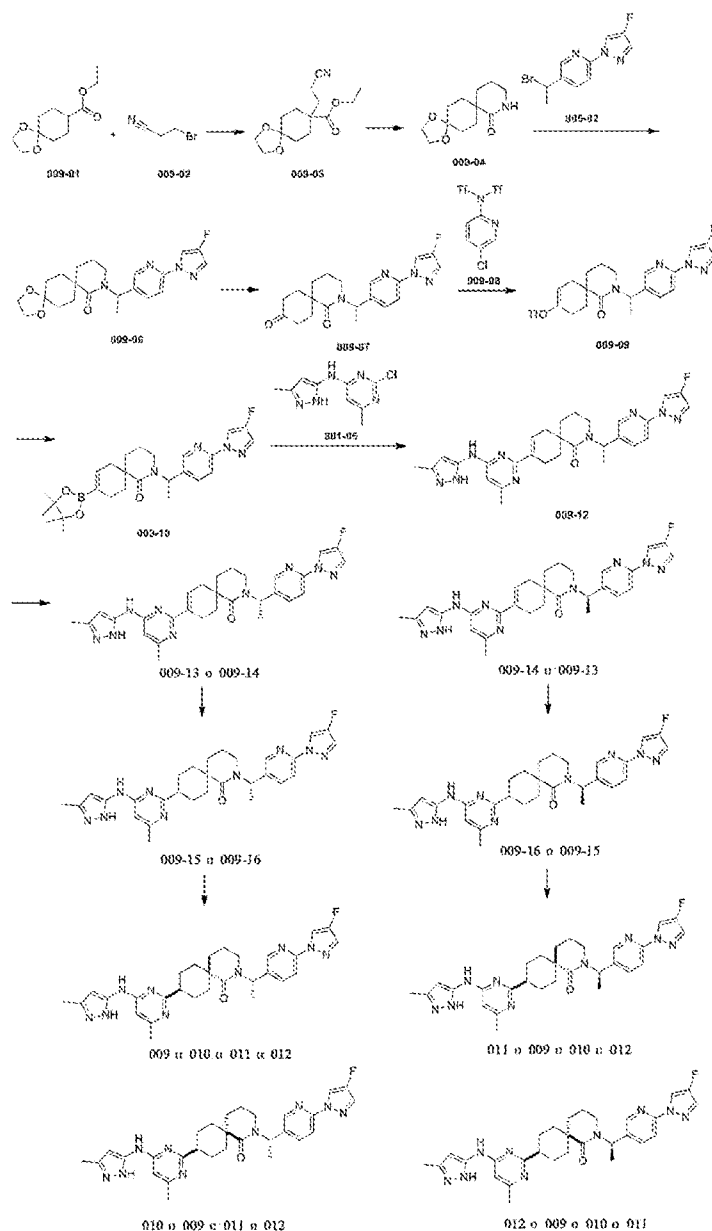


011 o 009 o 010 o 012



012 o 009 o 010 o 011

Ruta sintética:



5 Etapa 1: síntesis del compuesto 009-03

009-1 (20 g, 93,35 mmoles, 1 eq) se disolvió en tetrahidrofurano (100 mL) en atmósfera de nitrógeno a -78 °C, se añadió lentamente gota a gota diisopropilamida de litio (2 M, 51,34 mL, 1,1 eq), la solución de reacción se agitó durante 1 h a 0 °C y se enfrió a -78 °C, se añadió bromopropionitrilo (18,76 g, 140,02 mmoles, 1,5 eq), y la solución de reacción se agitó a 25 °C durante 16 h. Se añadieron 50 mL de una solución saturada de cloruro de amonio a la solución de reacción. La solución de reacción se extrajo con 100 mL de acetato de etilo tres veces, y las fases orgánicas se combinaron y se secaron mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna para obtener 009-03. LCMS: MS (ESI) m/z: [M+1]⁺ 268,2.

15 Etapa 2: síntesis del compuesto 009-04

009-03 (12 g, 44,89 mmoles, 1 eq), metanol (100 mL), níquel Raney (384,57 mg, 4,49 mmoles, 0,1 eq) y carbonato potásico (18,61 g, 134,67 mmoles, 3,0 eq) se añadieron a un matraz de hidrogenación de 1 L y se hicieron reaccionar durante 16 h a 45 °C a una presión de hidrógeno de 0,31 MPa (45 psi). La solución de reacción se filtró para eliminar las sustancias insolubles. El filtrado se secó mediante un método de

centrifugación para obtener un producto bruto, y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener 009-04. LCMS: MS (ESI) m/z: 226,1 [M+1]⁺.

Etapa 3: Síntesis del compuesto 009-06

009-04 (2,2 g, 9,77 mmoles, 1 eq), hidruro de sodio (468,70 mg, 11,72 mmoles, pureza del 60%, 1,2 eq) y N,N-dimetilformamida (10 mL) se añadieron a 0 °C y se agitó durante 30 min y se añadió 005-02 (2,95 g, 10,94 mmoles, 1,12 eq). La solución de reacción se agitó a 25 °C durante 16 h. La solución de reacción se secó por centrifugación con una bomba de aceite, se añadieron 50 mL de agua y la solución de reacción se extrajo con 50 mL de acetato de etilo tres veces y las fases orgánicas se combinaron y secaron mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna para obtener 009-06. LCMS: MS (ESI) m/z: 415,1 [M+1]⁺.

Etapa 4: síntesis del compuesto 009-07

009-06 (3,5 g, 8,44 mmoles, 1 eq) se disolvió en tetrahidrofurano (20 mL), se añadió ácido clorhídrico (12 M, 7,04 mL, 10 eq), y la solución de reacción se agitó a 45 °C durante 4 h. Se añadieron 100 mL de una solución saturada de carbonato de sodio a la solución de reacción a un pH de 9-10, y la solución de reacción se extrajo con 100 mL de diclorometano tres veces. Las fases orgánicas se combinaron y se secaron mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna para obtener 009-07. LCMS: MS (ESI) m/z: 371,0 [M+1]⁺.

Etapa 5: síntesis del compuesto 009-09

Se añadió 009-07 en atmósfera de nitrógeno a -78 °C, se añadió tetrahidrofurano (40 mL), se añadió lentamente diisopropilamida de litio (1 M, 5,67 mL, 1,4 eq) gota a gota, se añadió 009-08 después de agitar la solución de reacción durante 30 min, y después la solución de reacción se continuó agitando durante 16 h. Se añadieron 20 mL de cloruro de amina saturada a la solución de reacción para inactivarla, y la solución de reacción se extrajo con 50 mL de diclorometano tres veces, y las fases orgánicas se combinaron. El producto bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna para obtener 009-09. LCMS: MS (ESI) m/z: 503,1 [M+1]⁺.

Etapa 6: síntesis del compuesto 009-10

009-09 (1,63 g, 3,24 mmoles, 1 eq), bis(pinacolato)diboro (823,75 mg, 3,24 mmoles, 1 eq), complejo de dicloruro de [1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno]paladio diclorometano (397,36 mg, 486,59 µmoles, 0,15 eq), acetato de potasio (318,36 mg, 3,24 mmoles, 1 eq) y dioxano (20 mL) se añadieron a un matraz de 100 mL, se bombeó nitrógeno tres veces, y la solución de reacción se hizo reaccionar durante 16 h a 110 °C. La solución de reacción se filtró para eliminar sustancias insolubles, el filtrado se secó mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna para obtener 009-10. LCMS: MS (ESI) m/z: 480,9 [M+1]⁺.

Etapa 7: síntesis del compuesto 009-12

009-10 (500 mg, 1,04 mmoles, 1 eq), 001-05 (246,76 mg, 1,10 mmoles, 1,06 eq), complejo de dicloruro de [1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno]paladio diclorometano (85,00 mg, 104,00 µmoles, 0,1 eq), carbonato de potasio (431,20 mg, 3,12 mmoles, 3,0 eq), dioxano (5 mL) y agua (1,25 mL) se añadieron a un matraz de 100 mL, se bombeó nitrógeno tres veces, y la solución de reacción se agitó durante 2 h a 80 °C. La solución de reacción se filtró para eliminar las sustancias insolubles, el filtrado se secó mediante un método de centrifugación, se añadieron 5 mL de metanol para la disolución, y la solución oxidada se separó mediante cromatografía líquida preparativa de alto rendimiento para obtener 009-12. Las condiciones de separación fueron las siguientes: columna: Boston Green ODS 150×30 mm × 5 µm; fase móvil: [agua (ácido trifluoroacético al 0,075%)-acetonitrilo] : acetonitrilo %: 25%-55%, 12 min. LCMS: MS (ESI) m/z: 542,2 [M+1]⁺.

Etapa 8: síntesis de los compuestos 009-13 y 14

009-12 (130 mg, 240,02 µmoles, 1 eq) se separó mediante una columna quiral para obtener 009-13 y 14. Las condiciones de separación fueron las siguientes: columna: DAICEL CHIRALPAK AS-H (250 mm × 30 mm 5 µm); fase móvil: [A: CO₂, B: amoníaco al 0,1% en agua-metanol]; B%: 45%-45%.

013 LCMS: MS (ESI) m/z: 542,2 [M+1]⁺

014 LCMS: MS (ESI) m/z: 542,2 [M+1]⁺.

Etapa 9: síntesis de los compuestos 009-15 y 009-16

009-13 (51 mg, 94,16 µmoles, 1 eq), paladio sobre carbono (0,5 mg, 10% de pureza, 1,00 eq) y metanol (2 mL)

se añadieron a un matraz de hidrogenación de 100 mL y se hicieron reaccionar durante 16 h a 45 °C bajo la presión de hidrógeno de 0,31 MPa (45 psi). La solución de reacción se filtró para eliminar las sustancias insolubles. El filtrado se secó mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto, y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto 009-15 o el compuesto 009-16.

