

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 834 093**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/497** (2006.01)

**A61K 31/5025** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2012 E 18162853 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.09.2020 EP 3409278**

54 Título: **Inhibidores de proteína quinasa heterocíclicos**

30 Prioridad:

**21.07.2011 US 201161510207 P**

**21.07.2011 US 201161632834 P**

**01.03.2012 US 201261632826 P**

**07.03.2012 US 201261608028 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**16.06.2021**

73 Titular/es:

**SUMITOMO DAINIPPON PHARMA ONCOLOGY,  
INC. (100.0%)**

**640 Memorial Drive  
Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**XU, YONG;  
BRENNING, BENJAMIN GARY;  
KULTGEN, STEVEN G.;  
LIU, XIAOHUI;  
SAUNDERS, MICHAEL y  
HO, KOC-KAN**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 834 093 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**

Inhibidores de proteína quinasa heterocíclicos

**5 Antecedentes de la invención****Campo técnico**

10 La presente invención se refiere, en general, a compuestos que inhiben la actividad proteína quinasa y a composiciones y métodos relacionados con los mismos.

**Descripción de la técnica relacionada**

15 El cáncer (y otras enfermedades hiperproliferativas) se caracterizan por una proliferación celular descontrolada. Esta pérdida del control normal de la proliferación celular a menudo parece producirse como resultado del daño genético a las vías celulares que controlan el progreso a través del ciclo celular. El ciclo celular consta de síntesis de ADN (fase S), división celular o mitosis (fase M), y períodos no sintéticos denominados gap 1 (G1) y gap 2 (G2). La fase M está compuesta por mitosis y citocinesis (separación en dos células). Todas las etapas del ciclo celular están controladas por una cascada ordenada de fosforilación de proteínas y varias familias de proteína quinasas están implicadas en la realización de estas etapas de fosforilación. Además, la actividad de muchas proteína quinasas aumenta en los tumores humanos en comparación con el tejido normal y este aumento de actividad puede deberse a muchos factores, incluidos el aumento de los niveles de una quinasa o los cambios en la expresión de coactivadores o proteínas inhibidoras.

25 Las células tienen proteínas que gobiernan la transición de una fase del ciclo celular a otra. Por ejemplo, las ciclinas son una familia de proteínas cuyas concentraciones aumentan y disminuyen a lo largo del ciclo celular. Las ciclinas activan, en el momento apropiado, diferentes proteína quinasas dependientes de ciclina (CDK) que fosforilan sustratos esenciales para la progresión a través del ciclo celular. La actividad de CDK específicas en momentos específicos es esencial tanto para el inicio como para el progreso coordinado a través del ciclo celular. Por ejemplo, CDK1 es el regulador del ciclo celular más destacado que organiza las actividades de la fase M. Sin embargo, se han identificado varias otras proteína quinasas mitóticas que participan en la fase M, que incluyen miembros de las familias polo, aurora y NIMA (Never-In-Mitosis-A) y quinasas implicadas en puntos de control mitóticos, salida mitótica, y citocinesis.

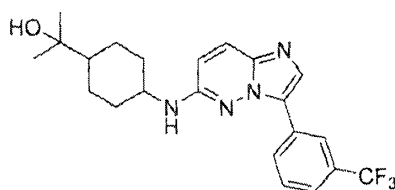
35 Las quinasas Pim (p. ej., quinasa Pim-1, quinasa Pim-2, quinasas Pim-3) son una familia de serina/treonina quinasas oncogénicas. Se sabe que la quinasa Pim-1 está implicada en varias vías de señalización de citocinas como efector aguas abajo. Una vez activada, la quinasa Pim-1 provoca la progresión del ciclo celular, la inhibición de la apoptosis y la modulación de otras vías de transducción de señales, incluida la propia. También se sabe que la quinasa Pim-1 efectúa la activación de factores de transcripción tales como NFAT, p100, c-Myb y Pap-1, y la inhibición de otros tales como HP1. La expresión normal de la quinasa Pim-1 se observa en células de origen hematopoyético, tales como el hígado fetal, el timo, el bazo y la médula ósea. Además, se observa expresión en células epiteliales de próstata y orales. Se cree que la quinasa Pim-1 está implicada en el inicio o progresión de la transformación maligna que conduce a neoplasias que incluyen linfoma de Burkitt, cáncer de próstata, cáncer oral y linfomas difusos de células grandes, entre otros.

45 Las quinasas Pim también juegan un papel en la regulación inmunológica. Por ejemplo, se ha observado una mejor expresión de Pim en una variedad de estados inflamatorios. Pim-2 también está implicada en el crecimiento y la supervivencia de células T inducidas por citocinas. Una publicación reciente (Jackson et al., Cell Immunology, 2012, 272, 200-213) demostraron eficacia in vivo para un inhibidor dual de PIM-1 y PIM-3 en un modelo de enfermedad inflamatoria intestinal de ratón. Por tanto, las quinasas PIM son dianas atractivas para diversas enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias.

50 Basándose en su implicación en una serie de neoplasias malignas humanas, existe la necesidad de un diseño racional de inhibidores específicos y selectivos para el tratamiento del cáncer y otras afecciones que están mediadas y/o asociadas con las proteína quinasas Pim. La presente invención satisface estas necesidades y ofrece otras ventajas relacionadas. -> 2a-2d

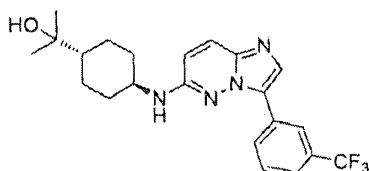
Las realizaciones de la invención son:

60 1. Un compuesto que tiene la siguiente estructura:



o un estereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 2. El compuesto de la realización 1, que tiene la siguiente estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 3. El compuesto de una cualquiera de las realizaciones 1-2, en donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de adición de ácido seleccionada entre sales de ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, en donde los ácidos inorgánicos se seleccionan entre ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, y los ácidos orgánicos se seleccionan entre ácido acético, ácido oxálico, ácido (D)- o (L)-málico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido glutámico y ácido malónico.

15 4. El compuesto de una cualquiera de las realizaciones 1-2, en donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de ácido clorhídrico.

20 5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1-4 y un portador farmacéuticamente aceptable.

25 6. La composición farmacéutica de la realización 5, para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de células de avena, cáncer de hueso, cáncer de páncreas, cáncer de piel, dermatofibrosarcoma protuberans, cáncer de cabeza y cuello, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, tumores ginecológicos, cáncer hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, sarcomas de tejidos blandos, cáncer de uretra, cáncer de pene, cáncer de próstata, tumores sólidos de la infancia, hipereosinofilia, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o de uréter, neoplasia maligna pediátrica, neoplasias del sistema nervioso central o enfermedad cutánea neoplásica.

35 7. La composición farmacéutica de la realización 5, para su uso en el tratamiento de una neoplasia maligna hematológica.

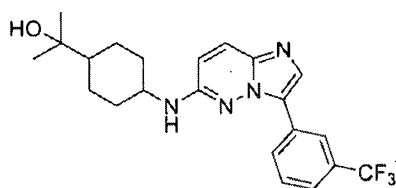
8. La composición farmacéutica para uso de la realización 7, en donde la neoplasia maligna hematológica es una leucemia aguda o crónica, enfermedad de Hodgkin o linfoma linfocítico.

40 9. La composición farmacéutica para uso de la realización 7, en donde la neoplasia maligna hematológica es leucemia mieloide aguda.

45 10. La composición farmacéutica de la realización 5, para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o enfermedad inflamatoria seleccionada entre osteoartritis, artritis reumatoide, dolor, enfermedades inflamatorias intestinales, trastornos respiratorios y trastornos de la piel, preferiblemente donde el trastorno de la piel es psoriasis y la enfermedad inflamatoria intestinal es enfermedad de Crohn.

50 11. La composición farmacéutica de la realización 5, para su uso en el tratamiento de un tumor, inhibición de la angiogénesis, tratamiento de la fibrosis o tratamiento de la diabetes.

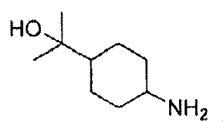
12. Un método para preparar un compuesto que tiene la siguiente estructura (A):



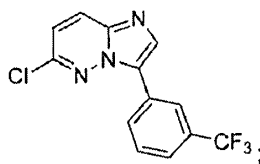
(A)

o un estereoisómero de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, comprendiendo el método:

5 a) hacer reaccionar



o un estereoisómero del mismo con un compuesto de estructura (B):

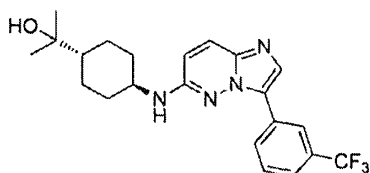


(B)

en presencia de CsF; y

15 b) aislar el compuesto de estructura (A), o un estereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en forma de un sólido.

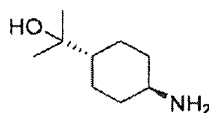
13. El método de la realización 12, en donde el compuesto de estructura (A) tiene la siguiente estructura (8-31):



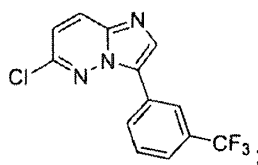
(8-31)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y el método comprende

25 a) hacer reaccionar



con un compuesto de estructura (B):

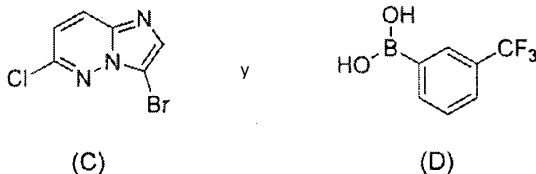


(B)

en presencia de CsF; y

b) aislar el compuesto de estructura (8-31), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en forma de un sólido.

14. El método de la realización 12 o 13, en donde (B) se ha preparado poniendo en contacto (C) con (D):

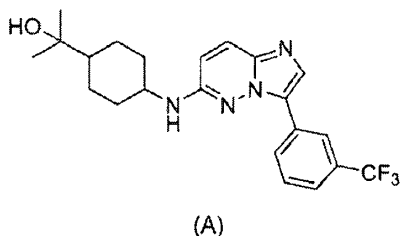


en presencia de un catalizador de paladio y una base.

15. El método de la realización 12 o 13, que comprende adicionalmente tratar el sólido con un ácido para obtener la sal farmacéuticamente aceptable.

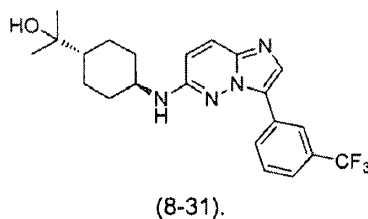
16. El método de la realización 15, en donde el ácido es ácido clorhídrico, ácido maleico o ácido metanosulfónico.

17. Un método para preparar una sal de un compuesto que tiene la siguiente estructura (A):



o un estereoisómero del mismo, comprendiendo el método tratar el compuesto con un ácido para obtener la sal.

18. El método de la realización 17, en donde el compuesto de estructura (A) tiene la siguiente estructura (8-31):



19. El método de la realización 17 o 18, en donde el ácido es ácido clorhídrico.

### Breve compendio

Los compuestos de la presente invención tienen utilidad en una amplia gama de aplicaciones terapéuticas y se pueden utilizar para tratar enfermedades, tales como el cáncer y diversas afecciones inflamatorias, que están mediadas al menos en parte por la actividad proteína quinasa. Por consiguiente, en un aspecto de la invención, los compuestos descritos en la presente memoria se formulan como composiciones farmacéuticamente aceptables para su administración a un sujeto que lo necesite.

En otro aspecto, la invención proporciona medios para tratar o prevenir una enfermedad mediada por proteína quinasas, tal como el cáncer, cuyo método comprende administrar a un paciente que necesite tal tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en la presente memoria o una composición farmacéuticamente aceptable que comprende dicho compuesto.

Otro aspecto de la invención se refiere a la inhibición de la actividad proteína quinasa en una muestra biológica, cuyo método comprende poner en contacto la muestra biológica con un compuesto descrito en la presente memoria,

o una composición farmacéuticamente aceptable que comprende dicho compuesto. En ciertas realizaciones, la proteína quinasa es la quinasa Pim.

Otro aspecto de esta invención se refiere a un medio para inhibir la actividad proteínica quinasa en un paciente, cuyo método comprende administrar al paciente un compuesto descrito en la presente memoria o una composición farmacéuticamente aceptable que comprende dicho compuesto. En determinadas realizaciones, la proteína quinasa es una quinasa Pim.

En otra realización, la presente invención se refiere a medios para el tratamiento de diversas afecciones autoinmunitarias y/o inflamatorias. Las realizaciones se exponen en las reivindicaciones.

### Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra los resultados de un ensayo basado en células de un compuesto representativo.

Las Figuras 2A y 2B ilustran la tasa de crecimiento celular en cultivo celular.

Las Figuras 3A y 3B presentan datos de regresión tumoral y peso corporal.

Las Figuras 4A, 4B y 4C muestran datos de crecimiento de colonias.

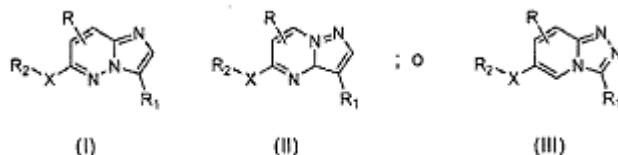
Las Figuras 5A y 5B son gráficos que muestran datos de regresión tumoral y peso corporal.

La Figura 6 presenta datos de la detección de cáncer hematológico.

Las Figuras 7A y 7B muestran datos de regresión tumoral y peso corporal.