009-14 (51 mg, 94,16 µmoles, 1 eq), paladio sobre carbono (0,5 mg, 10% de pureza, 1,00 eq) y metanol (2 mL) se añadieron a un matraz de hidrogenación de 100 mL y se hicieron reaccionar durante 16 h a 45 °C bajo la presión de hidrógeno de 0,31 MPa (45 psi). La solución de reacción se filtró para eliminar las sustancias insolubles. El filtrado se secó mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto, y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto 009-16 o el compuesto 009-15.

009-15 LCMS: MS (ESI) m/z: 544,3 [M+1]⁺

009-16 LCMS: MS (ESI) m/z: 544,3 [M+1]⁺.

Etapa 10: Síntesis de los compuestos 009, 010, 011 y 012

009-15 (51 mg, 94,16 µmoles, 1 eq) se separó en una columna quiral para obtener el compuesto 009 y el compuesto 010. Las condiciones de separación fueron las siguientes: columna: DAICEL CHIRALPAK IC (250 mm × 30 mm, 10 µm); fase móvil: [A: CO₂, B: amoníaco al 0,1% en agua-EtOH]: B%: 50%-50%.

009 LCMS: MS (ESI) m/z: 544,5 [M+1]⁺

010 LCMS: MS (ESI) m/z: 544,5 [M+1]⁺.

009-16 (71,0 mg, 130,60 µmoles, 1 eq) se separó en una columna quiral para obtener el compuesto 011 y compuesto 012. Las condiciones de separación fueron las siguientes: columna: DAICEL CHIRALPAK AS (250 mm × 30 mm, 10 µm); fase móvil: [A: CO₂, B: amoníaco al 0,1% en agua-metanol]: B%: 40%-40%.

011 LCMS: MS (ESI) m/z: 544,5 [M+1]⁺

012 LCMS: EM (ESI) m/z: 544,5[M+1]⁺.

Compuesto diana 009 (posición del pico de SFC: 2,230)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,22-1,34 (m, 2H), 1,47 (d, J = 7,03 Hz, 3H), 1,64 (br d, J = 4,77 Hz, 2H), 1,67-1,79 (m, 3H), 2,05-2,12 (m, 2H), 2,15 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,35 (br dd, J = 19,95, 10,16 Hz, 2H), 2,65 (br s, 1H), 2,73-2,91 (m, 1H), 3,11-3,31 (m, 3H), 5,93 (br d, J = 6,02 Hz, 1H), 6,48-6,76 (m, 1H), 7,57 (d, J = 4,27 Hz, 1H), 7,69-7,89 (m, 2H), 8,23 (s, 1H), 8,39 (d, J = 4,27 Hz, 1H).

Compuesto diana 010 (posición del pico de SFC: 3,943)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,30-1,37 (m, 6H), 1,62 (d, J = 7,28 Hz, 3H), 1,73-1,95 (m, 7H), 2,01-2,24 (m, 4H), 2,30 (s, 2H), 2,35 (s, 2H), 2,78 (br s, 1H), 2,87-3,01 (m, 1H), 6,01-6,36 (m, 1H), 6,74 (br s, 1H), 7,71 (d, J = 3,76 Hz, 1H), 7,80-8,03 (m, 2H), 8,37 (s, 1H), 8,53 (d, J = 4,52 Hz, 1H).

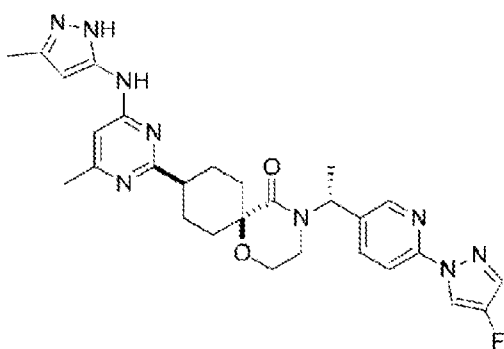
Compuesto diana 011 (Posición del pico de SFC: 1,763)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,22-1,34 (m, 2H), 1,47 (d, J = 7,03 Hz, 3H), 1,64 (br d, J = 4,77 Hz, 2H), 1,67-1,79 (m, 3H), 2,05-2,12 (m, 2H), 2,15 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,35 (br dd, J = 19,95, 10,16 Hz, 2H), 2,65 (br s, 1H), 2,73-2,91 (m, 1H), 3,11-3,31 (m, 3H), 5,93 (br d, J = 6,02 Hz, 1H), 6,48-6,76 (m, 1H), 7,57 (d, J = 4,27 Hz, 1H), 7,69-7,89 (m, 2H), 8,23 (s, 1H), 8,39 (d, J = 4,27 Hz, 1H).

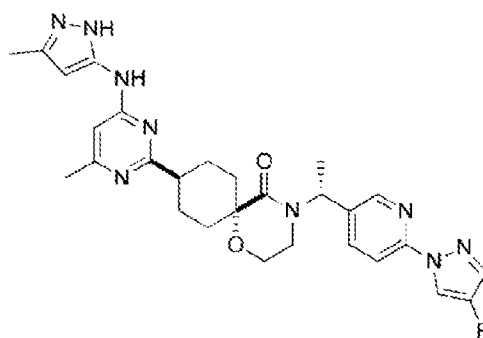
Compuesto objetivo 012 (posición del pico de SFC: 4,660)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,30-1,37 (m, 6H), 1,62 (d, J = 7,28 Hz, 3H), 1,73-1,95 (m, 7H), 2,01-2,24 (m, 4H), 2,30 (s, 2H), 2,35 (s, 2H), 2,78 (br s, 1H), 2,87-3,01 (m, 1H), 6,01-6,36 (m, 1H), 6,74 (br s, 1H), 7,71 (d, J = 3,76 Hz, 1H), 7,80-8,03 (m, 2H), 8,37 (s, 1H), 8,53 (d, J = 4,52 Hz, 1H).

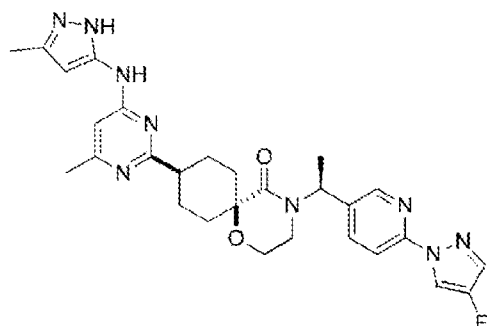
Ejemplo 6



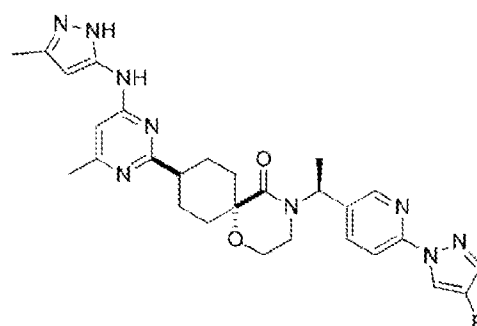
013 o 014 o 015 o 016



014 o 013 o 015 o 016

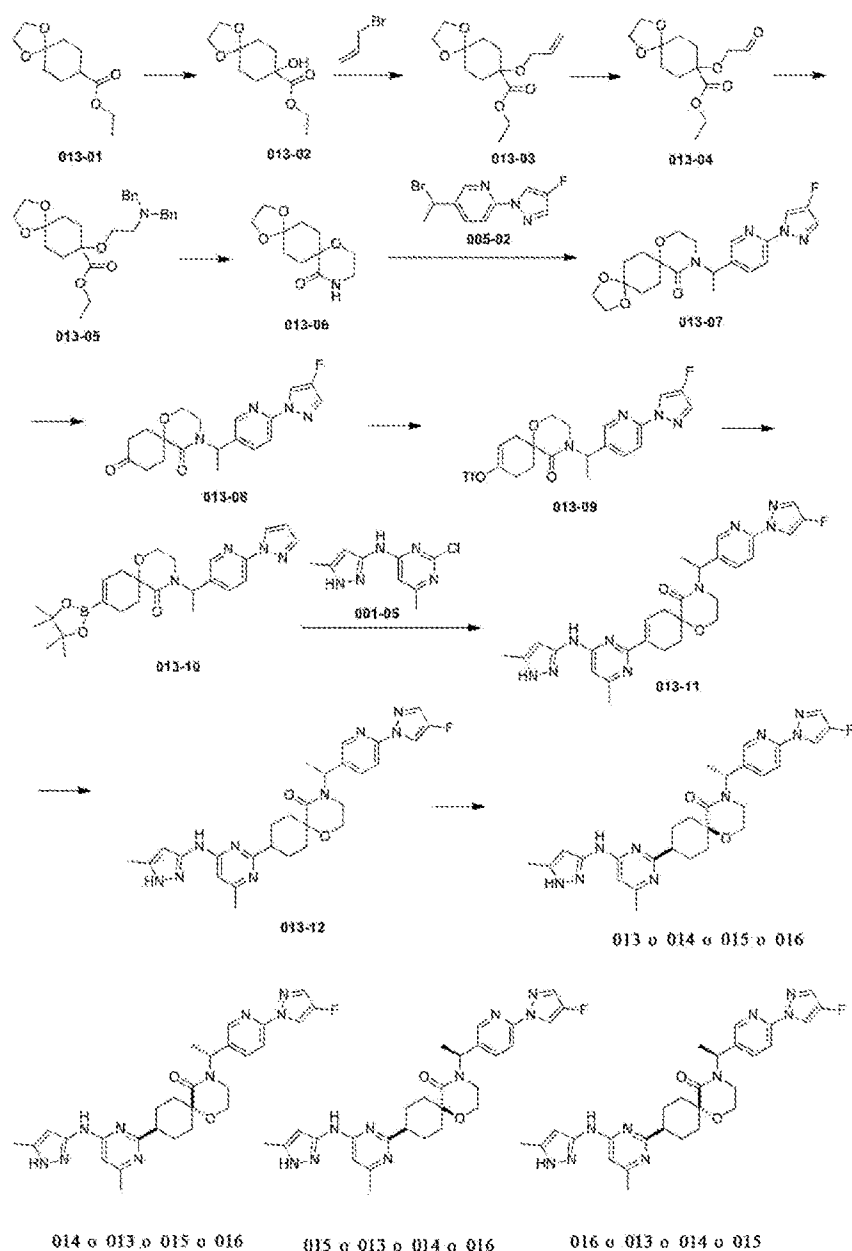


015 o 013 o 014 o 016



016 o 013 o 014 o 015

Ruta sintética:



5 Etapa 1: síntesis del compuesto 013-02

Bajo protección de nitrógeno, el compuesto 013-01 (53 g, 247,37 mmoles, 1 eq) se disolvió en tetrahidrofurano (250 mL) a 0 °C, se añadió hexametildisilazida de litio (1 M, 371,05 mL, 1,5 eq), la solución de reacción se agitó durante 1 h, se introdujo oxígeno a 0 °C y después la solución de reacción se agitó durante 2 h. Se añadieron 250 mL de sulfato de sodio a la solución de reacción para inactivarla, la fase acuosa se extrajo 4 veces con 250 mL de acetato de etilo y la fase orgánica se recogió, se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida para obtener un producto bruto. El producto bruto obtenido se purificó por una columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etilo = 1/0 a 4/1) para obtener el compuesto 013-02.

15 Etapa 2: Síntesis del compuesto 013-03

El compuesto 013-02 (9,2 g, 39,96 mmoles, 1 eq) se disolvió en N,N-dimetilformamida (70 mL) a 0 °C, se añadió hidrógeno de sodio (3,20 g, 79,91 mmoles, pureza del 60%, 2 eq), la solución de reacción se agitó durante 0,5 h, se añadió lentamente gota a gota 3-bromopropeno (14,50 g, 119,87 mmoles, 3 eq), y después la solución de reacción se calentó a 20 °C, y se continuó agitando durante 1 h. La solución de reacción se inactivó con 50

mL de cloruro de amonio saturado, y se extrajo con acetato de etilo (50 mL*3). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un producto bruto. El producto bruto obtenido se separó y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo:éter de petróleo = 1:20 a 1:5) para obtener el compuesto 013-03.

Etapa 3: Síntesis del compuesto 013-04

El compuesto 013-03 (20 g, 73,99 mmoles, 1 eq) se disolvió en una mezcla de diclorometano (85 mL) y metanol (15 mL), se añadió bicarbonato de sodio (9,32 g, 110,98 mmoles, 4,32 mL, 1,5 eq), la solución de reacción se enfrió a -78 °C, se introdujo ozono (3,55 g, 73,99 mmoles, 1 eq). La solución de reacción se agitó durante 0,5 h a una presión de 0,1 MPa (15 psi), y después se volvió azul, se introdujo continuamente oxígeno hasta que desapareció el azul, se añadió trifenilfosfina (23,29 g, 88,78 mmoles, 1,2 eq), y la solución de reacción se calentó a 20 °C y continuó agitando durante 1 h. La solución de reacción se concentró directamente a presión reducida para obtener un producto bruto. El producto bruto obtenido se separó y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo:éter de petróleo = 1:10 a 1:1) para obtener el compuesto 013-04.

Etapa 4: Síntesis del compuesto 013-05

Se disolvió N,N-dibencilamina (4,97 g, 25,21 mmoles, 4,83 mL, 0,8 eq) en 1,2-dicloroetano (80 mL) a 0 °C, se añadieron acetato borohidruro de sodio (10,02 g, 47,27 mmoles, 1,5 eq) y el compuesto 013-04 (13 g, 31,51 mmoles, 1 eq.), y la solución de reacción se calentó a 20°C y se hizo reaccionar durante 1 h con agitación. La solución de reacción se inactivó con 50 mL de bicarbonato sódico saturado y se extrajo con acetato de etilo (50 mL*3). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un producto bruto. El producto bruto obtenido se separó y se purificó por cromatografía en columna (acetato de etilo:éter de petróleo = 1:20 a 1:1) para obtener el compuesto 013-05. ¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ = 7,37 (d, J = 7,3 Hz, 4H), 7,32-7,26 (m, 4H), 7,24-7,18 (m, 2H), 4,11 (q, J = 7,3 Hz, 2H), 3,92 (s, 4H), 3,65 (s, 4H), 3,40 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,67 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 1,99-1,86 (m, 4H), 1,76 (dt, J = 5,8, 12,2 Hz, 2H), 1,61-1,52 (m, 2H), 1,19 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Etapa 5: síntesis del compuesto 013-06

El compuesto 013-05 (10,6 g, 23,37 mmoles, 1 eq) se disolvió en metanol (100 mL), se añadieron paladio/carbono (1 g, 23,37 mmoles, 10% de pureza, 1,00 eq) y carbonato potásico (6,46 g, 46,74 mmoles, 2 eq), se introdujo hidrógeno (94,42 mg, 46,74 mmoles, 2 eq) y la solución de reacción se agitó durante 10 h a 45 °C a una presión de 0,31 MPa (45 psi). La solución de reacción se filtró a través de una capa de diatomita y se lavó con diclorometano, y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en una mezcla de metanol (90 mL) y agua (30 mL), se añadió carbonato potásico (6,46 g, 46,76 mmoles, 2 eq), y la solución de reacción se agitó a 20 °C durante 2 h. Una placa de gel de sílice de capa fina (placa de gel de sílice, acetato de etilo:éter de petróleo = 1:0, R_f = 0,30) mostró que las materias primas reaccionaron completamente para generar el compuesto diana con polaridad reducida. La solución de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el metanol, la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo y las fases orgánicas se combinaron, se secaron, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto 013-06 que se puede usar directamente en la siguiente etapa sin purificación. ¹H RMN (400 MHz, cloroformo deuterado) δ = 7,03 (br s, 1H), 3,94 (s, 4H), 3,83 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 3,39 (br t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,24-2,11 (m, 2H), 1,94 (br d, J = 13,3 Hz, 2H), 1,83 (dt, J = 4,1, 13,5 Hz, 2H), 1,62 (br d, J = 13,1 Hz, 2H).

Etapa 6: síntesis del compuesto 013-07

El compuesto 013-06 (1,7 g, 7,48 mmoles, 1 eq) se disolvió en N,N-dimetilformamida (17 mL) a 0 °C, se añadió hidrógeno de sodio (448,79 mg, 11,22 mmoles, pureza del 60%, 1,5 eq), la solución de reacción se agitó durante 1 h, se añadió el compuesto 005-02 (2,22 g, 8,23 mmoles, 1,1 eq), y la solución de reacción se calentó a 20°C y se hizo reaccionar durante 1 h con agitación. Después de inactivarse con 20 mL de cloruro de amonio saturado, la solución de reacción se extrajo con acetato de etilo (30 mL*3). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con solución salina saturada (20 mL*2), se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener el compuesto 013-07.

Etapa 7: síntesis del compuesto 013-08

El compuesto 013-07 (3,12 g, 7,49 mmoles, 1 eq) se disolvió en tetrahidrofurano (60 mL), se añadió una solución acuosa de ácido clorhídrico (1 M, 74,92 mL, 10 eq), la solución de reacción se calentó a 45 °C y se hizo reaccionar durante 1 h con agitación. Después de inactivarse con bicarbonato sódico saturado, la solución de reacción se extrajo con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un producto bruto. El producto bruto obtenido se separó y se purificó por cromatografía en columna (columna de gel de sílice, acetato de etilo:éter de petróleo = 1:1 a 2:1) para obtener el compuesto 013-08.

Etapa 8: síntesis del compuesto 013-09

El compuesto 013-08 (2 g, 5,37 mmoles, 1 eq) se disolvió en tetrahidrofurano (20 mL) a -78 °C, se añadió lentamente hexametildisilazida de potasio (1 M, 7,52 mL, 1,4 eq), la solución de reacción se agitó durante 0,5 h, se añadió el compuesto 009-08 (2,53 g, 6,44 mmoles, 1,2 eq), y la solución de reacción se agitó continuamente durante 1 h. La solución de reacción se inactivó con 20 mL de cloruro de amonio saturado a -78 °C y se calentó a 20 °C. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (50 mL*3). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con una solución salina saturada (20 mL*2), se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un producto bruto. El producto bruto obtenido se separó y purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo:éter de petróleo = 1:10 a 1:3) para obtener el compuesto 013-09.

Etapa 9: síntesis del compuesto 013-10

El compuesto 013-09 (2,48 g, 4,92 mmoles, 1 eq) y bis(pinacolato)diboro (1,25 g, 4,92 mmoles, 1 eq) se disolvieron en dioxano (25 mL), se añadieron [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) diclorometano (401,48 mg, 491,62 µmoles, 0,1 eq) y acetato de potasio (1,45 g, 14,75 mmoles, 3 eq), se reemplazó el nitrógeno tres veces, y la solución de reacción se calentó a 110 °C y se hizo reaccionar durante 1 h con agitación. Después de enfriar, la solución de reacción se concentró directamente a presión reducida para obtener un producto bruto. El producto bruto obtenido se separó y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo:éter de petróleo = 1:10 a 1:1, Rf = 0,80) para obtener el compuesto 013-10.

Etapa 10: síntesis del compuesto 013-11

El compuesto 013-10 (1 g, 2,07 mmoles, 1 eq) y el compuesto 001-05 (510,06 mg, 2,28 mmoles, 1,1 eq) se disolvieron en dioxano (12 mL) y agua (3 mL), se añadieron [1,1'-bis(difenilfosfonio)ferroceno]dicloropaladio(II) (151,69 mg, 207,32 µmoles, 0,1 eq) y fosfato de potasio (1,32 g, 6,22 mmoles, 3 eq), se reemplazó el nitrógeno tres veces, la solución de reacción se calentó a 90 °C y se hizo reaccionar durante 1 h con agitación. La solución de reacción se diluyó con 200 mL de diclorometano y se lavó con una solución salina saturada (30 mL*3), y la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener un producto bruto. El producto bruto obtenido se separó y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, diclorometano:metanol = 100:0 a 20:1) para obtener el compuesto 013-11. LCMS: MS (ESI) m/z: 544,4 [M+1]⁺.