### Descripción detallada de la invención

Según un aspecto general, se ilustran compuestos útiles como inhibidores de proteína quinasa y composiciones y métodos relacionados con los mismos. Tienen las estructuras establecidas en los apartados (I), (II) o (III) siguientes:

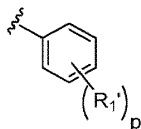


incluyendo estereoisómeros, profármacos, tautómeros y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

X es un enlace directo, NH, N(alquilo), S, O, SO o SO<sub>2</sub>;

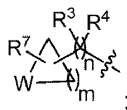
R es H, -OH, halo, alquilo, haloalquilo, alcoxi, haloalcoxi, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo), -N(alquilo)<sub>2</sub>, o -CN;

R<sub>1</sub> es carbociclo opcionalmente sustituido, heterociclo opcionalmente sustituido o R<sub>1</sub> tiene la siguiente estructura:



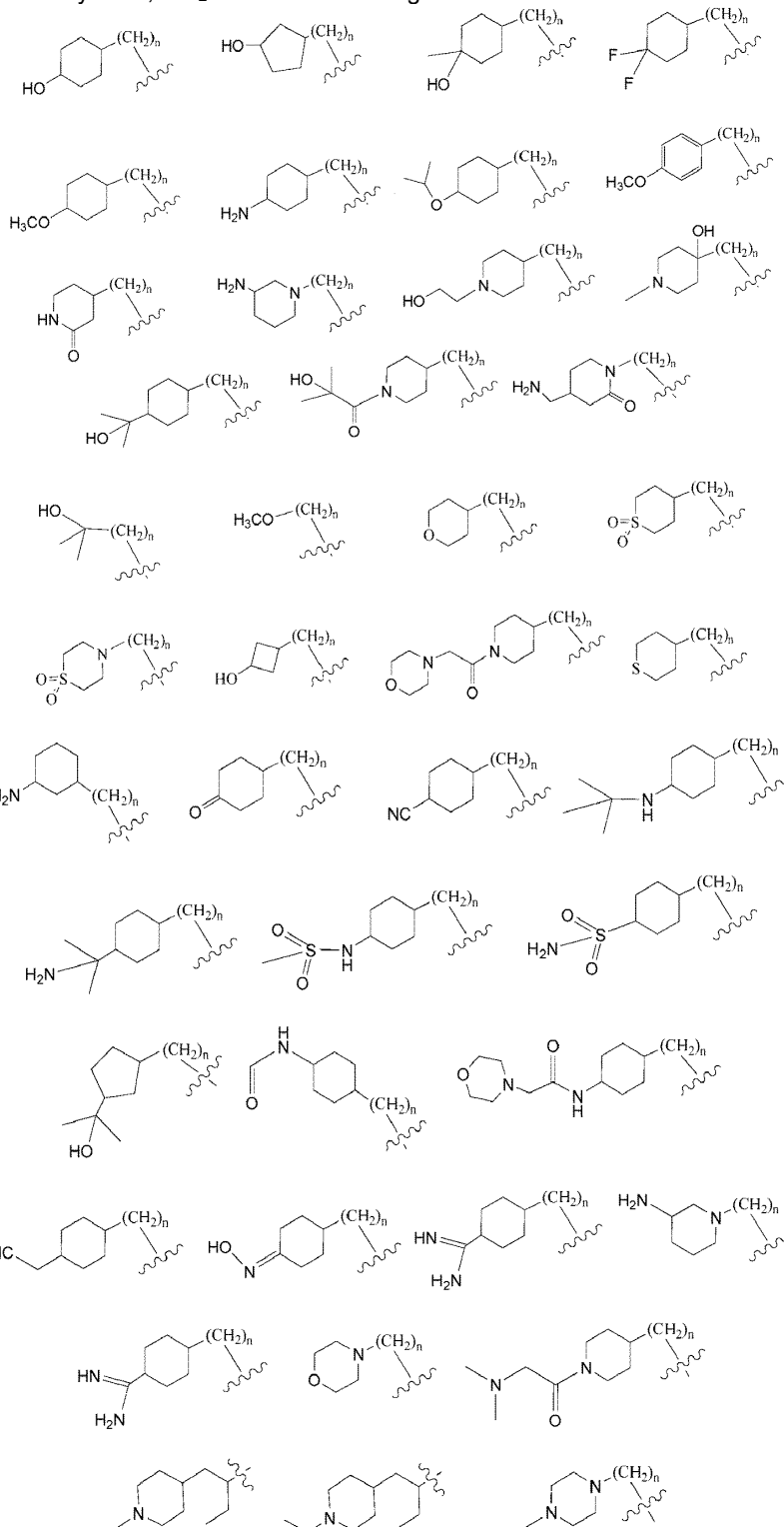
en donde R<sub>1</sub> se selecciona, en cada caso, independientemente entre hidrógeno ciano, alquilo, alcoxi, halo, haloalquilo, haloalcoxi, -OCF<sub>3</sub>, -OCHF<sub>2</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -OH, -COCH<sub>3</sub>, -NHSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> y -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y p es 1, 2 o 3.

R<sub>2</sub> es



-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-ciclobutilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-ciclohexilo, -SO<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-piperonilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-piperidin-2-oniol, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-piperazinilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-tiofenilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-piridilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-pirimidilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-tiomorfolinilsulfona, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-fenilo, (p. ej., fenilo no sustituido) -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-tetrahidropiranilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-tetrahidrotiopiranilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-

tetrahidropirranilsulfona,  $-(CH_2)_n$ -morfolinilo,  $-(CH_2)_nOCH_3$ ,  $-(CH_2)_nOH$ ,  $-(CH_2)_nC(CH_3)_2OH$  o  $-(CH_2)_nN(CH_3)_2$ , donde W es  $-O-$ ,  $-S(O)_z$  o  $>C(R^9)[(CR^{10}R^{11})_yR^{12}]$ ;  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ ,  $R^9$ ,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  son, en cada caso, independientemente H o alquilo;  $R^{12}$  es  $-OH$ ,  $-CN$  o alcoxi; m es 1, 2, 3, 4, 5 o 6; n es 0, 1, 2, 3 o 4; y y z son cada uno independientemente 0, 1 o 2, y cada uno de los radicales anteriores está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes; o  $R_2$  tiene una de las siguientes estructuras:



donde n es 0, 1, 2, 3 o 4 y cada uno de los radicales anteriores está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes.

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos utilizados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones tienen los significados que se describen a continuación:

5 "Alquilo" se refiere a un radical hidrocarbonado saturado lineal o ramificado de uno a seis átomos de carbono (es decir, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), preferiblemente de uno a cuatro átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, 2-propilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo, pentilo, hexilo y similares, preferiblemente metilo, etilo, propilo o 2-propilo. Los alquilos de cadena lineal saturados representativos incluyen metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilo y similares; mientras que los alquilos ramificados saturados incluyen isopropilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, isopentilo y similares. Los alquilos cíclicos saturados representativos incluyen  
10 ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, -CH<sub>2</sub>-ciclohexilo y similares; mientras que los alquilos cíclicos insaturados incluyen ciclopentenilo, ciclohexenilo, -CH<sub>2</sub>-ciclohexenilo y similares. Los alquilos cíclicos también se denominan en la presente memoria "cicloalquilo". Los alquilos insaturados contienen al menos un enlace doble o triple entre átomos de carbono adyacentes (denominados "alquenilo" o "alquinilo", respectivamente). Los alquenilos representativos de cadena lineal y ramificada incluyen etilenilo, propilenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutilenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2-metil-2-butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo y similares; mientras que los alquinilos representativos de cadena lineal y ramificada incluyen acetilenilo, propinilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-metil-1-butenilo y similares.

20 "Alquilenilo" significa un radical hidrocarbonado divalente saturado lineal de uno a seis átomos de carbono o un radical hidrocarbonado divalente saturado ramificado de tres a seis átomos de carbono, p. ej., metileno, etileno, 2,2-dimetiletileno, propileno, 2-metilpropileno, butileno, pentileno y similares, preferiblemente metileno, etileno o propileno.

25 "Cicloalquilo" se refiere a un radical hidrocarbonado cíclico saturado de tres a ocho átomos de carbono, p. ej., ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo.

"Alcoxi" significa un radical -OR<sub>a</sub> donde R<sub>a</sub> es un alquilo como se definió anteriormente, p. ej., metoxi, etoxi, propoxi, butoxi y similares.

30 "Halo" significa flúor, cloro, bromo o yodo, preferiblemente flúor y cloro.

"Haloalquilo" significa alquilo sustituido con uno o más, preferiblemente uno, dos o tres, átomos de halógeno iguales o diferentes, p. ej., -CH<sub>2</sub>Cl, -CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CCl<sub>3</sub>, y similares.

35 "Haloalcoxi" significa un radical -OR<sub>b</sub> donde R<sub>b</sub> es un haloalquilo como se definió anteriormente, p. ej., trifluorometoxi, tricloroetoxi, 2,2-dicloropropoxi y similares.

40 "Acilo" significa un radical -C(O)R<sub>c</sub> donde R<sub>c</sub> es hidrógeno, alquilo o haloalquilo como se define en la presente memoria, p. ej., formilo, acetilo, trifluoroacetilo, butanoílo y similares.

45 "Ariilo" se refiere a grupos monocíclicos o policíclicos de anillo condensado (es decir, anillos que comparten pares adyacentes de átomos de carbono) de 6 a 12 átomos de carbono que tienen un sistema de electrones pi completamente conjugado. Los ejemplos, sin limitación, de grupos ariilo son fenilo, naftilo y antraceno. El grupo ariilo puede estar sustituido o no sustituido. Cuando está sustituido, el grupo ariilo está sustituido con uno o más sustituyentes como se define este término a continuación, más preferiblemente uno, dos o tres, incluso más preferiblemente uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo, haloalquilo, halo, hidroxilo, alcoxi, mercapto, alquilio, ciano, acilo, nitro, fenoxi, heteroarilo, heteroariloxi, haloalquilo, haloalcoxi, carboxi, alcocarbonilo, amino, alquilamino dialquilamino, ariilo, heteroarilo, carbociclo o heterociclo.

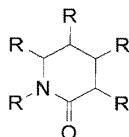
50 "Heteroarilo" se refiere a un grupo anular monocíclico o condensado (es decir, anillos que comparten un par adyacente de átomos) de 5 a 12 átomos anulares que contienen uno, dos, tres o cuatro heteroátomos anulares seleccionados entre N, O o S, el resto los átomos anulares son C y, además, tienen un sistema de electrones pi completamente conjugado. Los ejemplos, sin limitación, de grupos heteroarilo no sustituidos son pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirimidina, quinolina, isoquinolina, purina, triazol, tetrazol, triazina y carbazol. El grupo heteroarilo puede estar sustituido o no sustituido. Cuando está sustituido, el grupo heteroarilo está sustituido con uno o más sustituyentes como se define este término a continuación, más preferiblemente uno, dos o tres, incluso más preferiblemente uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo, haloalquilo, halo, hidroxilo, alcoxi, mercapto, alquilio, ciano, acilo, nitro, haloalquilo, haloalcoxi, carboxi, alcocarbonilo, amino, alquilamino dialquilamino, ariilo, heteroarilo, carbociclo o heterociclo.

"Carbociclo" se refiere a un sistema anular saturado, insaturado o aromático que tiene de 3 a 14 átomos de carbono anulares. El término "carbociclo", ya sea saturado o parcialmente insaturado, también se refiere a

anillos que están opcionalmente sustituidos. El término "carbociclo" incluye arilo. El término "carbociclo" también incluye anillos alifáticos que están fusionados a uno o más anillos aromáticos o no aromáticos, tal como en un decahidronaftilo o tetrahidronaftilo, donde el radical o punto de unión está en el anillo alifático. El grupo carbociclo puede estar sustituido o no sustituido. Cuando está sustituido, el grupo carbociclo está sustituido con uno o más sustituyentes como este término se define a continuación, más preferiblemente uno, dos o tres, incluso más preferiblemente uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo, haloalquilo, halo, hidroxi, alcoxi, mercapto, alquiltio, ciano, acilo, nitro, haloalquilo, haloalcoxi, carboxi, alcocicarbonilo, amino, alquilamino dialquilamino, arilo, heteroarilo, carbociclo o heterociclo.

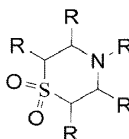
"Heterociclo" se refiere a un sistema anular cíclico aromático, insaturado o saturado que tiene de 3 a 14 átomos anulares en el que uno, dos o tres átomos anulares son heteroátomos seleccionados entre N, O o S(O)<sub>m</sub> (donde m es un número entero de 0 a 2), siendo los átomos restantes del anillo C, donde uno o dos átomos de C pueden opcionalmente ser reemplazados por un grupo carbonilo. El término "heterociclo" incluye heteroarilo. El anillo heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido independientemente con uno o más sustituyentes como se define este término a continuación, preferiblemente uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre alquilo, haloalquilo, cicloalquilamino, cicloalquilalquilo, cicloalquilaminoalquilo, cicloalquilalquilaminoalquilo, cianoalquilo, halo, nitro, ciano, hidroxi, alcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, hidroxialquilo, carboxialquilo, aminoalquilo, alquilaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, aralquilo, heteroaralquilo, arilo, heteroarilo, carbociclo, heterociclo, aralquilo, heteroaralquilo, heterocicloamino saturado o insaturado, heterocicloaminoalquilo saturado o insaturado, y -COR<sub>d</sub> (donde R<sub>d</sub> es alquilo). Más específicamente, el término heterociclilo incluye, pero no se limita a, tetrahidropirranilo, 2,2-dimetil-1,3-dioxolano, piperidino, N-metilpiperidin-3-ilo, piperazino, N-metilpirrolidin-3-ilo, pirrolidino, morfolino, 4-ciclopropilmetilpiperazino, tiomorfolino, tiomorfolino-1-óxido, tiomorfolino-1,1-dióxido, 4-etiloxicarbonilpiperazino, 3-oxopiperazino, 2-imidazolidona, 2-pirrolidinona, 2-oxohomopiperazino, tetrahidropirimidin-2-ona, y derivados de los mismos. En ciertas realizaciones, el grupo heterociclo está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre halo, alquilo, alquilo sustituido con carboxi, éster, hidroxi, alquilamino, heterocicloamino saturado o insaturado, heterocicloaminoalquilo saturado o insaturado o dialquilamino.

"Piperidin-2-onilo" se refiere a un radical que tiene la siguiente estructura:



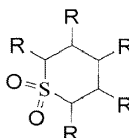
en donde cada R es independientemente hidrógeno, un punto de anclaje o un sustituyente opcional como se define en la presente memoria,

"Tiomorfolinilsulfona" se refiere a un radical que tiene la siguiente estructura:



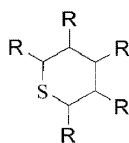
en donde cada R es independientemente hidrógeno, un punto de anclaje o un sustituyente opcional como se define en la presente memoria,

"Tetrahidrotiopianilsulfona" se refiere a un radical que tiene la siguiente estructura:



en donde cada R es independientemente hidrógeno, un punto de anclaje o un sustituyente opcional como se define en la presente memoria,

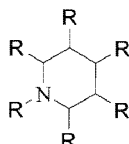
"Tetrahidrotiopianilo" se refiere a un radical que tiene la siguiente estructura:



en donde cada R es independientemente hidrógeno, un punto de anclaje o un sustituyente opcional como se define en la presente memoria.