Etapa 11: síntesis del compuesto 013-12

El compuesto 013-11 (500 mg, 919,80 µmoles, 1 eq), paladio sobre carbono (100 mg, 91,98 µmoles, 10% de pureza, 0,1 eq) y metanol (5 mL) se añadieron a un matraz de hidrogenación, y se calentaron y agitaron durante 16 h a 45 °C bajo presión de hidrógeno (919,80 µmoles) de 0,31 MPa (45 psi). La solución de reacción se filtró para eliminar paladio sobre carbono, y el filtrado se secó mediante un método de centrifugación para obtener el compuesto 013-12. LCMS: MS (ESI) m/z: 546,4 [M+1]⁺.

Etapa 12: síntesis de los compuestos 013, 014, 015 y 016

El compuesto 013-12 (420 mg, 769,78 µmoles, 1 eq) se separó por una columna preparativa quiral para obtener los compuestos diana 013, 014, 015 y 016. Las condiciones de separación fueron las siguientes: columna: DAICEL CHIRALPAK AD (250 mm × 30 mm, 10 µm); fase móvil: [A: CO₂, B: amoníaco al 0,1% en agua-isopropanol]; B%: 45%-45%.

Compuesto diana: 013 (Posición del pico de SFC: 0,746)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,48 (br d, J = 7,13 Hz, 3H), 1,67 (br s, 2H), 1,81-2,02 (m, 6H), 2,16 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,64 (br s, 1H), 2,76-2,97 (m, 1H), 3,23-3,41 (m, 1H), 3,54-3,95 (m, 2H), 5,81 (q, J = 6,92 Hz, 1H), 6,09 (br s, 1H), 6,56 (br s, 1H), 7,57 (d, J = 4,13 Hz, 1H), 7,66-7,91 (m, 2H), 8,23 (s, 1H), 8,37 (d, J = 4,25 Hz, 1H). LCMS: MS (ESI) m/z: 546,4 [M+1]⁺.

Compuesto diana: 014 (Posición del pico de SFC: 0,997)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,48 (br d, J = 7,13 Hz, 3H), 1,67 (br s, 2H), 1,81-2,02 (m, 6H), 2,16 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,64 (br s, 1H), 2,76-2,97 (m, 1H), 3,23-3,41 (m, 1H), 3,54-3,95 (m, 2H), 5,81 (q, J = 6,92 Hz, 1H), 6,09 (br s, 1H), 6,56 (br s, 1H), 7,57 (d, J = 4,13 Hz, 1H), 7,66-7,91 (m, 2H), 8,23 (s, 1H), 8,37 (d, J = 4,25 Hz, 1H).

LCMS: MS (ESI) m/z: 546,4 [M+1]⁺.

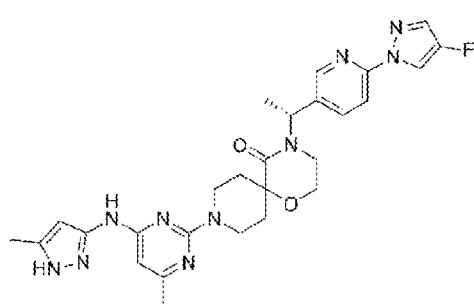
Compuesto diana: 015 (posición del pico de SFC: 0,595)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,61 (d, J = 7,03 Hz, 3H), 1,65-1,81 (m, 2H), 1,91-2,12 (m, 2H), 2,23-22,37 (m, 9H), 2,91-3,07 (m, 2H), 3,37 (s, 1H), 3,42-3,52 (m, 1H), 3,74-3,98 (m, 2H), 5,93 (q, J = 7,03 Hz, 1H), 6,16-6,90 (m, 2H), 7,70 (d, J = 4,02 Hz, 1H), 7,83-7,98 (m, 2H), 8,38 (s, 1H), 8,51 (d, J = 4,27 Hz, 1H).
LCMS: MS (ESI) m/z: 546,4 [M+1]⁺.

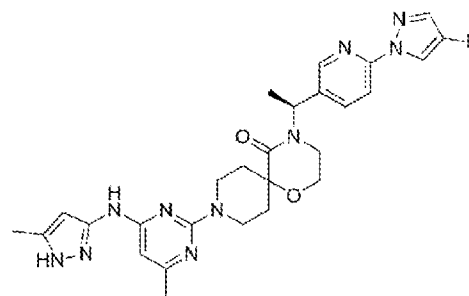
Compuesto diana: 016 (posición del pico de SFC: 0,610)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,61 (d, J = 7,03 Hz, 3H), 1,65-1,81 (m, 2H), 1,91-2,12 (m, 2H), 2,23-22,37 (m, 9H), 2,91-3,07 (m, 2H), 3,37 (s, 1H), 3,42-3,52 (m, 1H), 3,74-3,98 (m, 2H), 5,93 (q, J = 7,03 Hz, 1H), 6,16-6,90 (m, 2H), 7,70 (d, J = 4,02 Hz, 1H), 7,83-7,98 (m, 2H), 8,38 (s, 1H), 8,51 (d, J = 4,27 Hz, 1H).
LCMS: MS (ESI) m/z: 546,4 [M+1]⁺.

Ejemplo 7

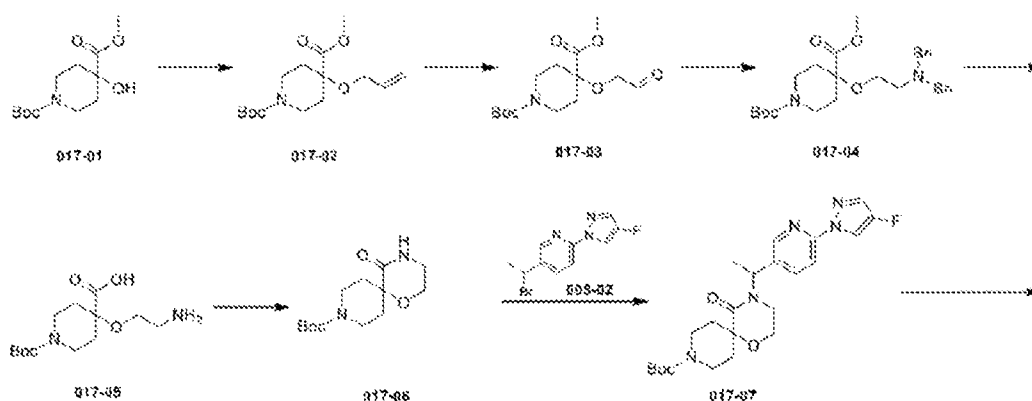


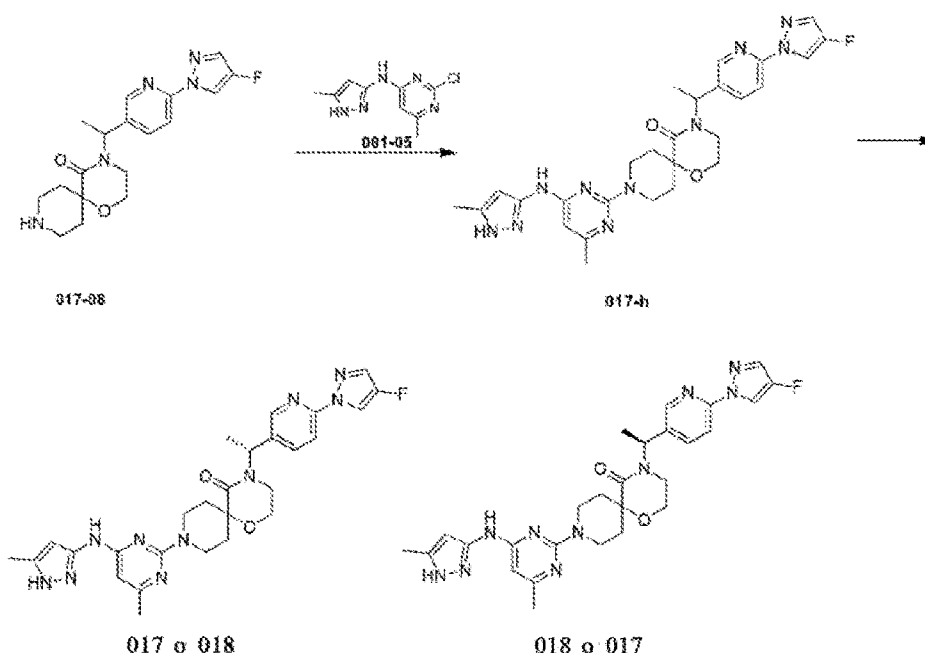
017 o 018



018 o 017

Ruta sintética:





Etapa 1: síntesis del compuesto 017-02

- 5 El compuesto 017-01 (10 g, 38,57 mmoles, 1 eq) e hidruro sódico (3,08 g, 77,13 mmoles, pureza del 60%, 2 eq) se añadieron a N,N-dimetilformamida (50 mL) a 0 °C y se agitó durante 0,25 h, se añadió 3-bromopropeno (23,33 g, 192,83 mmoles, 5 eq) y la solución de reacción se agitó a 20 °C durante 3 h. Se añadieron 20 mL de una solución saturada de cloruro de amonio a la solución de reacción, la fase acuosa se extrajo tres veces con 30 mL de acetato de etilo, la fase orgánica se recogió y la mayor parte del acetato de etilo se centrifugó. La parte restante se lavó 6 veces con 40 mL de una solución salina saturada y la fase orgánica se secó mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por una columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etilo = 3/1) para obtener el compuesto 017-02. LCMS: MS (ESI) m/z: 300 [M+1]⁺.
- 10