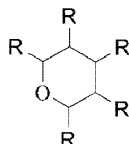
5

"Piperidilo" se refiere a un radical que tiene la siguiente estructura:



10 en donde cada R es independientemente hidrógeno, un punto de anclaje o un sustituyente opcional como se define en la presente memoria.

Tetrahidopirano "se refiere a un radical que tiene la siguiente estructura:



15

en donde cada R es independientemente hidrógeno, un punto de anclaje o un sustituyente opcional como se define en la presente memoria.

20 "Tautómero" se refiere a un compuesto que resulta de la migración formal de un átomo de hidrógeno acompañada por un cambio de un enlace sencillo y un enlace doble adyacente. Por ejemplo, la forma enol y ceto de un compuesto son tautómeros entre sí.

25 "Opcional" u "opcionalmente" significa que el evento o circunstancia descritos posteriormente se pueden producir, pero no necesariamente, y que la descripción incluye casos en los que se producen el evento o circunstancia y casos en los que no se producen. Por ejemplo, "grupo heterocíclico opcionalmente sustituido con un grupo alquilo" significa que el alquilo puede estar presente pero no es necesario, y la descripción incluye situaciones en las que el grupo heterocíclico está sustituido con un grupo alquilo y situaciones en las que el grupo heterociclo no está sustituido con el grupo alquilo.

30 Por último, el término "sustituido" como se emplea en la presente memoria significa cualquiera de los grupos anteriores (p. ej., alquilo, arilo, heteroarilo, carbociclo, heterociclo, etc.) en el que al menos un átomo de hidrógeno se reemplaza por un sustituyente. En el caso de un sustituyente oxo ("=O") se reemplazan dos átomos de hidrógeno. Los "sustituyentes" dentro del contexto de esta invención incluyen halógeno, hidroxilo, oxo, ciano, nitro, amino, alquilamino, dialquilamino, alquilo, alcoxi, tioalquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, heterocicloalquilo, heterocicloalquilo sustituido, amidinilo (-C(=NH)NH<sub>2</sub>), guanidinilo, (-NHC(=NH)NH<sub>2</sub>), oximilo (=NOH), -NR<sub>e</sub>R<sub>F</sub>, -NR<sub>e</sub>C(=O)R<sub>F</sub>, -NR<sub>e</sub>C(=O)NR<sub>e</sub>R<sub>F</sub>, -NR<sub>e</sub>C(=O)O<sub>R</sub>-NR<sub>e</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>F</sub>, -O<sub>e</sub>, -C(=O)R<sub>e</sub>-C(=O)O<sub>e</sub>, -C(=O)NR<sub>e</sub>R<sub>F</sub>, -OC(=O)NR<sub>e</sub>R<sub>F</sub>, -SH, -SR<sub>e</sub>, -SOR<sub>e</sub>, -S(=O)NH<sub>2</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>R<sub>e</sub>, -OS(=O)<sub>2</sub>R<sub>e</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>O<sub>e</sub>, donde R<sub>e</sub> y R<sub>F</sub> son iguales o diferentes e independientemente hidrógeno, alquilo, haloalquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido. En aspectos más específicos de la estructura (I) anterior, los compuestos se ilustran con las estructuras que se indican en la

45 Tabla I a continuación (Compuestos 8-1 a 8-45 y 8-70 a 8-93).

En aspectos más específicos de la estructura (II) anterior, los compuestos se ilustran con las estructuras que se indican en la Tabla II a continuación (Compuestos 8-46 a 8-69 y 8-95 a 8-98).

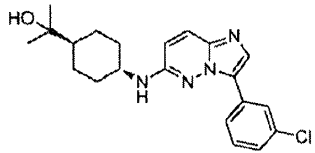
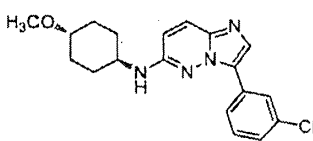
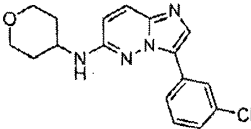
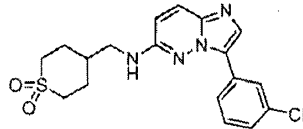
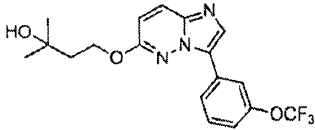
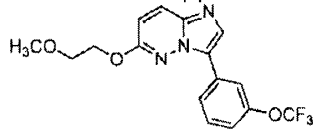
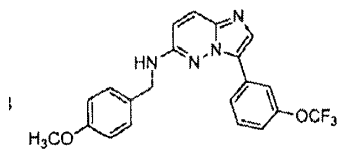
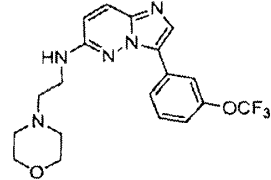
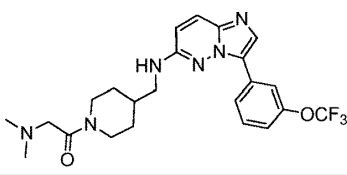
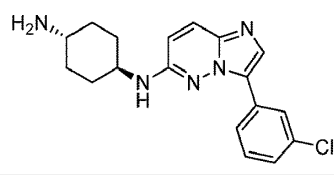
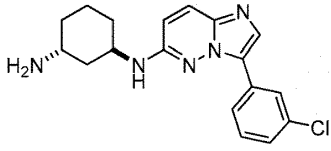
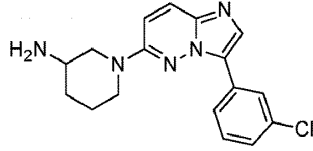
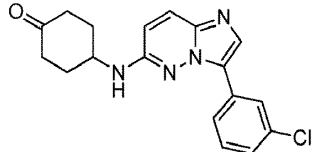
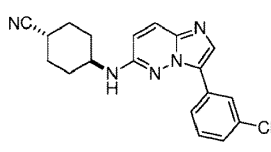
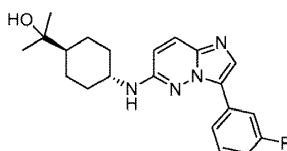
50 En aspectos más específicos de la estructura (III) anterior, los compuestos se ilustran con las estructuras que se indican en la Tabla III a continuación (Compuestos 8-99 a 8-113).

Tabla I. Inhibidores de Pim ilustrativos.

Ej.	Estructura	Ej.	Estructura
8-1		8-2	
8-3		8-4	
8-5		8-6	
8-7		8-8	
8-9		8-10	
8-11		8-12	
8-13		8-14	
8-15		8-16	
8-17		8-18	

Ej.	Estructura	Ej.	Estructura
8-19		8-20	
8-21		8-22	
8-23		8-24	
8-25		8-26	
8-27		8-28	
8-29		8-30	
8-31		8-32	
8-33		8-34	
8-35		8-36	

\*véase la reivindicación 2

Ej.	Estructura	Ej.	Estructura
8-37		8-38	
8-39		8-40	
8-41		8-42	
8-43		8-44	
8-45		8-68	
8-70		8-71	
8-72		8-73	
		8-75	

Ej.	Estructura	Ej.	Estructura
8-76		8-77	
8-78		8-79	
8-80		8-81	
8-82		8-83	
8-84		8-85	
8-86		8-87	
8-88		8-89	
8-90		8-91	

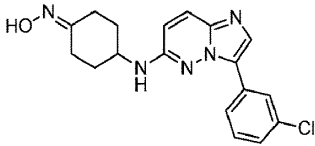
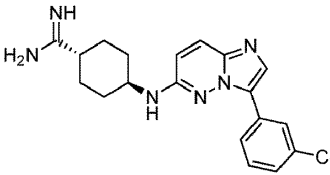
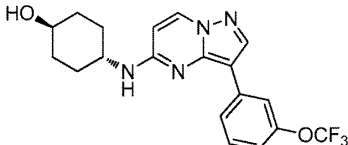
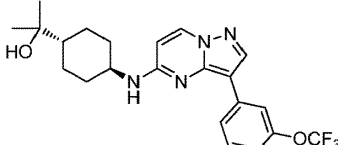
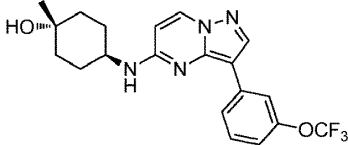
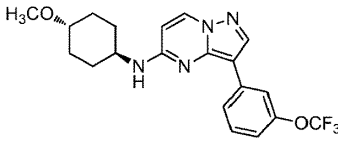
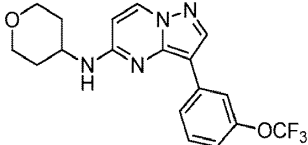
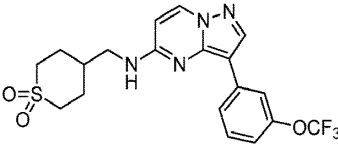
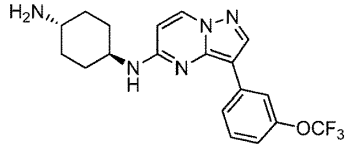
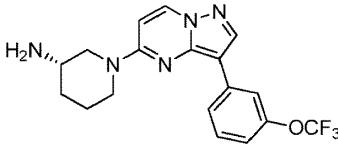
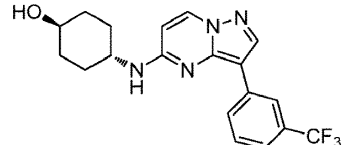
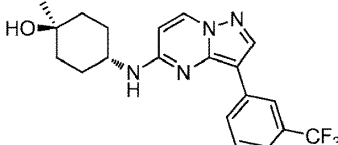
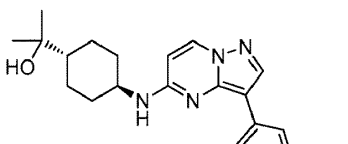
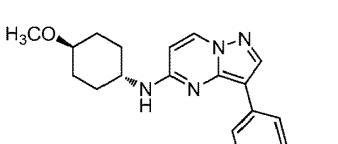
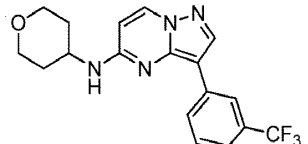
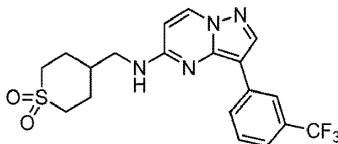
Ej.	Estructura	Ej.	Estructura
8-92		8-93	

Tabla II. Inhibidores de Pim ilustrativos.

Ej.	Estructura	Ej.	Estructura
8-46		8-47	
8-48		8-49	
8-50		8-51	
8-52		8-53	
8-54		8-55	
8-56		8-57	
8-58		8-59	

Ej.	Estructura	Ej.	Estructura
8-60		8-61	
8-62		8-63	
8-64		8-65	
8-66		8-67	
		8-69	
8-95		8-96	
8-97		8-98	

Tabla III. Inhibidores de Pim ilustrativos.

Ej.	Estructura	Ej.	Estructura
8-99		8-100	

Ej.	Estructura	Ej.	Estructura
8-101		8-102	
8-103		8-104	
8-105		8-106	
8-107		8-108	
8-109		8-110	
8-111		8-112	
8-113			

Los compuestos que tienen la misma fórmula molecular, pero difieren en la naturaleza o secuencia de enlace de sus átomos o la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "isómeros". Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "estereoisómeros". Los estereoisómeros que no son imágenes especulares entre sí se denominan "diastereómeros" y los que son imágenes especulares no superponibles entre sí se denominan "enantiómeros". Cuando un compuesto tiene un centro asimétrico, p. ej., está unido a cuatro grupos diferentes, es posible un par de enantiómeros. Un enantiómero se puede caracterizar por la configuración absoluta de su centro asimétrico y se describe mediante las reglas de secuenciación R y S de Cahn y Prelog (Cahn, R., Ingold, C. y Prelog, V. Angew. Chem. 78: 413-47, 1966; Angew. Chem. Internat. Ed. Ing. 5:385-415, 511, 1966), o por la manera en que la molécula gira el plano de la luz polarizada y se designa como dextrorrotatorio o levógiro (es decir, como isómeros (+) o (-)-respectivamente). Un compuesto quiral puede existir como enantiómero individual o como una mezcla de los mismos. Una mezcla que contiene proporciones iguales de enantiómeros se denomina "mezcla racémica".

Los compuestos de esta invención pueden poseer uno o más centros asimétricos; por tanto, dichos compuestos pueden producirse como estereoisómeros (R) o (S) individuales o como mezclas de los mismos. A menos que se indique lo contrario, se pretende que la descripción o la denominación de un compuesto concreto en la memoria

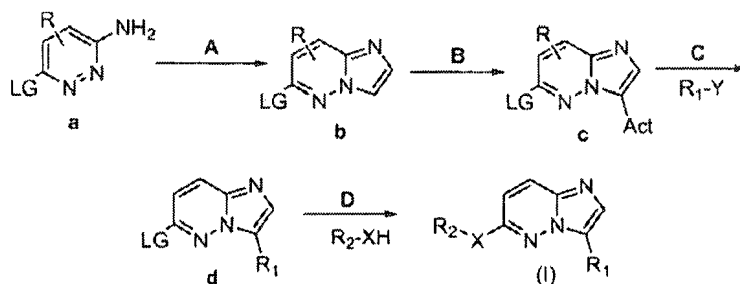
descriptiva y las reivindicaciones incluya tanto enantiómeros individuales como mezclas, racémicas o de otro tipo, de los mismos. Los métodos para la determinación de la estereoquímica y la separación de estereoisómeros son bien conocidos en la técnica (véase discusión en Cap. 4 de ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY, 4ª edición, marzo, J., John Wiley and Sons, Nueva York, 1992).

Los compuestos de la presente invención pueden presentar los fenómenos de tautomería e isomería estructural. Por ejemplo, los compuestos descritos en la presente memoria pueden adoptar una configuración E o Z sobre el doble enlace que conecta el radical 2-indolinona con el radical pirrol o pueden ser una mezcla de E y Z. Esta invención abarca cualquier forma isomérica tautomérica o estructural y sus mezclas que poseen la capacidad de modular la actividad de la quinasa Aurora 2 y no se limitan a ninguna forma tautomérica o isomérica estructural.

Se contempla que un compuesto de la presente invención sería metabolizado por enzimas en el cuerpo del organismo tal como el ser humano para generar un metabolito que pueda modular la actividad de las proteína quinasas.

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica, incluidos los métodos ilustrados en los ejemplos. En un sentido general, los compuestos de estructura (I) se pueden preparar de acuerdo con el Esquema de Reacción General I.

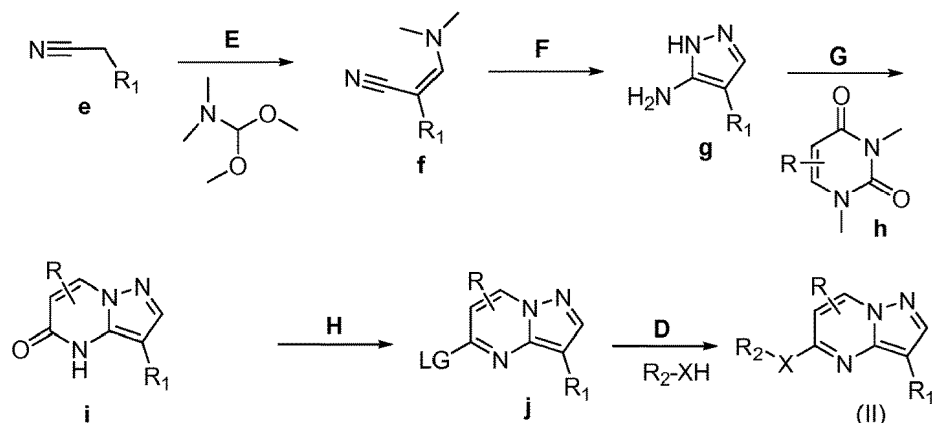
#### Esquema de Reacción General I



Con referencia al esquema de reacción general I, los compuestos de estructura (a), en donde R se define como antes y LG representa un grupo eliminable apropiado (p. ej., cloro, bromo y similares) se pueden comprar o preparar de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. La reacción de (a) con un aldehído activado, tal como 2-bromoacetaldehído, produce compuestos bicíclicos fusionados de estructura (b). La activación de un carbono del anillo de (b), por ejemplo, mediante tratamiento con bromo, da como resultado (c), en donde "Act" es un grupo activador tal como bromo. La arilación de (c) con R<sub>1</sub>-Y, donde Y es un grupo activador apropiado) en condiciones apropiadas (p. ej., acoplamiento de Suzuki, en donde Y es ácido borónico) produce (d). Finalmente, el tratamiento de (d) con R<sub>2</sub>-XH, en donde R<sub>2</sub> y X se han definido en la presente memoria, da como resultado compuestos de estructura (I). En ciertas realizaciones, un catalizador, tal como paladio (p. ej., catalizadores de Buchwald y similares), puede ser útil para efectuar el acoplamiento de R<sub>2</sub>-Z y (d). La oxidación o alquilación opcionales utilizando métodos conocidos en la técnica se emplean para producir compuestos que tienen varios radicales X.

Los compuestos de estructura (II) se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica, incluidos los métodos ilustrados en los ejemplos. Un método de preparación general para compuestos de estructura (II) se representa en el Esquema de Reacción General II.

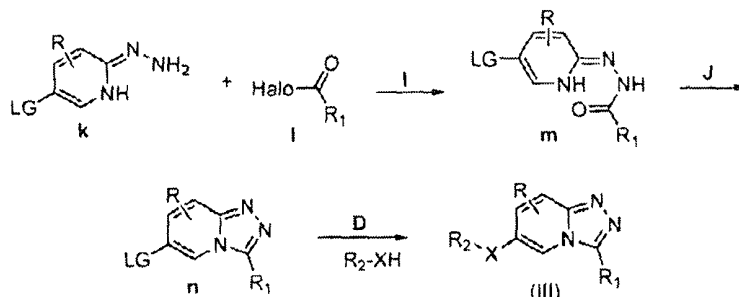
## Esquema de Reacción General II



En referencia al Esquema de Reacción General II, los nitrilos de estructura (e) pueden tratarse con amino acetales en condiciones alcalinas para producir (f). Los compuestos de estructura (f) se pueden hacer reaccionar a continuación con hidrazina en condiciones ácidas (p. ej., ácido acético) para producir pirazoles de estructura (g). (g) a continuación se puede ciclar mediante tratamiento con h en presencia de una base (p. ej., etóxido de sodio) para producir (i). La reducción de (i) con un reactivo apropiado (p. ej.,  $\text{POCl}_3$ ) produce (j), en donde LG es un grupo eliminable apropiado (p. ej., halógeno tal como cloro o bromo). Finalmente, los compuestos de estructura (II) se preparan como se describe para la etapa D en el Esquema de Reacción General (I).

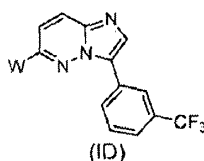
Los compuestos de estructura (III) se pueden preparar de acuerdo con el Esquema de Reacción General III. Los compuestos de estructura k, en donde LG representa un grupo eliminable apropiado tal como bromo, se pueden adquirir de fuentes comerciales o preparar de acuerdo con métodos conocidos en la técnica y/o descritos en la presente memoria. La reacción de k con un ácido halogenado apropiado (p. ej., cloruro de ácido) da como resultado compuestos de estructura m. La ciclación de m por tratamiento en condiciones de deshidratación (p. ej., ácido acético/HCl) da como resultado compuestos de estructura n. Finalmente, los compuestos de estructura (III) se obtienen como se describe para la etapa D en el Esquema de Reacción General (I).

## Esquema de Reacción General III

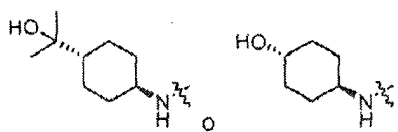


Un experto en la técnica reconocerá que los Esquemas Generales de Reacción I, II y III anteriores se pueden modificar en cualquier número de etapas y se puede cambiar el orden de las etapas. Además, se pueden emplear grupos protectores y otras estrategias bien conocidas por un experto en la técnica, incluso si no se describen específicamente en la presente memoria.

Los autores de la presente invención han descubierto que los compuestos de la presente invención se pueden preparar a gran escala (p. ej., más de 50 g) de acuerdo con los procedimientos generales descritos anteriormente. Se ilustra un método para preparar un compuesto que tiene la siguiente estructura (ID):

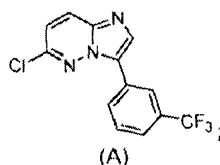


o una sal del mismo, en donde W es



comprendiendo el método:

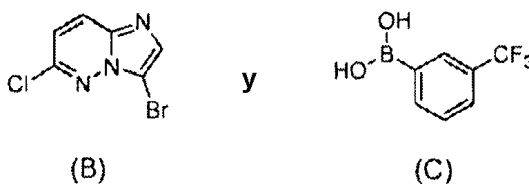
- 5 a) hacer reaccionar W-H con un compuesto de estructura (A):



- 10 en presencia de CsF; y  
b) aislar (ID) en forma de un sólido,  
en donde W-H indica un radical W (como se definió anteriormente) que tiene un átomo de hidrógeno que completa su valencia.

- 15 En ciertos casos del método anterior, W-H y (A) se hacen reaccionar en presencia de una base. Por ejemplo, la base es diisopropiletilamina.

(A) se puede preparar mediante la reacción de (B) y (C):

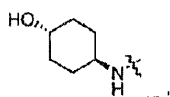


- 20 en presencia de un catalizador de paladio y una base. Por ejemplo, el catalizador de paladio puede ser  $\text{Pd}(\text{Ph}_3)_4$  y/o la base puede ser carbonato de potasio.

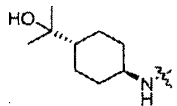
- 25 A veces, el método comprende adicionalmente tratar el sólido con un ácido para obtener una sal de (ID). En algunas realizaciones, el ácido es HCl, ácido maleico o ácido metanosulfónico.

A veces, el método anterior comprende adicionalmente recrystallizar el sólido en un disolvente, p. ej., metanol.

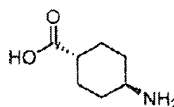
- 30 W puede ser



o



- 35 W-H se puede preparar mediante un método que comprende la alquilación de



- 40 o un derivado protegido con carboxi o amino o una sal del mismo. Por ejemplo, la alquilación puede comprender la reacción con un compuesto haluro de metilmagnesio tal como cloruro de metilmagnesio, bromuro de metilmagnesio o yoduro de metilmagnesio.

(ID) se puede preparar a escalas de 50 gramos o más.

Un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede administrar tal cual a un paciente humano o se puede administrar en composiciones farmacéuticas en las que los materiales anteriores se mezclan con portadores o excipientes adecuados. Las técnicas para la formulación y administración de fármacos se pueden encontrar, p. ej., en REMINGTON'S PHARMACOLOGICAL SCIENCES, Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición.

Una "composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de uno o más de los compuestos descritos en la presente memoria, o sus sales o profármacos farmacéuticamente aceptables, con otros componentes químicos, tales como excipientes farmacéuticamente aceptables. El propósito de una composición farmacéutica es facilitar la administración de un compuesto a un organismo.

"Excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar adicionalmente la administración de un compuesto. Los ejemplos, sin limitación, de excipientes incluyen carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.

"Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades del compuesto parental. Tales sales pueden incluir: (1) sal de adición de ácido que se obtiene por reacción de la base libre del compuesto original con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico y similares, o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido (D)- o (L)-málico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido glutámico o ácido malónico y similares, preferiblemente ácido clorhídrico o ácido (L)-málico; o (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto parental se reemplaza por un ion metálico, p. ej., un ion de metal alcalino, un ion alcalinotérreo o un ion de aluminio; o se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina y similares.

Un "profármaco" se refiere a un agente que se convierte en el fármaco parental *in vivo*. Los profármacos suelen ser útiles porque, en algunas situaciones, pueden ser más fáciles de administrar que el fármaco parental. Pueden, por ejemplo, estar biodisponibles mediante administración oral, mientras que el fármaco parental no lo está. El profármaco también puede tener una mejor solubilidad en composiciones farmacéuticas que el fármaco parental. Un ejemplo de profármaco sería un compuesto que se administra como un éster (el "profármaco"), fosfato, amida, carbamato o urea.

"Cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto que se administra que aliviará hasta cierto punto uno o más de los síntomas del trastorno que se está tratando. En referencia al tratamiento del cáncer, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a aquella cantidad que tiene el efecto de: (1) reducir el tamaño del tumor; (2) inhibir la metástasis tumoral; (3) inhibir el crecimiento tumoral; y/o (4) aliviar uno o más síntomas asociados con el cáncer.

El término "afección mediada por proteína quinasa" o "enfermedad", como se emplea en la presente memoria, significa cualquier enfermedad u otra afección perjudicial en la que se sabe que una proteína quinasa juega un papel. El término "afección mediada por proteína quinasa" o "enfermedad" también significa aquellas enfermedades o afecciones que se alivian mediante el tratamiento con un inhibidor de proteína quinasa. Tales afecciones incluyen, sin limitación, cánceres que expresan quinasas Pim, particularmente quinasa Pim-1, y otros trastornos hiperproliferativos asociados con la expresión de quinasa Pim. En ciertas realizaciones, el cáncer es un cáncer de colon, mama, estómago, próstata, páncreas o tejido ovárico.

El término "afección mediada por quinasa Pim" o "enfermedad", como se emplea en la presente memoria, significa cualquier enfermedad u otra condición deletérea en la que se sabe que la quinasa Pim 1, la quinasa Pim 2 y/o la quinasa Pim 3 se expresan y/o juegan un papel. La expresión "afección mediada por Pim quinasa" o "enfermedad" también significa aquellas enfermedades o afecciones que se alivian mediante el tratamiento con un inhibidor de quinasa Pim.

Como se usa en la presente memoria, "administrar" o "administración" se refiere al suministro de un compuesto de la invención o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o de una composición farmacéutica que contiene un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de esta invención a un organismo con el propósito de la prevención o el tratamiento de un trastorno relacionado con proteínas quinasa.

Las vías de administración adecuadas pueden incluir, sin limitación, administración oral, rectal, transmucosa o intestinal o inyecciones intramuscular, subcutánea, intramedular, intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intravítrea, intraperitoneal, intranasal o intraocular. En determinadas realizaciones, las vías de administración

preferidas son la oral y la intravenosa.

Alternativamente, se puede administrar el compuesto de manera local en lugar de sistémica, por ejemplo, mediante la inyección del compuesto directamente en un tumor sólido, a menudo en una formulación de depósito o de liberación sostenida.

Además, se puede administrar el fármaco en un sistema de suministro de fármaco dirigido, por ejemplo, en un liposoma recubierto con un anticuerpo específico de tumor. De esta forma, los liposomas pueden ser dirigidos y absorbidos selectivamente por el tumor.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden fabricar mediante procedimientos bien conocidos en la técnica, p. ej., mediante procedimientos convencionales de mezcla, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización.

Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la presente invención se pueden formular de cualquier manera convencional utilizando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y agentes auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que se pueden utilizar farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida.

Para su inyección, los compuestos de la invención se pueden formular en soluciones acuosas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hanks, solución de Ringer o tampón salino fisiológico. Para la administración transmucosa, se utilizan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera que se debe penetrar. Tales penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

Para la administración oral, los compuestos se pueden formular combinando los compuestos activos con portadores farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Tales portadores permiten formular los compuestos de la invención en forma de comprimidos, píldoras, pastillas, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y similares, para la ingestión oral por parte de un paciente. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden preparar utilizando un excipiente sólido, triturando opcionalmente la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir otros agentes auxiliares adecuados si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes útiles son, en particular, cargas como tales azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol, preparaciones de celulosa como, p. ej., almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz y almidón de patata y otros materiales tales como gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, se pueden añadir agentes disgregantes, tales como polivinilpirrolidona entrecruzada, agar o ácido alginico. También se puede utilizar una sal tal como alginato de sodio.

Los núcleos de grageas se proporcionan con revestimientos adecuados. Para este propósito, se pueden utilizar soluciones de azúcar concentradas que pueden contener opcionalmente goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel de carboxipol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y disolventes orgánicos o mezclas de disolventes adecuados. Se pueden añadir colorantes o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos de grageas para identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuesto activo.