Etapa 2: síntesis del compuesto 017-03

- 15 El compuesto 017-02 (19 g, 63,47 mmoles, 1 eq) y bicarbonato de sodio (8,00 g, 95,20 mmoles, 3,70 mL, 1,5 eq) se añadieron a una mezcla de diclorometano (85 mL) y metanol (15 mL), se introdujo ozono (3,34 mmoles) a -78 °C durante 30 min, la solución se volvió azul y se introdujo nitrógeno hasta que desapareció el azul. Se añadió trifenilfosfina (18,31 g, 69,82 mmoles, 1,1 eq), y la solución de reacción se agitó a 25 °C durante 0,5 h. Después de introducir ozono, se introdujo oxígeno hasta que la solución de reacción desvaneció de azul claro, se añadió trifenilfosfano, la reacción se realizó durante 0,5 h, y la solución de reacción se secó directamente mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por una columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etilo = 1 - 0-6/1-5/1) para obtener el compuesto 017-03. LCMS: MS (ESI) m/z: 302 [M+1]⁺.
- 20
- 25

Etapa 3: síntesis del compuesto 017-04

- 30 El compuesto 017-03 (14,5 g, 48,12 mmoles, 1 eq) y N,N-dibencilamina (7,59 g, 38,50 mmoles, 7,37 mL, 0,8 eq) se disolvieron en dicloroetano (70 mL) a 20 °C, se añadió acetato borohidruro de sodio (12,24 g, 57,74 mmoles, 1,2 eq), y la solución de reacción se agitó durante 5 minutos. Se añadieron 20 mL de cloruro de amonio saturado a la solución de reacción para inactivarla, la solución de reacción resultante se extrajo con diclorometano (40 mL*2). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron con sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener un producto bruto. El producto bruto obtenido se purificó por una columna cromatográfica (éter de petróleo/acetato de etilo = 1/0 a 5/1) para obtener el compuesto 017-04. LCMS: MS (ESI) m/z: 483 [M+1]⁺.
- 35

Etapa 4: síntesis del compuesto 017-05

- 40 El compuesto 017-04 (6,1 g, 12,64 mmoles, 1 eq) se añadió a un matraz de hidrogenación que contenía metanol (60 mL), se añadió paladio/carbono (0,6 g, 10%) y el aire en el matraz de hidrogenación se reemplazó con argón 4 veces. Se introdujo continuamente hidrógeno (0,31 MPa (45 psi)), y la solución de reacción se agitó a 45 °C durante 12 h. Después de filtrar la solución de reacción con diatomita, la diatomita se lavó con

metanol 3 veces, y la fase orgánica se recogió y se secó mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se añadió a metanol (30 mL) y agua (10 mL), se añadieron carbonato potásico (6,37 g, 46,10 mmoles, 3 eq) y paladio/carbono (1,2 g, 10% de pureza), el aire se intercambiaba y la reacción se realizó a 25 °C durante 3 h en hidrógeno (0,31 MPa (45 psi)). La solución de reacción se filtró con diatomita, y la diatomita se lavó 3 veces con 20 mL de metanol. La fase orgánica se recogió y se secó mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto obtenido se añadió a un matraz de hidrogenación que contenía metanol (50 mL), el aire en el matraz de hidrogenación se reemplazó con argón y la solución de reacción se agitó durante 24 h a 60 °C en hidrógeno (0,34 MPa (50 psi)). La solución de reacción se filtró con diatomita, la diatomita se lavó 3 veces con 20 mL de metanol, y la fase orgánica se recogió y se secó mediante un método de centrifugación para obtener el compuesto 017-05.

Etapa 5: síntesis del compuesto 017-06

El compuesto 017-05 (1.5 g, 5,20 mmoles, 1 eq) se añadió a N,N-dimetilformamida (10 mL), diisopropiletilamina (2,02 g, 15,61 mmoles, 2,72 mL, 3 eq) y anhídrido propilfosfórico (8,28 g, 13,01 mmoles, 7,73 mL, pureza del 50%, 2,5 eq), y la solución de reacción se agitó a 25 °C durante 0,5 h. Se añadieron 2 mL de ácido clorhídrico 1 M a la solución de reacción, se añadieron 5 mL de agua, y la fase acuosa se extrajo con 10 mL de acetato de etilo 3 veces. La fase orgánica se recogió y se lavó con 20 mL de una solución salina saturada 4 veces, se secó con sulfato sódico anhidro y se secó mediante un método de centrifugación para obtener el compuesto 017-06.

Etapa 6: síntesis del compuesto 017-07

El compuesto 017-06 (1.2 g, 4,44 mmoles, 1 eq) se disolvió en N,N-dimetilformamida (10 mL) a 0 °C, se añadió hidrógeno de sodio (213,06 mg, 5,33 mmoles, pureza del 60%, 1,2 eq), la solución de reacción se agitó durante 0,2 h, se añadió el compuesto 005-02 (1,26 g, 4,66 mmoles, 1,05 eq), y la solución de reacción se calentó a 20 °C y se continuó agitando durante 0,5 h. La solución de reacción se vertió en 10 mL de agua, y se filtró para obtener una torta de filtración. La torta del filtro se lavó con 10 mL de agua y después se lavó con 5 mL de éter de petróleo. La torta del filtro se recogió y se secó mediante un método de centrifugación a presión reducida para obtener el compuesto 017-07.

Etapa 7: síntesis del compuesto 017-08

El compuesto 017-07 (1,9 g, 4,13 mmoles, 1 eq) se añadió a diclorometano (20 mL), se añadió ácido trifluoroacético (6,16 g, 54,03 mmoles, 4 mL, 13,07 eq), y la solución de reacción se agitó a 25 °C durante 0,5 h. La solución de reacción se secó directamente mediante un método de centrifugación, se añadieron 20 mL de diclorometano, y después se continuó secando mediante un método de centrifugación, y las operaciones se repitieron 3 veces. Se obtuvo el trifluoroacetato del compuesto 017-08.

Etapa 8: síntesis del compuesto 017-h

El trifluoroacetato del compuesto 017-08 (787,08 mg, 3,52 mmoles, 0,85 eq) y el compuesto 001-05 (1,96 g, 4,14 mmoles, 1 eq, TFA) se añadieron a n-butanol (10 mL), se añadió diisopropiletilamina (1,61 g, 12,42 mmoles, 2,16 mL, 3 eq), y la solución de reacción se calentó y se agitó a 130 °C durante 16 h. La solución de reacción se secó directamente mediante un método de centrifugación para obtener un producto bruto. El producto bruto se purificó por una columna cromatográfica (diclorometano/metanol = 1/0-4% de metanol) y se purificó por cromatografía de alta resolución (columna: VenusilASB Phenyl 150 × 30 mm × 5µm; fase móvil: [agua (ácido clorhídrico al 0,05%)-acetonitrilo]; % de acetonitrilo: 30%-60%, 9 min) para obtener el compuesto 017-h. LCMS: MS (ESI) m/z: 547 [M+1]⁺.

Etapa 9: Síntesis del compuesto 017 o 018

El compuesto 017-h (0,75 g, 1,37 mmoles, 1 eq) se sometió a resolución quiral (columna: DAICEL CHIRALPAK AS (250 mm × 50 mm, 10 µm); fase móvil: [A: CO₂, B: amoníaco al 0,1% en agua-etanol]; B%: 50%-50%) para obtener el compuesto 017 y el compuesto 018.

Compuesto diana: 017 (Posición del pico de SFC: 3,645)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,62 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,86-1,93 (m, 2H), 2,09-2,13 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 3,02-3,20 (m, 3H), 3,46-3,48 (m, 1H), 3,87-3,97 (m, 2H), 4,58-4,61 (m, 2H), 4,90 (m, 1H), 5,89-5,94 (m, 1H), 6,11-6,22 (m, 1H), 7,70 (d, J = 4 Hz, 1H), 7,87-7,96 (m, 2H), 8,38 (s, 1H), 8,52 (d, J = 4,4 Hz, 1H). LCMS: MS (ESI) m/z: 547 [M+1]⁺.

Compuesto diana: 018 (Posición del pico de SFC: 4,906)

¹H RMN (400 MHz, metanol deuterado) δ ppm 1,62 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,86-1,93 (m, 2H), 2,09-2,13 (m, 2H),

2,22 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 3,02-3,20 (m, 3H), 3,46-3,48 (m, 1H), 3,87-3,97 (m, 2H), 4,58-4,61 (m, 2H), 4,90 (m, 1H), 5,89-5,94 (m, 1H), 6,11-6,22 (m, 1H), 7,70 (d, J = 4 Hz, 1H), 7,87-7,96 (m, 2H), 8,38 (s, 1H), 8,52 (d, J = 4,4 Hz, 1H). LCMS: MS (ESI) m/z: 547 [M+1]⁺.

5 Datos de los ensayos biológicos

Ejemplo experimental 1: evaluación de la actividad inhibidora in vitro de quinasas de tipo silvestre y mutantes V804M

- 10 Se usó el ensayo de actividad de quinasa marcada con isótopo ³³P (Reaction Biology Corp.) para determinar el valor IC₅₀ para evaluar la capacidad inhibidora de un compuesto de ensayo sobre RET de ser humano de tipo silvestre y mutantes V804M y V804L.

- 15 Condiciones de la solución tampón: ácido 4-(2-hidroxietil)piperazin-1-etanosulfónico (Hepes) 20 mM (pH 7,5), MgCl₂ 10 mM, 1,2-bis[2-[bis(carboximetil)amino]etoxi]etano (EGTA) 1 mM, lauril éter polioxietilenado (Brij35) al 0,02%, 0,02 mg/mL de albúmina de suero bovino (BSA), 0,1 mM de Na₃VO₄, ditioneitol (DTT) 2 mM y DMSO al 1%.

- 20 Tratamiento del compuesto: el compuesto a ensayar se disolvió en DMSO al 100%, y después la solución obtenida se diluyó continuamente con DMSO usando Integra Vialflo Assist hasta que se obtuvo una concentración específica.