Las composiciones farmacéuticas que se pueden utilizar por vía oral incluyen cápsulas de ajuste a presión elaboradas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas elaboradas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste a presión pueden contener los ingredientes activos mezclados con una carga tal como lactosa, un aglutinante tal como almidón y/o un lubricante tal como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizadores. En las cápsulas blandas, los compuestos activos se pueden disolver o suspender en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. También se pueden añadir estabilizadores en estas formulaciones. Las composiciones farmacéuticas que también se pueden utilizar incluyen cápsulas de gelatina dura. Las cápsulas o píldoras se pueden envasar en frascos de plástico o vidrio de color pardo para proteger el compuesto activo de la luz. Los recipientes que contienen la formulación de cápsulas de compuesto activo se almacenan preferiblemente a temperatura ambiente controlada (15-30°C).

Para la administración por inhalación, los compuestos para uso de acuerdo con la presente invención se pueden administrar convenientemente en forma de aerosol utilizando un paquete presurizado o un nebulizador y un propelente adecuado, p. ej., sin limitación, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetra-fluoroetano o dióxido de carbono. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación se puede controlar proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Se pueden formular cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para su uso en un inhalador o insuflador que contengan una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Los compuestos también se pueden formular para administración parenteral, p. ej., mediante inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, p. ej., en

ampollas o en envases multidosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener materiales de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

- 5 Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de una forma soluble en agua, tal como, sin limitación, una sal del compuesto activo. Además, se pueden preparar suspensiones de los compuestos activos en un vehículo lipófilo. Los vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, ésteres de ácidos grasos sintéticos tales como oleato de etilo y triglicéridos, o materiales tales como liposomas. Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizadores y/o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.

- 10 Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para reconstituir con un vehículo adecuado, p. ej., agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

Los compuestos también se pueden formular en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, utilizando, p. ej., bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

- 20 Además de las formulaciones descritas anteriormente, los compuestos también se pueden formular como preparaciones de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada se pueden administrar mediante implantación (p. ej., subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Se puede formular un compuesto de esta invención para esta vía de administración con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (p. ej., en una emulsión con un aceite farmacológicamente aceptable), con resinas de intercambio iónico, o como un derivado escasamente soluble tal como, sin limitación, una sal poco soluble.

- Un ejemplo no limitante de un portador farmacéutico para los compuestos hidrófobos de la invención es un sistema co-disolvente que comprende alcohol bencílico, un tensioactivo no polar, un polímero orgánico miscible en agua y una fase acuosa tal como el sistema co-disolvente VPD. VPD es una solución al 3% p/v de alcohol bencílico, 8% p/v del tensioactivo no polar polisorbato 80 y 65% p/v de polietilenglicol 300, completada hasta el volumen en etanol absoluto. El sistema de co-disolvente de VPD (VPD:D5W) consiste en VPD diluido 1:1 con una solución de dextrosa al 5% en agua. Este sistema co-disolvente disuelve bien los compuestos hidrófobos y por sí mismo produce una baja toxicidad tras la administración sistémica. Naturalmente, las proporciones de tal sistema co-disolvente se pueden variar considerablemente sin destruir sus características de solubilidad y toxicidad. Además, la identidad de los componentes del co-disolvente puede variar: por ejemplo, se pueden utilizar otros tensioactivos no polares de baja toxicidad en lugar del polisorbato 80, el tamaño de la fracción de polietilenglicol puede variar, otros polímeros biocompatibles pueden reemplazar al polietilenglicol, p. ej., polivinilpirrolidona y otros azúcares o polisacáridos pueden sustituir a la dextrosa.

- 40 Alternativamente, se pueden emplear otros sistemas de suministro de compuestos farmacéuticos hidrófobos. Los liposomas y las emulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos de suministro o portadores de fármacos hidrófobos. Además, también se pueden emplear ciertos disolventes orgánicos tales como dimetilsulfóxido, aunque a menudo a costa de una mayor toxicidad.

- 45 Además, los compuestos se pueden administrar utilizando un sistema de liberación sostenida, tales como matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el agente terapéutico. Se han establecido diversos materiales de liberación sostenida y son bien conocidos por los expertos en la técnica. Las cápsulas de liberación sostenida pueden, dependiendo de su naturaleza química, liberar los compuestos durante algunas semanas hasta más de 100 días. Dependiendo de la naturaleza química y la estabilidad biológica del reactivo terapéutico, se pueden emplear estrategias adicionales para la estabilización de proteínas.

- 50 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender portadores o excipientes en fase sólida o de gel adecuados. Los ejemplos de tales portadores o excipientes incluyen, pero no se limitan a, carbonato cálcico, fosfato cálcico, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

- Muchos de los compuestos moduladores de proteínas quinasa de la invención se pueden proporcionar como sales fisiológicamente aceptables en las que el compuesto reivindicado puede formar especies cargadas negativamente o positivamente. Los ejemplos de sales en las que el compuesto forma el resto cargado positivamente incluyen, sin limitación, amonio cuaternario (definido en otra parte de la presente memoria), sales tales como hidrocloreto, sulfato, carbonato, lactato, tartrato, malato, maleato, succinato en donde el átomo de nitrógeno del grupo amonio cuaternario es un nitrógeno del compuesto seleccionado de esta invención que ha reaccionado con el ácido apropiado. Las sales en las que un compuesto de esta invención forma las especies cargadas negativamente incluyen, sin limitación, las sales de sodio, potasio, calcio y magnesio formadas por la reacción de un grupo ácido carboxílico en

el compuesto con una base apropiada (p. ej., hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), hidróxido de calcio (Ca(OH)<sub>2</sub>), etc.).

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en la presente invención incluyen composiciones en las que los ingredientes activos están contenidos en una cantidad suficiente para lograr el propósito pretendido, p. ej., la modulación de la actividad proteína quinasa y/o el tratamiento o prevención de un trastorno relacionado con la proteína quinasa.

Más específicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz significa una cantidad de compuesto eficaz para prevenir, aliviar o mejorar los síntomas de la enfermedad o prolongar la supervivencia del sujeto que está siendo tratado.

La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz está dentro de la capacidad de los expertos en la técnica, especialmente a la luz de la descripción detallada proporcionada en la presente memoria.

Para cualquier compuesto utilizado en los métodos de la invención, la cantidad o dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. A continuación, la dosis se puede formular para su uso en modelos animales a fin de lograr un intervalo de concentración circulante que incluya la CI<sub>50</sub> según se determina en cultivo celular (es decir, la concentración del compuesto de prueba que logra una inhibición semimáxima de la actividad proteína quinasa). A continuación, dicha información se puede utilizar para determinar con mayor precisión las dosis útiles en seres humanos.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de los compuestos descritos en la presente memoria se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, p. ej., determinando la CI<sub>50</sub> y la DL<sub>50</sub> (las cuales se tratan en otra parte de la presente memoria) para un compuesto sujeto. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivo celular y estudios en animales se pueden utilizar para formular un intervalo de dosificación para uso en seres humanos. La dosificación puede variar dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. El médico individual puede elegir la formulación, vía de administración y dosificación exactas en vista del estado del paciente. (Véase, p. ej., GOODMAN & GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, Cap. 3, 9ª ed., Ed. por Hardman, J. y Limbard, L., McGraw-Hill, Nueva York, 1996, pág. 46.)

La cantidad y el intervalo de dosificación se pueden ajustar individualmente para proporcionar niveles plasmáticos de la especie activa que sean suficientes para mantener los efectos moduladores de la quinasa. Estos niveles plasmáticos se conocen como concentraciones mínimas eficaces (MEC). El MEC variará para cada compuesto, pero se puede estimar a partir de los datos *in vitro*, p. ej., la concentración necesaria para lograr una inhibición de 50-90% de una quinasa se puede determinar utilizando los ensayos descritos en la presente memoria. Las dosis necesarias para lograr la MEC dependerán de las características individuales y la vía de administración. Se pueden utilizar ensayos de HPLC o bioensayos para determinar las concentraciones plasmáticas.

Los intervalos de dosificación también se pueden determinar utilizando el valor de la CME. Los compuestos se deben administrar utilizando un régimen que mantenga los niveles plasmáticos por encima de la CME durante 10-90% del tiempo, preferiblemente entre 30-90% y lo más preferiblemente entre 50-90%.

En la actualidad, las cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos de la presente invención pueden oscilar entre aproximadamente 2,5 mg/m<sup>2</sup> y 1500 mg/m<sup>2</sup> por día. Cantidades ilustrativas adicionales oscilan entre 0,2-1000 mg/qid, 2-500 mg/qid y 20-250 mg/qid.

En los casos de administración local o captación selectiva, la concentración local eficaz del fármaco puede no estar relacionada con la concentración plasmática, y se pueden emplear otros procedimientos conocidos en la técnica para determinar la cantidad y el intervalo de dosificación correctos.

La cantidad de composición administrada dependerá, por supuesto, del sujeto que se esté tratando, la gravedad de la aflicción, la forma de administración, el criterio del médico que prescribe, etc.

Las composiciones se pueden presentar, si se desea, en un paquete o dispositivo dispensador, tal como un kit aprobado por la FDA, que puede contener una o más formas de dosificación unitarias que contienen el ingrediente activo. El paquete puede comprender, por ejemplo, una lámina de metal o plástico, tal como un blíster. El envase o dispositivo dispensador puede ir acompañado de instrucciones de administración. El paquete o dispensador también puede ir acompañado de un aviso asociado con el recipiente en una forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos, cuyo aviso refleja la aprobación por parte de la agencia de la forma de las composiciones o de la administración a seres humanos o veterinaria. Tal aviso, p. ej., puede ser del etiquetado aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos de los EE. UU. para medicamentos recetados o de un prospecto de producto aprobado. Las composiciones que comprenden un compuesto de la

invención formulado en un portador farmacéutico compatible también se pueden preparar, colocar en un recipiente apropiado y etiquetar para el tratamiento de una afección indicada. Las afecciones adecuadas indicadas en la etiqueta pueden incluir el tratamiento de un tumor, la inhibición de la angiogénesis, el tratamiento de la fibrosis, la diabetes y similares.

Ciertas realizaciones de los compuestos de la presente invención son inhibidores de la quinasa PIM de molécula pequeña que reducen el crecimiento de xenoinjertos de tumores sólidos en los que la tumorigenicidad está mediada por la expresión en exceso de PIM-1 o PIM-2, así como tumores de carcinoma de vejiga humano, tumores de próstata independientes de andrógenos y modelos de LMA que albergan FLT3 de tipo salvaje o la mutación FLT3-ITD. Sin desear estar ligados a ninguna teoría, la combinación de la inhibición de los tres miembros de la familia PIM juntos en un compuesto puede promover la actividad antitumoral observada.

El trabajo anterior que evaluó el carcinoma de vejiga indicó que PIM-1 se expresó en más de 80% de los tejidos malignos en comparación con el epitelio normal, y la expresión mejoró al comparar muestras derivadas de pacientes con cáncer de vejiga con tumores invasivos frente a no invasivos (Guo, S (2010) J Exp Clin Cancer Res 29:161). Adicionalmente, se demostró que la eliminación del ARNhc de PIM-1 en líneas celulares de carcinoma de vejiga redujo el crecimiento de las células *in vitro*, lo que indica un papel destacado para PIM-1 en el carcinoma de vejiga (Guo, S (2010) J Exp Clin Cancer Res 29:161). Como se demuestra en los ejemplos, un compuesto representativo de la invención en el modelo de cáncer de vejiga UM-UC-3 *in vitro* mostró una fenocopia eficaz por el compuesto en comparación con la modificación para reducir la expresión del gen mediada por ARNhc. El compuesto redujo el crecimiento de xenoinjertos UM-UC-3 establecidos, lo que sugiere que la expresión en exceso de PIM-1 en tumores de vejiga de pacientes puede ser sensible a la perturbación. Los ejemplos también demuestran que los xenoinjertos de cáncer de próstata PC3 fueron inhibidos por un compuesto representativo. Sin desear estar ligados a ninguna teoría, ciertas realizaciones de los presentes compuestos pueden inhibir ventajosamente la función de la quinasa PIM en el entorno del tumor sólido mediante la inhibición de las tres quinasas PIM para un efecto antitumoral.

La LMA también representa una importante indicación de interés para la selección de los inhibidores de la quinasa PIM basados en la expresión en exceso de PIM-1 y PIM-2 (Brault, L (2010) Haematologica 95:1004; Magnuson, NS (2010) Future Oncol 6:1461; Nawijn, MC (2011) Nature Rev Cancer 11:23; Alvarado, Y (2012) Expert. Rev. Hematol 5:81), así como la quinasa FLT3, donde aproximadamente 25% de los pacientes con LMA tienen células tumorales que expresan la mutación conductora FLT3-ITD (Kottaridis PD (2001) Blood 98:1752). En las evaluaciones de los modelos de líneas celulares de LMA para los efectos de los inhibidores de la quinasa PIM, varios grupos informaron sensibilidad en los modelos que expresan la mutación FLT3-ITD (Chen, LS (2011) Blood 118:693; Pierre, F (2012) BMCL 22:3327; Blanco-Aparicio, C(2011) Cancer Lett 300:145; Fathi, AT (2012) Leuk Res 36:224). La expresión en exceso de PIM-2 en muestras de pacientes con LMA sugiere un vínculo entre malignidad y expresión (Tamburini, J (2009) Blood 114:1618).

Como se muestra en los ejemplos, un compuesto representativo demostró una mejora de 5 veces en la citotoxicidad celular *in vitro* en las células mutantes FLT3-ITD en comparación con las células que expresan FLT3 de tipo salvaje correlacionadas con la regresión del xenoinjerto frente a un efecto antitumoral parcial. Por consiguiente, se cree que ambas poblaciones de pacientes con LMA, basándose en el estado de FLT3, se pueden beneficiar del tratamiento con un inhibidor de la quinasa PIM según la presente invención.

Como se mencionó anteriormente, los compuestos y composiciones de la invención encontrarán utilidad en una amplia gama de enfermedades y afecciones mediadas por proteína quinasas, incluidas enfermedades y afecciones mediadas por la quinasa PIM. Tales enfermedades pueden incluir, a modo de ejemplo y no de limitación, cánceres tales como cáncer de pulmón, CPCNP (cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer de células de avena, cáncer de hueso, cáncer de páncreas, cáncer de piel, dermatofibrosarcoma protuberans, cáncer de cabeza y cuello, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, tumores ginecológicos (p. ej., sarcomas uterinos, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma de endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina o carcinoma de vulva), enfermedad de Hodgkin, cáncer hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer del sistema endocrino (p. ej., cáncer de tiroides, páncreas, paratiroides o glándulas suprarrenales), sarcomas de tejidos blandos, cáncer de uretra, cáncer de pene, cáncer de próstata (especialmente refractario a hormonas), leucemia crónica o aguda, tumores sólidos de la infancia, hipereosinofilia, linfomas linfocíticos, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o de úter (p. ej., carcinoma de células renales, carcinoma de pelvis renal), neoplasias malignas pediátricas, neoplasias del sistema nervioso central (p. ej., linfoma primario del SNC, tumores del eje espinal, meduloblastoma, gliomas del tronco encefálico o adenomas pituitarios), esófago de Barrett (síndrome pre-maligno), enfermedad cutánea neoplásica, psoriasis, micosis fungoide e hipertrofia prostática benigna, enfermedades relacionadas con la diabetes tales como retinopatía diabética, isquemia retiniana y neovascularización retiniana, cirrosis hepática, angiogénesis, enfermedad cardiovascular tal como aterosclerosis, enfermedad inmunológica como enfermedad autoinmunitaria y enfermedad renal.

En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la invención se pueden utilizar en métodos para tratar

cánceres tales como neoplasias malignas hematológicas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la invención se pueden utilizar en métodos para tratar la leucemia mieloide aguda (LMA). Otros métodos incluyen el tratamiento del cáncer de vejiga o el tratamiento del cáncer de próstata.

- 5 Los compuestos de la invención (es decir, compuestos (I), (II) y (III)) se pueden utilizar combinados con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos. La dosis de los compuestos de la invención se puede ajustar para cualquier reacción fármaco-fármaco. En una realización, el agente quimioterapéutico se selecciona del grupo que consiste en inhibidores mitóticos, agentes alquilantes, antimetabolitos, inhibidores del ciclo celular, enzimas, inhibidores de topoisomerasa tales como CAMPTOSAR (irinotecán), modificadores de la respuesta biológica, antihormonas, agentes antiangiogénicos tales como como inhibidores de MMP-2, MMP-9 y COX-2, anti-andrógenos, complejos de coordinación de platino (cisplatino, etc.), ureas sustituidas tales como hidroxiaurea; derivados de metilhidrazina, p. ej., procarbazona; supresores adrenocorticales, p. ej., mitotano, aminoglutetimida, hormonas y antagonistas de hormonas tales como los adrenocorticosteroides (p. ej., prednisona), progestinas (p. ej., caproato de hidroxiprogesterona), estrógenos (p. ej., dietilestilbesterol), antiestrógenos tales como tamoxifeno, andrógenos, p. ej. propionato de testosterona, e inhibidores de aromatasa, tales como anastrozol y AROMASIN (exemestano).

Los ejemplos de agentes alquilantes con los que se puede realizar el método anterior combinado incluyen, sin limitación, fluorouracilo (5-FU) solo o combinado adicionalmente con leucovorina; otros análogos de pirimidina tales como UFT, capecitabina, gemcitabina y citarabina, alquil sulfonatos, p. ej., busulfán (utilizado en el tratamiento de la leucemia granulocítica crónica), improsulfán y piposulfán; aziridinas, p. ej., benzodepa, carbocuna, meturedepa y uredepa; etileniminas y metilmelaminas, p. ej., altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilenfosforamida y trimetilolmelamina; y mostazas nitrogenadas, p. ej., clorambucilo (utilizado en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica, macroglobulinemia primaria y linfoma no Hodgkin), ciclofosfamida (utilizada en el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, tumor de Wilm y rhabdomyosarcoma), estramustina, ifosfamida, novembricina, prednimustina y mostaza de uracilo (utilizados en el tratamiento de trombocitosis primaria, linfoma no Hodgkin, enfermedad de Hodgkin y cáncer de ovario); y triazinas, p. ej., dacarbazina (utilizada en el tratamiento del sarcoma de tejidos blandos).

Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos antimetabolitos con los que se puede llevar a cabo el método anterior combinado incluyen, sin limitación, análogos del ácido fólico, p. ej., metotrexato (utilizado en el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda, coriocarcinoma, micosis fungoides, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello y sarcoma osteogénico) y pteropterina; y análogos de purina tales como mercaptopurina y tioguanina que encuentran uso en el tratamiento de leucemias granulocíticas agudas, linfocíticas agudas y granulocíticas crónicas.

Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos basados en productos naturales con los que se puede llevar a cabo el método anterior combinado incluyen, sin limitación, los alcaloides de vinca, p. ej., vinblastina (utilizada en el tratamiento del cáncer de mama y testicular), vincristina y vindesina; las epipodofilotoxinas, p. ej., etopósido y tenipósido, ambos útiles en el tratamiento del cáncer testicular y el sarcoma de Kaposi; los agentes quimioterapéuticos antibióticos, p. ej., daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, mitomicina (utilizada para tratar el cáncer de estómago, cuello uterino, colon, mama, vejiga y páncreas), dactinomicina, temozolomida, plicamicina, bleomicina (utilizada en el tratamiento del cáncer de piel, esófago y del tracto genitourinario); y los agentes quimioterapéuticos enzimáticos tales como L-asparaginasa.

Los ejemplos de inhibidores de COX-II útiles incluyen Vioxx, CELEBREX (celecoxib), valdecoxib, paracoxib, rofecoxib y Cox 189.

Ejemplos de inhibidores de metaloproteinasas de matriz útiles se describen en el documento WO 96/33172 (published 24 de octubre de 1996), el documento WO 96/27583 (publicado el 7 de marzo de 1996), la Solicitud de Patente Europea Núm. 97304971.1 (presentada el 8 de julio de 1997), la Solicitud de Patente Europea Núm. 99308617.2 (presentada el 29 de octubre de 1999), el documento WO 98/07697 (publicado el 26 de febrero de 1998), el documento WO 98/03516 (publicado el 29 de enero de 1998), el documento WO 98/34918 (publicado el 13 de agosto de 1998), el documento WO 98/34915 (publicado el 13 de agosto de 1998), el documento WO 98/33768 (publicado el 6 de agosto de 1998), el documento WO 98/30566 (publicado el 16 de julio de 1998), la Publicación de Patente Europea Núm. 606.046 (publicada el 13 de julio de 1994), la Publicación de Patente Europea 931.788 (publicada el 28 de julio de 1999), el documento WO 90/05719 (publicado el 31 de mayo de 1990), el documento WO 99/52910 (publicado el 21 de octubre de 1999), el documento WO 99/52889 (publicado el 21 de octubre de 1999), el documento WO 99/29667 (publicado el 17 de junio de 1999), la Solicitud Internacional PCT Núm. PCT/IB98/01113 (presentada el 21 de julio de 1998), la Solicitud de Patente Europea Núm. 99302232.1 (presentada el 25 de marzo de 1999), la Solicitud de Patente de Gran Bretaña Número 9912961.1 (presentada el 3 de junio de 1999), la Patente de Estados Unidos Núm. 5.863.949 (expedida el 26 de enero de 1999), la Patente de Estados Unidos Núm. 5.861,510 (expedida el 19 de enero de 1999) y la Publicación de Patente Europea Núm. 780,386 (publicada el 25 de junio de 1997). Los inhibidores de MMP-2 y MMP-9 preferidos son aquellos que tienen poca o ninguna actividad inhibidora de MMP-1. Son más preferidos aquellos que inhiben selectivamente MMP-2 y/o

MMP-9 con respecto a las otras metaloproteinasas de matriz (es decir, MMP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12 y MMP-13).

Algunos ejemplos específicos de inhibidores de MMP útiles en la presente invención son AG-3340, RO 32-3555, RS 13-0830 y compuestos seleccionados entre: ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil]-(1-hidroxicarbamoil-ciclopentil)-amino]-propiónico; hidroxiamida de ácido 3-exo-3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3,2,1]octano-3-carboxílico; hidroxiamida de ácido (2R,3R) 1-[4-(2-cloro-4-fluoro-benciloxi)-bencenosulfonil]-3-hidroxi-3-metilpiperidin-2-carboxílico; hidroxiamida de ácido 4-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-tetrahidropiran-4-carboxílico; 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil]-(1-hidroxicarbamoil-ciclobutil)-amino]-propiónico; hidroxiamida de ácido 4-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-tetrahidropiran-4-carboxílico; hidroxiamida de ácido (R) 3-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-tetrahidropiran-3-carboxílico; hidroxiamida de ácido (2R, 3R) 1-[4-(4-fluoro-2-metilbenciloxi)-bencenosulfonil]-3-hidroxi-3-metil-piperidin-2-carboxílico; ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil]-(1-hidroxicarbamoil-1-metil-etil)-amino]-propiónico; ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil]-(4-hidroxicarbamoil-tetrahidropiran-4-il)-amino]-propiónico; hidroxiamida de ácido 3-exo-3-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3,2,1]octano-3-carboxílico; hidroxiamida de ácido 3-endo-3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3,2,1]octano-3-carboxílico; e hidroxiamida de ácido (R) 3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-tetrahidrofuran-3-carboxílico, y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de estos compuestos.

En la presente invención también se pueden utilizar otros agentes anti-angiogénesis, otros inhibidores de COX-II y otros inhibidores de MMP.

Un compuesto de la invención también se puede utilizar con otros inhibidores de la transducción de señales, tales como agentes que pueden inhibir las respuestas de EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico), tales como anticuerpos contra EGFR, anticuerpos contra EGF y moléculas que son inhibidores de EGFR; inhibidores de VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular); e inhibidores del receptor erbB2, tales como moléculas orgánicas o anticuerpos que se unen al receptor erbB2, tales como HERCEPTIN (Genentech, Inc., South San Francisco, CA). Los inhibidores de EGFR se describen, por ejemplo, en el documento WO 95/19970 (publicado el 27 de julio de 1995), el documento WO 98/14451 (publicado 9 de abril de 1998), el documento WO 98/02434 (publicado el 22 de enero de 1998), y la Patente de Estados Unidos Núm. 5.747.498 (expedida el 5 de mayo de 1998), y dichas sustancias se pueden utilizar en la presente invención como se describe en la presente memoria.

Los agentes inhibidores de EGFR incluyen, pero no se limitan a, los anticuerpos monoclonales C225 y anti-EGFR 22Mab (ImClone Systems, Inc., Nueva York, NY), los compuestos ZD-1839 (AstraZeneca), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim), MDX-447 (Medarex Inc., Annandale, Nueva Jersey) y OLX-103 (Merck & Co., Whitehouse Station, Nueva Jersey), y la toxina de fusión con EGF (Seragen Inc., Hopkinton, MA).

Estos y otros agentes inhibidores de EGFR se pueden utilizar en la presente invención. Los inhibidores de VEGF, por ejemplo, SU-5416 y SU-6668 (Sugen Inc., South San Francisco, CA), también se pueden combinar con un compuesto de la invención. Los inhibidores de VEGF se describen, por ejemplo, en el documento WO 01/60814 A3 (publicado el 23 de agosto de 2001), el documento WO 99/24440 (publicado el 20 de mayo de 1999), la Solicitud Internacional PCT PCT/IB99/00797 (presentada el 3 de mayo de 1999), el documento WO 95/21613 (publicado el 17 de agosto de 1995), el documento WO 99/61422 (publicado el 2 de diciembre de 1999), la Patente de Estados Unidos Núm. 5.834.504 (expedida el 10 de noviembre de 1998), el documento WO 01/60814, el documento WO 98/50356 (publicado el 12 de noviembre de 1998), la Patente de Estados Unidos Núm. 5.883.113 (expedida el 16 de marzo de 1999), la Patente de Estados Unidos Núm. 5.886.020 (expedida el 23 de marzo de 1999), la Patente de Estados Unidos Núm. 5.792.783 (expedida el 11 de agosto de 1998), el documento WO 99/10349 (publicado el 4 de marzo de 1999), el documento WO 97/32856 (publicado el 12 de septiembre de 1997), el documento WO 97/22596 (publicado el 26 de junio de 1997), el documento WO 98/54093 (publicado el 3 de diciembre de 1998), el documento WO 98/02438 (publicado el 22 de enero de 1998), el documento WO 99/16755 (publicado el 8 de abril de 1999), y el documento WO 98/02437 (publicado el 22 de enero de 1998). Otros ejemplos de algunos inhibidores de VEGF específicos útiles en la presente invención son IM862 (Cytran Inc., Kirkland, WA); anticuerpo monoclonal anti-VEGF de Genentech, Inc.; y angiozima, una ribozima sintética de Ribozyme (Boulder, CO) y Chiron (Emeryville, CA). Estos y otros inhibidores de VEGF se pueden utilizar en la presente invención como se describe en la presente memoria. Los inhibidores del receptor pErbB2, tales como GW-282974 (Glaxo Wellcome plc) y los anticuerpos monoclonales AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc., The Woodlands, TX) y 2B-1 (Chiron), se pueden combinar además con un compuesto de la invención, por ejemplo, los indicados en el documento WO 98/02434 (publicado el 22 de enero de 1998), el documento WO 99/35146 (publicado el 15 de julio de 1999), el documento WO 99/35132 (publicado el 15 de julio de 1999), el documento WO 98/02437 (publicado el 22 de enero de 1998), el documento WO 97/13760 (publicado el 17 de abril de 1997), el documento WO 95/19970 (publicado el 27 de julio de 1995), la Patente de Estados Unidos Núm. 5.587.458 (expedida el 24 de diciembre de 1996), y la Patente de Estados Unidos Núm. 5.877.305 (expedida el 2 de marzo de 1999). Los inhibidores del receptor ErbB2 útiles en la presente invención también se describen en la Patente de Estados Unidos Núm. 6.284.764 (expedida el 4 de septiembre de 2001), incorporada en su totalidad en la presente memoria como referencia. Los compuestos inhibidores del receptor erbB2

y la sustancia descrita en las solicitudes PCT, patentes de Estados Unidos y solicitudes provisionales de Estados Unidos mencionadas anteriormente, así como otros compuestos y sustancias que inhiben el receptor erbB2, se pueden utilizar con un compuesto de la invención, de acuerdo con la presente invención.

Un compuesto de la invención también se puede utilizarse con otros agentes útiles en el tratamiento del cáncer, incluidos, entre otros, agentes capaces de potenciar las respuestas inmunitarias antitumorales, tales como anticuerpos contra CTLA4 (antígeno 4 de linfocitos citotóxicos) y otros agentes capaces de bloquear CTLA4; y agentes antiproliferativos tales como otros inhibidores de la farnesil proteína transferasa, por ejemplo los inhibidores de la farnesil proteína transferasa descritos en las referencias citadas en la sección "Antecedentes", de la Patente de Estados Unidos Núm. 6.258.824 B1.