- 25 Procedimientos de ensayo: se disolvió un sustrato en la solución tampón recién preparada, se añadió una quinasa a ensayar a la misma, y la solución obtenida se mezcló suave y uniformemente. Se añadió una solución de DMSO, en la cual estaba disuelto el compuesto a ensayar, a la solución de reacción mezclada uniformemente anterior usando una tecnología acústica (Echo 550), y después se incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente. Las concentraciones de los compuestos en las soluciones de reacción fueron 3 µM, 1 µM, 0,333 µM, 0,111 µM, 0,0370 µM, 0,0123 µM, 4,12 µM, 1,37 µM, 0,457 µM y 0,152 µM, respectivamente. Después de 15 minutos de incubación se añadió ³³P-ATP (actividad de 0,01 µCi/µL, concentración K_m) y se
- 30 inició la reacción. Después de que la reacción se llevara a cabo a temperatura ambiente durante 120 min, se detectó la radioactividad mediante un método de unión a filtro. Los datos de la actividad de quinasa se expresaron comparando la actividad de quinasa del compuesto que se iba a ensayar con la actividad de quinasa de un grupo blanco (que contenía solamente DMSO). El valor de IC₅₀ se obtuvo mediante ajuste de curvas con el software Prism4 (GraphPad). Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 1.

35

Tabla 1 Resultados del ensayo de exploración in vitro de los compuestos de la presente divulgación

Compuesto	IC ₅₀ (nM)		
	Tipo silvestre	V804M	V804L
001-h	92,99	128,70	ND
003-h	73,87	133,60	ND
005-h	3,00	13,02	ND
007	68,88	116,30	ND
008	0,36	0,71	ND
009	91,03	ND	ND
010	119,9	ND	ND
011	233,60	ND	ND
012	0,90	1,06	0,47
013	46,7	ND	ND
014	1,12	4,1	1,23
015	48,30	ND	ND
016	75,23	ND	ND
017	70,32	74,30	ND
018	1,29	1,97	1,23

Nota: "ND" se refiere a que no se realizó detección.

Conclusión: Los compuestos de la presente divulgación mostraron una actividad inhibidora relativamente buena sobre el RET de tipo silvestre y los mutantes V804M y V804L.

Ejemplo experimental 2: evaluación farmacocinética de los compuestos

- 40 Objetivo experimental: ensayar la farmacocinética del compuesto en ratones

Material experimental: ratones CD-1 (machos)

Operaciones experimentales: las características farmacocinéticas de los roedores después de la inyección intravenosa y la administración oral de los compuestos se obtuvieron usando un esquema convencional. En el experimento, los compuestos candidatos se formularon en soluciones transparentes, y los ratones se administraron mediante una única inyección intravenosa y administración oral. El disolvente de la inyección intravenosa y la administración oral fue PEG400 (polietilenglicol 400) al 10%+ (hidroxipropil- β -ciclodextrina al 10%) al 90%. Las muestras de sangre completa se recogieron en un plazo de 24 h. Todas las muestras de sangre se añadieron respectivamente a tubos de centrifuga de plástico marcados en los cuales se añadieron previamente anticoagulantes en EDTA-K₂ 0,5 M. Las muestras de sangre se recogieron y se centrifugaron a 3.000 g durante 10 min a 4 °C. El plasma sobrenadante se recogió absorbiendo y colocándolo rápidamente en hielo seco para mantenerlo a -20 °C o menos. Las concentraciones en sangre se analizaron cuantitativamente usando un método de análisis de LC-MS/MS, y se calcularon los parámetros farmacocinéticos, tales como la concentración máxima, el tiempo máximo, la tasa de aclaramiento, la semivida, el área bajo la curva de concentración de fármaco-tiempo, la biodisponibilidad, etc.

Los resultados del experimento se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados del ensayo farmacocinético de los compuestos de la presente divulgación

Muestras que ensayar (compuestos)	Administración por inyección (2 mpk)			Administración oral (10 mpk)	
	Tasa de aclaramiento (mL/min/kg)	Semivida T _{1/2} (h)	Concentración integrada AUC (nM.h)	Concentración integrada AUC (nM.h)	Biodisponibilidad F (%)
Compuesto 014	1,65	2,53	16414	49619	53,7
Compuesto 018	6,55	2,56	9301	27723	59,7

Conclusión: la farmacocinética de los compuestos de la presente divulgación en ratones tiene buenos índices farmacocinéticos.

Ejemplo experimental 3: evaluación de la eficacia de los compuestos en el modelo de xenoinjerto de células tumorales Ba/F3 KIF5B-RET-V804L

1. Objetivo experimental

Se estableció un modelo de xenoinjerto de células tumorales Ba/F3 KIF5B-RET-V804L de línea celular diseñada por ingeniería genética en ratones NPSG, y se verificó la eficacia de los fármacos que se iban a ensayar solos en el modelo de xenoinjerto de ratones NPSG.

2. Diseño del experimento

1) Se resucitaron células Ba/F3 KIF5B-RET-V804L y se cultivaron in vitro para obtener 5×10^7 células.

2) Se alimentaron de manera adaptativa cuarenta y cinco ratones hembra de 6-8 semanas de edad durante 1 semana y se pesaron.

3) Se inocularon por vía subcutánea células tumorales Ba/F3KIF5B-RET-V804L en la posición de escápula derecha de los ratones para establecer el modelo de xenoinjerto de células tumorales Ba/F3KIF5B-RET-V804L de línea celular modificada por ingeniería genética. Las condiciones de inoculación fueron las siguientes: (véase la Tabla 3)

Tabla 3. Información de inoculación

Cepa animal	Número de animales	Tipo de células de inoculación	Posición de inoculación	Cantidad de células de inoculación (células)	Volumen de la suspensión celular de inoculación (mL)	Cantidad total de células necesarias
NPSG	45	Ba/F3KIF5B-RET-V804L	Tejido subcutáneo	1×10^5	0.1 mL	5×10^7

4) Después de la inoculación, se midieron el volumen y el peso de los tumores una vez a la semana. Cuando el volumen tumoral medio alcanzó 124,5 mm³, los ratones con un volumen tumoral entre 82,9 mm³ y 145,4 mm³ se seleccionaron y agruparon aleatoriamente según el volumen y peso de los tumores con 6 ratones en cada grupo. La administración se inició inmediatamente después del agrupamiento. La fecha de inicio de la administración se registró como el día 0. La información de administración y agrupamiento se ve en la Tabla 4.

Tabla 4. Información de agrupamiento y administración

Grupo	Número de animales	Muestra para ensayo	Dosificación de administración (mg/kg)	Vía de administración	Cantidad de administración $\mu\text{L/g}$	Periodo de administración
1	6	Control con blanco	NA	p.o.	10	Día 0 - Día 9 BID
2	6	Compuesto 014	10	p.o.	10	Día 0 - Día 9 BID
3	6	Compuesto 018	10	p.o.	10	Día 0 - Día 9 BID

Nota: NA representa sin administración; el día 0 al día 9 representa del día 0 al día 9.

5) Después de comenzar la administración, los ratones se administraron continuamente durante 9 días, y el peso corporal y el volumen tumoral de los ratones se midieron el día 3, el día 6 y el día 9.

6) Las estadísticas de datos se analizaron mediante ANOVA de una vía. En primer lugar se detectó la diferencia de homogeneidad de la varianza de los datos. Si no hubo diferencia en la homogeneidad de la varianza, se usó un método LSD para el análisis; y si hubo una diferencia en la homogeneidad de la varianza, se seleccionó T3 de Dunnett para el análisis de datos. Todos los datos se analizaron usando el software SPSS 17.0. Un valor de p inferior a 0,05 se consideró una diferencia significativa.

3. Resultados experimentales

3.1 Peso corporal

Los pesos corporales promedio de cada grupo en diferentes momentos de tiempo se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Cambios de peso corporal de los ratones en cada grupo en el experimento

Número de días	Control con blanco	Compuesto 014 (10 mg/kg)	Compuesto 018 (10 mg/kg)
0	18,7 $\pm$ 0,5	19,5 $\pm$ 0,53	18,6 $\pm$ 0,49
3	19,6 $\pm$ 0,52	20,3 $\pm$ 0,72	18,8 $\pm$ 0,48
6	20 $\pm$ 0,63	20,5 $\pm$ 0,72	18,6 $\pm$ 0,87
9	20,4 $\pm$ 0,45	20,3 $\pm$ 0,84	19 $\pm$ 0,64

3.2 Inhibición del crecimiento tumoral

La inhibición del crecimiento tumoral en cada grupo se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Efecto de inhibición tumoral de ratones en cada grupo

Tratamiento	Volumen tumoral el día 0 (mm^3) ^a	Volumen tumoral el día 9 (mm^3) ^a	TGI (%)	$\Delta\text{T}/\Delta\text{C}$ (%)	Valor P
Control con blanco	126,3 $\pm$ 4,66	827,8 $\pm$ 44,98	/	/	/
Compuesto 014 (10 mg/kg)	123,8 $\pm$ 7,2	84,8 $\pm$ 6,25	106%	-6%	<0,001
Compuesto 018 (10 mg/kg)	125 $\pm$ 3,96	75,5 $\pm$ 7,11	107%	-7%	<0,001

Nota: a significa un valor promedio $\pm$ error estándar; b significa que los datos se analizaron usando ANOVA de una vía, y se usó el método T3 de Dunnetts para el análisis post mortem debido a la varianza no uniforme; TGI representa la tasa de inhibición del crecimiento tumoral y su valor es $1 - \Delta\text{T}/\Delta\text{C}$; ΔT representa el volumen tumoral acrecentado en el grupo experimental; ΔC representa el volumen tumoral acrecentado en el grupo de control.

Conclusión: en el modelo de xenoinjerto de ratones Ba/F3KIF5B-RET-V804L de línea celular modificada por ingeniería genética, los compuestos de la presente divulgación mostraron una eficacia relativamente fuerte durante 9 días de administración consecutivos.

Ejemplo experimental 4: evaluación de la eficacia de los compuestos en el modelo de xenoinjerto de línea celular Ba/F3KIF5B-RET modificado por ingeniería genética de ratones NPSG hembra

1. Objetivo experimental

Verificar la eficacia de los fármacos que se van a analizar solos en el modelo de xenoinjerto de línea celular modificada por ingeniería genética Ba/F3 KIF5B-RET de ratones NPSG.