El método anterior también se puede llevar a cabo combinado con radioterapia, en donde la cantidad de un compuesto de la invención combinado con la radioterapia es eficaz para tratar las enfermedades anteriores.

Los mecanismos para administrar radioterapia se conocen en la técnica y estos mecanismos se pueden utilizar en la terapia combinada descrita en la presente memoria. La administración del compuesto de la invención en esta terapia combinada se puede determinar como se describe en la presente memoria.

Las quinasas Pim también juegan un papel en la regulación inmunológica y los estados inflamatorios. Por consiguiente, una realización de la invención está dirigida a métodos para el tratamiento de un trastorno, enfermedad o afección autoinmunitarios o inflamatorios mediados por la quinasa Pim. Los métodos descritos comprenden administrar una cantidad eficaz de cualquiera de los compuestos descritos a un mamífero, p. ej., un mamífero que necesite tratamiento para una enfermedad, trastorno o afección autoinmunitarios o inflamatorios. Las enfermedades, trastornos o afecciones inflamatorias tratables de acuerdo con los métodos descritos incluyen, pero no se limitan a: osteoartritis, artritis reumatoide, dolor, enfermedades inflamatorias intestinales, trastornos respiratorios, trastornos de la piel o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, las enfermedades inflamatorias intestinales se seleccionan entre la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, el síndrome del intestino irritable y combinaciones de los mismos.

En algunas otras realizaciones, los trastornos respiratorios se seleccionan entre asma, rinitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis, poliposis nasal, congestión nasal, pulmón de granjero, pulmón fibroide, tos y combinaciones de los mismos.

En otras realizaciones más, los trastornos de la piel se seleccionan entre dermatitis, eosinofilia cutánea, liquen plano, urticaria, psoriasis, prurito, angiodermas, úlceras corneales, úlceras cutáneas crónicas, conjuntivitis, vasculitis, uveítis, eritemas y combinaciones de los mismos.

Si bien los compuestos y composiciones de la invención encuentran utilidad en una amplia gama de enfermedades y afecciones, incluidas las descritas anteriormente, algunas realizaciones incluyen compuestos que tienen menos efectos secundarios en comparación con otros agentes terapéuticos conocidos. Uno de esos efectos secundarios puede incluir la inhibición de hERG. El hERG (Gen Relacionado con Éter-à-go-go humano) es un gen que codifica una proteína que contribuye a la actividad eléctrica del corazón. Algunos candidatos a fármacos clínicamente exitosos tienden a inhibir hERG, lo que puede comprometer la actividad eléctrica del corazón y puede dar como resultado un trastorno potencialmente fatal llamado síndrome de QT largo. Por tanto, los fármacos capaces de tratar cualquiera de las enfermedades, afecciones o trastornos descritos en la presente memoria, sin una inhibición concomitante sustancial de hERG, pueden ser ventajosos en ciertos métodos de tratamiento. Por consiguiente, ciertas realizaciones de la presente invención incluyen compuestos que tienen una CI de inhibición de hERG<sub>50</sub> de más de 1 µM, más de 10 µM, más de 30 µM o incluso más de 50 µM (según lo determinado por el ensayo Fast Patch disponible de WuXiApptec (Shanghai China)). En realizaciones adicionales de lo anterior, el compuesto también es eficaz para el tratamiento de las enfermedades mediadas por Pim quinasa descritas anteriormente.

La invención se entenderá mejor al considerar los siguientes ejemplos no limitantes.

## Ejemplos

Los compuestos representativos de la presente invención se sintetizaron de acuerdo con los procedimientos sintéticos detallados en la presente memoria.

Todos los disolventes y reactivos estaban disponibles en Aldrich o VWR Chemical y se utilizaron tal como se suministraron o purificaron mediante métodos de laboratorio convencionales según fuera necesario. Los espectros de RMN se registraron en un Varian Unity a 400 MHz (<sup>1</sup>H) a 25°C. Los desplazamientos químicos son presentados en ppm y se refieren internamente al CHCl<sub>3</sub> residual para (d 7,26) o CH<sub>3</sub>OH para (d 3,33). La espectrometría de masas de baja resolución se realizó en las instalaciones de Espectrometría de Masas y Proteómica de la

Universidad de Utah. La cromatografía ultrarrápida se realizó en Combifalsh (Yamazen) con columna de gel de sílice de fase normal (RediSep) y el sistema solvente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ . La TLC utilizó láminas de aluminio de gel de sílice prerrevestidas.

## 5 Anticuerpos y reactivos

Los anticuerpos contra PIM-1, PIM-2 y actina se adquirieron de Cell Signaling Technology (Danvers, MA) (Núm. de Cat. 3247, 4730 y 3700). Los anticuerpos secundarios IRDye 800CW anti-conejo de cabra e IRDye 680 anti-ratón de cabra se adquirieron de LI-COR (Lincoln, NE). Las líneas celulares HEK-293, NIH-3T3, 22RV-1, UM-UC-3, PC-3 MV-4-11, GDM-1, RPMI-8226, NCI-H929, Pfeiffer, SU-DHL-6, Toledo, Z-138, Jeko-1, Maver-1, Mino, MC116, JM-1, SupT1, U937 y K562 se adquirieron de ATCC (Manassas, VA), mientras que las líneas celulares MOLM-13, ML-2 y PL-21 se adquirieron de DSMZ (Braunschweig, Alemania), y la línea celular de expresión en exceso 22RV1/PIM-1 obtuvo la licencia del laboratorio de Anjali Jain, Ph. D. (Cedars Sinai, CA). Las líneas celulares de expresión en exceso NIH-3T3/PIM-2 se generaron en Epoch Life Science (Missouri City, TX) mediante la transfección de la línea celular NIH-3T3 con un plásmido de expresión en exceso PIM-2 que codificaba un gen de resistencia a neomicina y seleccionando una reserva estable resistente a G418. Los plásmidos PIM-1, PIM-2 y BAD se adquirieron de Origene (Rockville, MD). Las partículas lentivirales de ARNhc humano se adquirieron de la colección Sigma-Aldrich MISSION (St. Louis, MO). Para el cultivo celular, los medios RPMI 1640 y EMEM con glutamina se complementaron con suero bovino fetal al 10% y penicilina-estreptomycin 1x (Life Technologies, Grand Island NY). El ATPlite se adquirió de Perkin Elmer (Shelton, CT).

## Ensayos basados en células

Se sembraron células HEK-293 ( $1 \times 10^4$ ) en una placa de 96 pocillos utilizando medio EMEM con suero y se incubaron durante la noche a  $37^\circ\text{C}$  en  $\text{CO}_2$  al 5%. Las células adherentes se transfectaron al día siguiente utilizando Effectene (Qiagen) con 0,1  $\mu\text{g}$  de BAD + 300 pg de plásmidos de expresión en exceso de PIM-1 o PIM-1 KD (K67M) durante 18 horas. Las células se privaron de suero durante 18 horas más, a continuación, se trataron 2 horas con diversas concentraciones de SGI-9481 o control de DMSO portador al 0,5%. Se retiró el medio y se lisaron las células utilizando 25  $\mu\text{l}$  de tampón de lisis 1X del kit AlphaScreen SureFire Phospho-BAD (Ser112) de Perkin Elmer. Los productos lisados (4  $\mu\text{l}$ ) se transfirieron a una Proxiplate de 384 pocillos y se añadieron 5  $\mu\text{l}$  de mezcla de aceptor a cada pocillo y se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente. Se añadió mezcla de donante (2  $\mu\text{l}$ ) a cada pocillo y las muestras se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente y se midieron las reacciones en un lector de placas Envision (PerkinElmer) con capacidades AlphaScreen. La fosforilación no específica de BAD se restó utilizando valores de células transfectadas con PIM-1 KD, y los pocillos restantes se normalizaron con los pocillos de control de DMSO. Los valores de  $\text{CE}_{50}$  se calcularon utilizando el soporte lógico GraphPad Prism (La Jolla, CA).

## Análisis de transferencia Western

Se prepararon productos lisados de proteínas a partir de células utilizando un tampón de lisis celular basado en NP-40 (Tris-HCl 30 mM, pH 7,4, NaCl 120 mM, NP-40 al 1%, cóctel inhibidor de proteasa 1X, cóctel inhibidor de fosfatasa 1X I y II (Sigma)). Las células se incubaron con tampón de lisis durante 20 minutos en hielo, se centrifugaron a  $13000 \times g$  durante 5 min a  $4^\circ\text{C}$  y el producto lisado clarificado se cuantificó utilizando el kit de ensayo de proteínas BCA (Thermo Scientific, Rockford, IL). La proteína (10  $\mu\text{g}$ ) de las células que expresaban en exceso PIM-1 y PIM-2 y controles parentales correspondientes o 50  $\mu\text{g}$  de proteína de células UM-UC-3 48 horas después de la transducción se cargaron en un gel Novex Bis-Tris NuPAGE al 4-12%, transferido a una membrana de nitrocelulosa utilizando un sistema de transferencia iBlot. Las membranas se sondearon con anticuerpos contra PIM-1, PIM-2 o actina, a continuación, se sondearon con anticuerpos secundarios IRDye de conejo o ratón y se generaron imágenes en un sistema de formación de imágenes de fluorescencia Odyssey (LI-COR).

## Transducción de ARNhc

Se sembraron células UM-UC-3 ( $2,5 \times 10^5$ ) en una placa de 6 pocillos en medio RPMI 1640 completo y se dejó que se adhirieran durante la noche a  $37^\circ\text{C}$  en 5% de  $\text{CO}_2$ . Las células se transdujeron con 8  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de polibreno (Sigma-Aldrich) y partículas Lentivirales a una MOI de 50 basándose en valores de título predeterminados por Sigma-Aldrich utilizando un ELISA p24 para cada lote de ARNhc. Después de la transducción durante la noche, se retiró el medio que contenía partículas virales y se reemplazó por medio completo reciente, y las células se cultivaron durante 48 horas adicionales a  $37^\circ\text{C}$  en  $\text{CO}_2$  al 5%. Se tripsinizaron las células y se recogieron fracciones de las células transducidas para ensayos de crecimiento de formación de colonias, mientras que las células restantes se recogieron para aislamiento de ARN y proteínas.

## RT-PCR

El ARN de  $0,5 \times 10^6$  células se aisló en un QIAcube (Qiagen, Santa Clarita, CA) utilizando el protocolo para la

purificación de ARN total de células animales (homogeneización QIAshredder y producto digerido de ADNasa en columna), y se cuantificaron utilizando un espectrofotómetro Nanodrop 8000 (Thermo Electron, West Palm Beach, FL). El ARN total (1 µg) se convirtió en ADNc en una reacción de 20 µl utilizando el kit de síntesis de ADNc iScript (Bio-Rad, Hercules, CA) incubando los componentes de reacción durante 5 minutos a 25°C, 30 minutos a 42°C, seguido de 5 minutos a 85°C. La reacción de ADNc (2 µl) se utilizó en una reacción multiplex de PCR de 20 µl utilizando 1X PIM-1 marcado con FAM, conjuntos de cebadores Taqman de actina marcados con VIC y la mezcla maestra de expresión génica Taqman de Life Technologies en una máquina de PCR en tiempo real iQ5 (Bio-Rad). Se generó una curva patrón semilogarítmica de 8 puntos para los mensajes de PIM-1 y actina utilizando ARN de células no tratadas. Se generó una línea de tendencia lineal (con un valor de R cuadrado > 0,99) trazando las concentraciones logarítmicas de los valores patrón frente a los valores de Ct generados a partir de las reacciones de PCR en tiempo real. Los niveles de mensajes relativos de las muestras tratadas con ARNhc se calcularon basándose en la curva patrón, se normalizaron a actina y se compararon con el control de ARNhc no diana.

#### Ensayo de formación de colonias

Para los experimentos de crecimiento de ARNhc, se sembraron 500 células UM-UC-3 en una placa de 12 pocillos 48 horas después de la transducción y se cultivaron durante 8-10 días a 37°C en CO<sub>2</sub> al 5%. Las células se fijaron con paraformaldehído al 4% en PBS, se lavaron dos veces con PBS y se tiñeron con una solución de cristal violeta (cristal violeta al 1%, etanol al 10% en agua). Las células teñidas se lavaron tres veces con agua y se generaron imágenes después de secarlas en un contador de colonias GelCount (Oxford Optronix Ltd., Oxford, Reino Unido). La intensidad de tinción total por pocillo se determinó mediante lisis de células con 200 µl de tampón de lisis Triton X-100 (Triton X-100 al 1%, Tris-HCl 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 1 mM). Los productos lisados (100 µl) de cada pocillo se transfirieron a una placa transparente de 96 pocillos y se determinó la absorbancia a 560 nm en un lector de microplacas Envision. Los valores de Cl<sub>50</sub> se determinaron utilizando el soporte lógico GraphPad Prism. Para PC-3 y UM-UC-3 tratadas con compuesto, las células se sembraron y se tiñeron como antes, pero se incubaron con diversas concentraciones de compuesto de prueba o DMSO un día después de la siembra.

#### Ensayo de proliferación

Se sembraron líneas de células cancerosas adherentes o en suspensión a 2000-5000 células/pocillo en una placa de 96 pocillos, o 1000-2000 células/pocillo en una placa de 384 pocillos. Las células en suspensión se trataron con el fármaco el mismo día de la siembra, mientras que las células adherentes se incubaron durante la noche a 37°C y CO<sub>2</sub> al 5% antes del tratamiento farmacológico. Todas las células se trataron durante 72 horas, a continuación, se lisaron con ATPlite (Perkin Elmer) y se midieron en un lector de microplacas Envision. Los valores de Cl<sub>50</sub> se determinaron utilizando el soporte lógico GraphPad Prism.

#### Estudios de xenoinjerto tumoral

Se adquirieron ratones Nu/Nu macho y hembra de Harlan Sprague Dawley (Indianapolis, IN). Se utilizaron ratones Nu/Nu hembra para todas las evaluaciones de xenoinjertos con la excepción de los xenoinjertos PC-3 en los que se utilizaron ratones Nu/Nu macho. Las líneas celulares se expandieron *in vitro* en medio completo, y si eran adherentes se recolectaron con tripsina-EDTA, se centrifugaron y se resuspendieron en PBS 1:1 con Matrigel (BD Biosciences). Las células se inocularon por vía subcutánea en el flanco trasero derecho de los ratones. Cuando los tumores alcanzaron los 100-200 mm<sup>3</sup> mediante la medición con calibre, los ratones se aleatorizaron y la dosificación de SGI-9481 o el control del vehículo comenzó y continuó todos los días durante 5 días (QDx5) con 2 días de descanso durante 18-21 días. Se determinaron los volúmenes de los tumores y los pesos corporales dos veces por semana, y se midieron los pesos de los tumores al finalizar los estudios de xenoinjerto traduccionales.