2. Diseño del experimento

1) Se resucitaron células Ba/F3 KIF5B-RET y se cultivaron in vitro para obtener 4×10^7 células.

5 2) Sesenta ratones NPSG hembra de 6-8 semanas de edad se alimentaron de forma adaptativa durante una semana y se pesaron.

10 3) Las células Ba/F3 KIF5B-RET se inocularon por vía subcutánea en la escápula derecha de los ratones según las condiciones de inoculación obtenidas en el ensayo previo (véase la Tabla 7) para establecer el modelo de xenoinjerto de células tumorales Ba/F3 KIF5B-RET de ratones NPSG.

Tabla 7. Información de inoculación

Cepa animal	Número de animales	Tipo de células de inoculación	Posición de inoculación	Cantidad de células de inoculación (células)	Volumen de la suspensión celular de inoculación (mL)	Cantidad total de células necesarias
NPSG	60	Ba/F3KIF5B-RET	Tejido subcutáneo	1×10^6	0,1 mL	6×10^7

15 4) Después de la inoculación, se midieron el volumen y el peso de los tumores una vez a la semana. Cuando el volumen tumoral medio alcanzó 104 mm^3 , los ratones se agruparon aleatoriamente según el volumen y el peso de los tumores con 6 ratones en cada grupo. La administración se inició inmediatamente después del agrupamiento. La fecha de inicio de la administración se registró como el día 0. La información de administración y agrupamiento se muestra en la Tabla 8.

20 Tabla 8. Información de agrupamiento y administración

Grupo	Número de animales	Muestras de ensayo	Dosificación de administración (mg/kg)	Vía de administración	Cantidad de administración $\mu\text{L/g}$	Periodo de administración
1	6	Control con blanco	NA	p.o.	10	Día 0 - Día 10 BID
2	6	Compuesto 014	10	p.o.	10	Día 0 - Día 10 BID
3	6	Compuesto 018	10	p.o.	10	Día 0 - Día 10 BID
4	6	Compuesto 018	20	p.o.	10	Día 0 - Día 10 BID

Nota: NA representa sin administración; el día 0 al día 10 representa del día 0 al día 10.

25 5) Después de comenzar la administración, se midieron el peso corporal y el volumen tumoral de los ratones respectivamente el día 0, el día 3, el día 6 y el día 10.

30 6) Para el experimento de dos grupos, se usó el método de análisis de la prueba T. Para una comparación de tres o más grupos, se usó ANOVA de una vía para el análisis. Para comparar los efectos sinérgicos potenciales, se usó ANOVA bidireccional para el análisis. Todos los datos se analizaron usando el software SPSS 17.0. Se consideró que un valor de p inferior a 0,05 era una diferencia significativa, y se consideró que un valor de p inferior a 0,01 era una diferencia muy significativa.

3. Resultados experimentales

3.1 Peso corporal

35 Los pesos corporales promedio de cada grupo en diferentes momentos de tiempo se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Cambios en el peso corporal en cada grupo

Número de días	Control con blanco	Compuesto 014 (10 mg/kg)	Compuesto 018 (10 mg/kg)	Compuesto 018 (20 mg/kg)
0	$17,2 \pm 0,26$	$18 \pm 0,57$	$17,7 \pm 0,47$	$17,6 \pm 0,58$
3	$18 \pm 0,36$	$18,5 \pm 0,47$	$18,2 \pm 0,51$	$18,1 \pm 0,56$
6	$18,4 \pm 0,24$	$18,5 \pm 0,75$	$18,5 \pm 0,57$	$18,3 \pm 0,53$
10	$19,6 \pm 0,31$	$18,6 \pm 0,62$	$17,7 \pm 0,86$	$18,5 \pm 0,63$

3.2 Inhibición del crecimiento tumoral

La inhibición del crecimiento tumoral en cada grupo se muestra en la Tabla 10.

5

Tabla 10. Efecto de inhibición tumoral de los fármacos en cada grupo

Tratamiento	Volumen tumoral el día 0 (mm ³) ^a	Volumen tumoral el día 10 (mm ³) ^a	TGI (%)	$\Delta T/\Delta C$ (%)	Valor P ^b
Control en blanco	105,8±7,75	1063,5±65,21	/	/	/
Compuesto 014 (10 mg/kg)	102,3±7,72	116,6±10,77	99%	1%	<0,001
Compuesto 018 (10 mg/kg)	106,3±7,14	205,1±29,87	90%	10%	<0,001
Compuesto 018 (20 mg/kg)	102,2±7,09	32,8±6,81	107%	-7%	<0,001

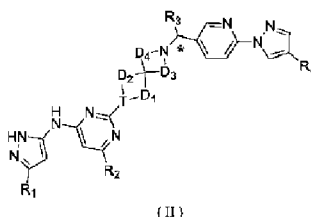
Nota: a significa un número promedio $\pm$ error estándar; b significa que los datos se analizaron usando ANOVA de una vía y se usó el método T3 de Dunnett para el análisis post mortem debido a la varianza no uniforme; TGI representa la tasa de inhibición del crecimiento tumoral y su valor es $1-\Delta T/\Delta C$; ΔT representa el volumen tumoral acrecentado en el grupo experimental; ΔC representa el volumen tumoral acrecentado en el grupo de control.

Conclusión: en el modelo de ratones con xenoinjerto de Ba/F3KIF5B-RET de línea celular modificada por ingeniería genética, los compuestos de la presente divulgación mostraron una eficacia relativamente fuerte durante 10 días de administración consecutivos.

10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,



en donde,

T se selecciona de CH y N,

R₁ se selecciona de H, F, Cl, Br, I y alquilo C₁₋₆, y el alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_a;

R₂ se selecciona de H, F, Cl, Br, I y alquilo C₁₋₆, y el alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_b;

R₃ se selecciona de H, F, Cl, Br, I y alquilo C₁₋₆, y el alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_c;

R₄ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂ y alquilo C₁₋₃, y el alquilo C₁₋₃ está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_d;

D₁ es -CH₂CH₂- opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_e;

D₂ es -CH₂CH₂- opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_f;

D₃ se selecciona de -CH₂- y , y el -CH₂- está opcionalmente sustituido con 1 ó 2 R_g;

D₄ se selecciona de -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂- y -O-CH₂CH₂-, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 R_h;

R_a, R_b, R_c y R_d se seleccionan independientemente de F, Cl, Br, I, OH, NH₂ y CH₃;

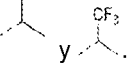
R_e, R_f, R_g y R_h se seleccionan independientemente de F, Cl, Br, I y CH₃;

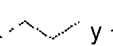
un átomo de carbono con "*" es un átomo de carbono quiral, que está presente en forma de enantiómero individual (R) o (S), en forma racémica o en forma enantiómera enriquecida.

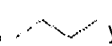
2. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en donde R₁ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH₃, CH₂CH₃, , y , y el CH₃, CH₂CH₃, , y  están opcionalmente sustituidos con 1, 2 ó 3 R_a.

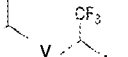
3. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 2, en donde R₁ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH₃, CF₃, CH₂CH₃, CH₂CF₃, , , , y .

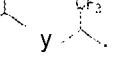
4. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde R₂ se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH₃, CH₂CH₃, , y , y el CH₃, CH₂CH₃, , y  están opcionalmente sustituidos con 1, 2 ó 3 R_b.

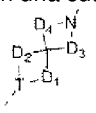
5. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 4, en donde R_2 se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH_3 , CF_3 , CH_2CH_3 , CH_2CF_3 , ,  y .

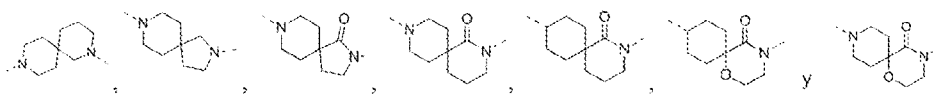
6. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde R_3 se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH_3 , CH_2CH_3 , , y ,

y el CH_3 , CH_2CH_3 , , y  están opcionalmente sustituidos con 1, 2 ó 3 R_c .

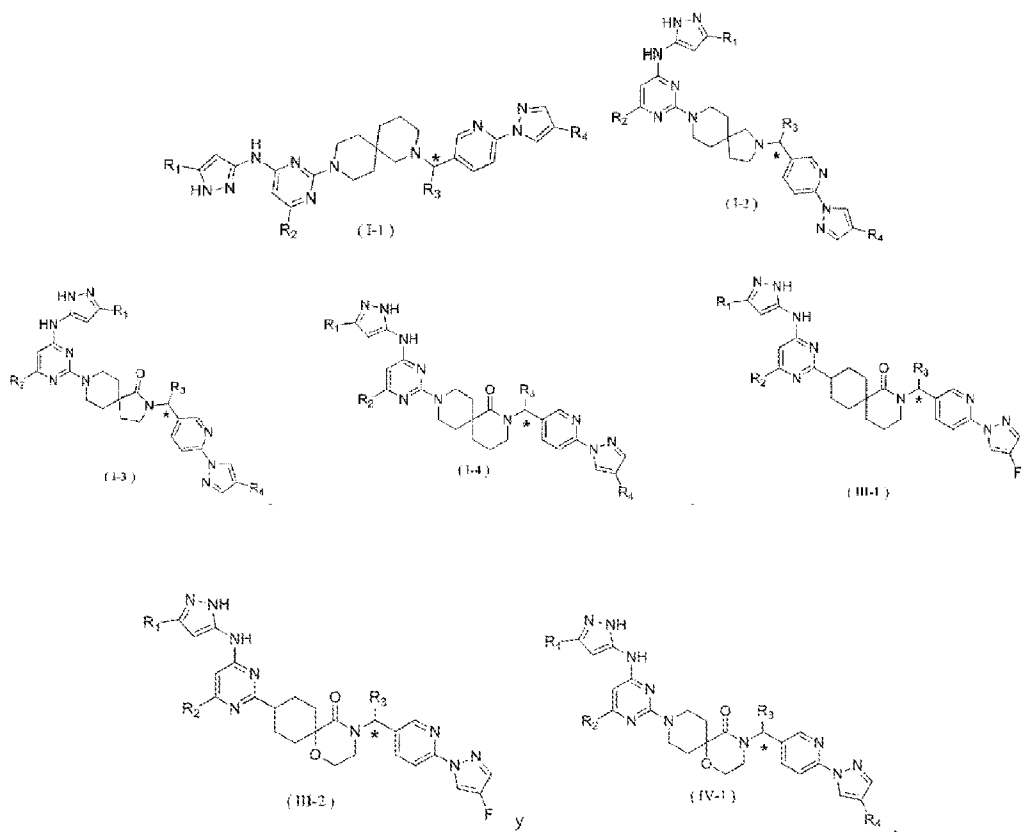
7. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 6, en donde R_3 se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH_3 , CF_3 , CH_2CH_3 , CH_2CF_3 , ,  y .

8. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde R_4 se selecciona de H, F, Cl, Br, I, CH_3 , CF_3 , CH_2CH_3 , CH_2CF_3 , ,  y .

9. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la unidad de estructura  se selecciona de



10. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que se selecciona de



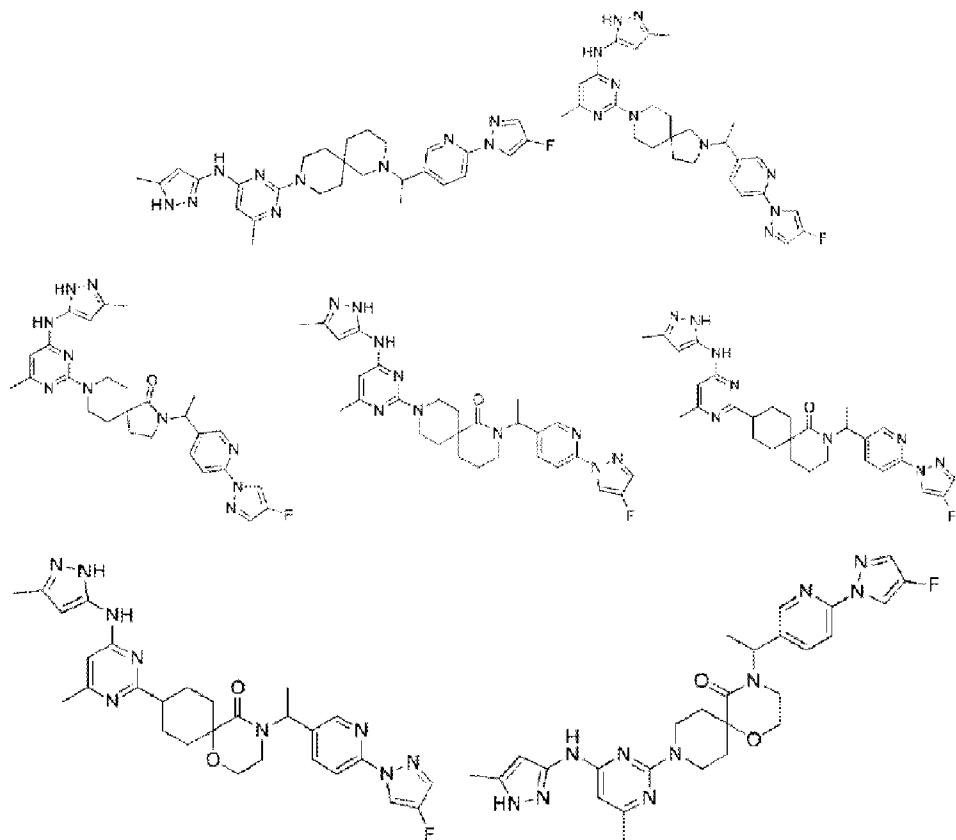
en donde, R₁, R₂, R₃ y R₄ son como se definen según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8;

un átomo de carbono con "*" es un átomo de carbono quiral, que está presente en forma de enantiómero individual o en forma enantiómera enriquecida.

5

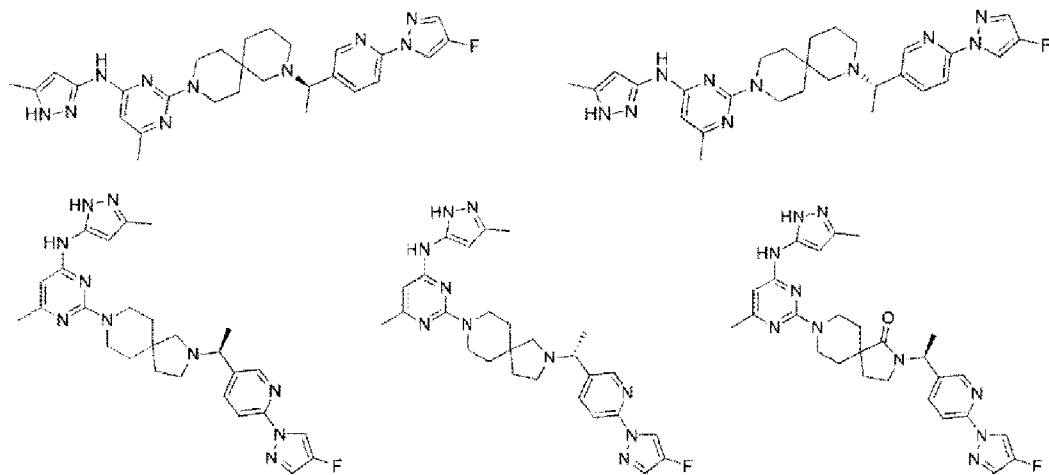
11. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 como se muestra en las siguientes fórmulas o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que se selecciona de

10

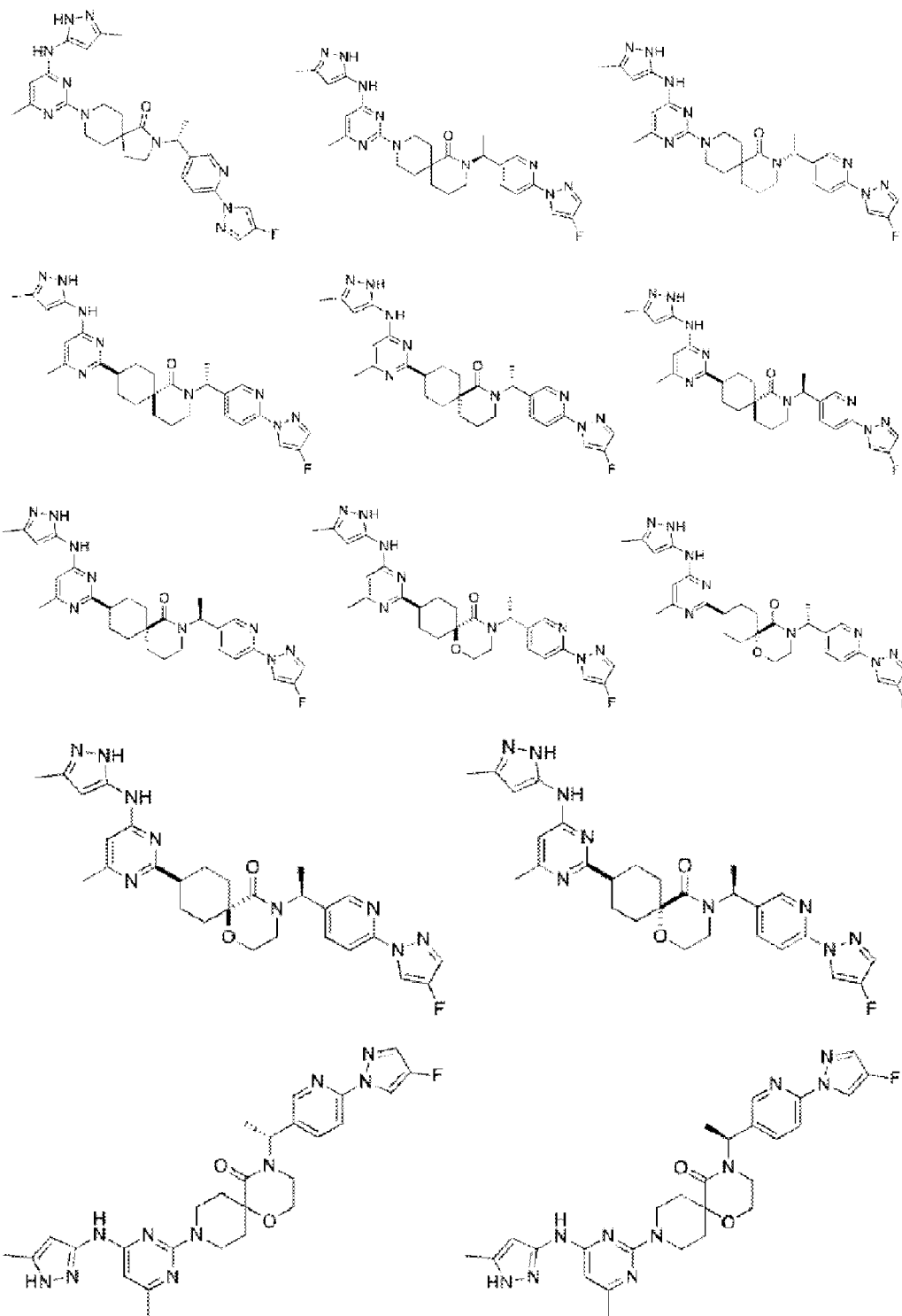


15

12. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 11, que se selecciona de



20



5

10

13. Una composición farmacéutica, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 como principio activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15

14. Un inhibidor de la quinasa RET, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12.

15. Un inhibidor de la quinasa RET, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica según la reivindicación 13.
- 5 16. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, para su uso como un medicamento.
17. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, para su uso en el tratamiento de enfermedades tumorales o de trastornos del tracto gastrointestinal.
- 10 18. La composición farmacéutica según la reivindicación 13, para su uso en el tratamiento de enfermedades tumorales o de trastornos del tracto gastrointestinal.