#### Análisis estadístico

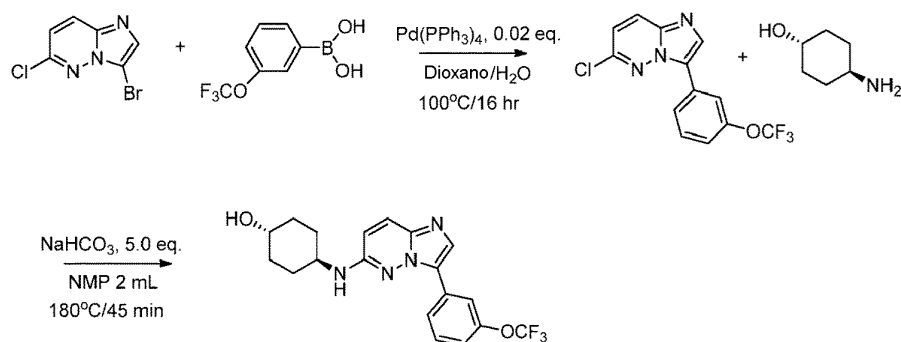
Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante la prueba ANOVA paramétrica.

El ejemplo 8-31 es un compuesto de la presente invención. Otros ejemplos son ilustrativos.

#### Ejemplo 1

##### Síntesis de inhibidores de quinasa PIM-1 ilustrativos

##### 1. 4-((3-a-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-1).

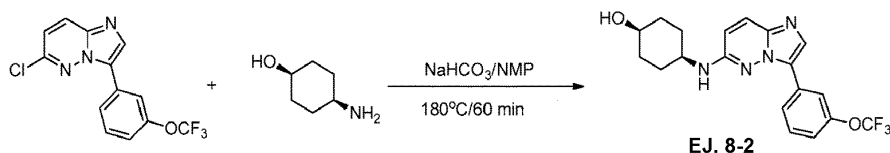
**EJ. 8-1**

Se preparó 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina de acuerdo con los procedimientos descritos en la Patente de Estados Unidos Núm. 7.750,007, que se incorpora a la presente como referencia en su totalidad. A una solución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (5 g, 21,5 mmoles) y ácido 3-(trifluorometoxi)fenilborónico (4,43 g, 21,5 mmoles) en dioxano/H<sub>2</sub>O (100 mL, 4:1) se le añadieron K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6,8 g, 64,5 mmoles) y Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (1,9 g, 2,58 mmoles), la mezcla se agitó a 110°C durante 3 h. La solución se concentró, se repartió en EtOAc/H<sub>2</sub>O. La capa acuosa se lavó con EtOAc (50 mL) 3 veces. Las capas orgánicas recogidas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentraron y purificaron mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (3,2 g, con 63% de pureza, rendimiento 30%) en forma de un sólido de color pardo.

A una solución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,64 mmoles) e hidrogenocloruro de trans-4-aminociclohexanol (184 mg, 1,59 mmoles) en NMP (2,0 mL) se le añadió NaHCO<sub>3</sub> (161 mg, 1,91 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 min con irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar 4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (50 mg, 0,127 mmol, 16%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>/400 MHz): δ 8,49 (s, 1H), 8,34 (s ancho, 1H), 8,07 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 10 Hz, 1H), 7,67 (m, 2H), 7,45 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,12 (m, J = 10 Hz, 1H), 3,54 (s, 2H), 2,05 (d, J = 9,6 Hz, 2H), 1,87 (d, J = 9,6 Hz, 2H), 1,25 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 393,4.

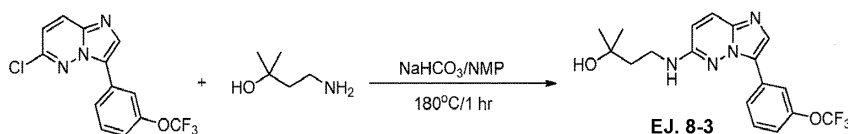
## **2. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-cis-ciclohexanol (Ej. 8-2).**

**EJ. 8-2**

A una solución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,64 mmoles) e hidrogenocloruro de cis-4-aminociclohexanol (367 mg, 3,19 mmoles) en NMP (2,0 mL) se le añadió NaHCO<sub>3</sub> (268 mg, 3,19 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 min con irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar 4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (80 mg, 32%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,40 (s, 1H), 7,97 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,58 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,51 (m, 1H), 7,21 (día, J = 8,4 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,88 (m, 2H), 1,79 (m, 8 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 393,4.

## **3. 2-Metil-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)butan-2-ol (Ej. 8-3).**

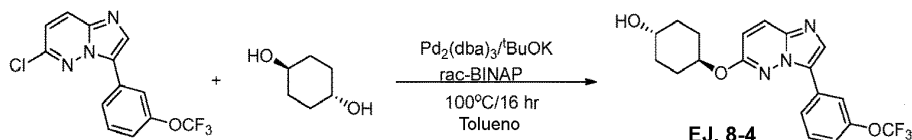
**EJ. 8-3**

A una solución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (300 mg, 0,96 mmoles) y hidrogenocloruro de 4-amino-2-metilbutan-2-ol (493 mg, 4,78 mmoles) en NMP (2,0 mL) se le añadió NaHCO<sub>3</sub> (516 mg, 4,78 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 min con irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar 2-metil-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (80 mg, 32%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

il)amino)butan-2-ol (175 mg, 48%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  9,30 (s, 1H), 8,05 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,83 (s, 1H), 7,61 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,51 (t,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 7,20 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,71 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,88 (t,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 1,89 (t,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 1,26 (s, 6 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 381,5.

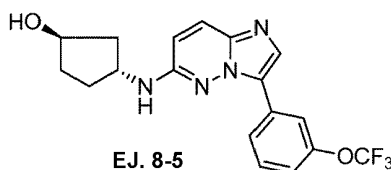
#### 4. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)oxi)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-4).



A una solución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (0,3 g, 0,96 mmoles) y ciclohexanodiol (0,11 g, 0,96 mmoles) en 5 mL de tolueno se le añadieron terc-butoxido de potasio (0,165 g, 1,72 mmoles), *rac*-BINAP (36 mg, 0,057 mmoles) y  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (26 mg, 0,029 mmoles) y la mezcla se calentó a  $120^\circ\text{C}$  durante 4 h con irradiación de microondas. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando cromatografía combiflash (columna de 12 g), eluyente: metanol al 0-10%/DCM y se obtuvo el producto 4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)oxi)ciclohexanol (50 mg, 0,127 mmoles, rendimiento de 13%).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,12 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,89 (m, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,87 (m, 1H), 7,54 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,25 (d,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 1H), 6,85 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,98 (m, 1H), 3,69 (m, 1H), 2,22 (m, 2H), 2,02 (m, 2H), 1,62 (m, 2H), 1,45 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 394,5.

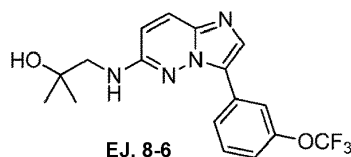
#### 5. (1R, 3R) 3-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclopentanol (Ej. 8-5).



El Ej. 8-5 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando *trans*-3-aminociclopentanol.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,40 (s, 1H), 7,98 (d,  $J = 8,8\text{ Hz}$ , 1H), 7,80 (s, 1H), 7,58 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,50 (m, 1H), 7,19 (m, 1H), 6,72 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 4,28 (m, 1H), 4,21 (m, 1H), 2,43 (m, 1H), 2,15 (m, 1H), 1,83 (m, 3 H), 1,58 (m, 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 379,5.

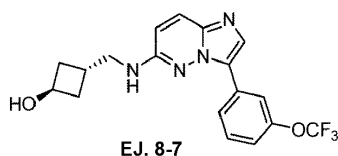
#### 6. 2-Metil-1-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)propan-2-ol (Ej. 8-6).



A la solución del compuesto 1-amino-2-metilpropan-2-ol (55 mg, 0,57 mmoles) y el compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (150 mg, 0,48 mmoles) en 3 mL de DMSO se le añadieron DIEA (0,21 mL, 0,96 mmoles) y 10 mg de  $\text{CsF}$ , el disolvente se agitó durante 5 h a  $120^\circ\text{C}$ , a continuación la mezcla se purificó mediante HPLC para producir el compuesto 2-metil-1-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)propan-2-ol (25 mg, 12%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,28-8,24 (d,  $J = 15,2\text{ Hz}$ , 2H), 7,99-7,92 (m, 2H), 7,66-7,62 (t,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 7,41-7,39 (m, 1H), 7,34-7,31 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,42 (d, 2H), 1,28-1,27 (d,  $J = 6\text{ Hz}$ , 6 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 367,4.

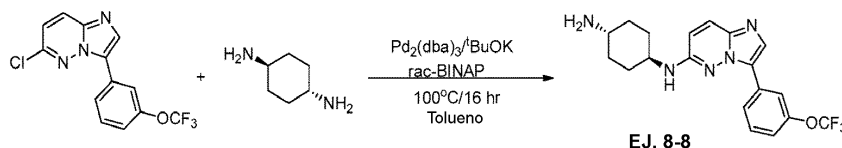
#### 7. 3-(((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)-trans-ciclobutanol (Ej. 8-7).



El Ej. 8-5 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando *trans*-3-(aminometil)ciclobutanol.

- 5 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,43 (s, 1H), 7,94 (d,  $J = 8,8\text{ Hz}$ , 1H), 7,83 (s, 1H), 7,59 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,48 (m, 1H), 7,19 (m, 1H), 6,70 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 4,38 (m, 1H), 3,40 (m, 1H), 2,57 (m, 1H), 2,10 (m, 5 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 379,5.

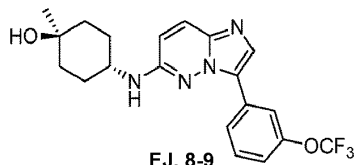
10 **8. (3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-*trans*-1,4-diamina (Ej. 8-8).**



15 A una solución de piridazina (0,3 g, 0,96 mmoles) y 1,4-*trans*-ciclohexanodiamina (0,11 g, 0,96 mmoles) en tolueno 5 mL se le añadieron terc-butóxido de potasio (0,165 g, 1,72 mmoles), *rac*-BINAP (36 mg, 0,057 mmoles) y  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (26 mg, 0,029 mmoles) y la mezcla se calentó a  $100^\circ\text{C}$  durante 16 h con irradiación de microondas. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando cromatografía combiflash (columna de 12 g), eluyente: metanol al 0-10%/DCM y se obtuvo el producto 4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)oxi)ciclohexanol (170 mg, 0,434 mmoles, 45% de rendimiento).

- 20 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,30 (s, 1H), 8,00 (m, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,60 (d,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 1H), 7,50 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,21 (d,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 1H), 6,68 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,68 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,24 (m, 2H), 1,98 (m, 2H), 1,33 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 375,4.

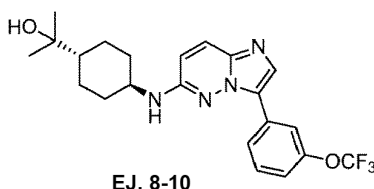
25 **9. 1-Metil-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-*trans*-ciclohexanol (Ej. 8-9).**



El Ej. 8-9 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando *trans*-4-amino-1-metilciclohexanol.

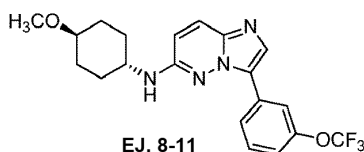
- 30 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,23 (s, 1H), 7,93 (d,  $J = 8,8\text{ Hz}$ , 1H), 7,76 (s, 1H), 7,54 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,42 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 6,60 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,77 (m, 1H), 2,09 (m, 2H), 1,72 (m, 2H), 1,45 (m, 4 H), 1,30 (s, 3 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 407,5.

35 **10. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-*trans*-ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-10).**



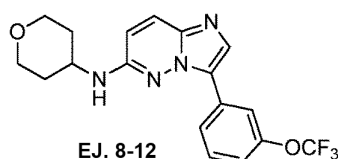
Ej. 8-10 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando 2-(*trans*-4-aminociclohexil)propan-2-ol.

- 40 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,45 (s, 1H), 7,95 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,82 (s, 1H), 7,59 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,50 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,21 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 6,68 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,50 (m, 1H), 2,09 (m, 2H), 2,27 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,40 (m, 1H), 1,26 (m, 2H), 1,14 (s, 6 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 435,6.

**11. 4-(trans-metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-11).**

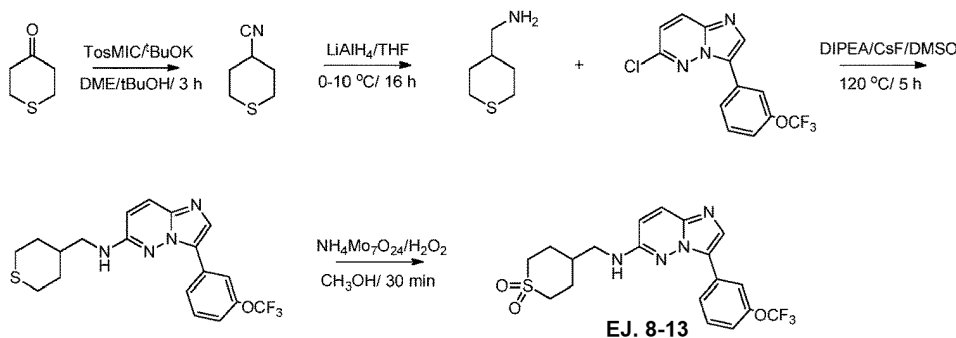
Ej. 8-11 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando trans-4-metoxiciclohexanamina.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,40 (s, 1H), 8,02 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,87 (s, 1H), 7,63 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,54 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,72 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,76 (m, 1H), 3,39 (s, 6 H), 3,30 (m, 1H), 2,27 (m, 2H), 2,15 (m, 2H), 1,40 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 407,6.

**12. N-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-12).**

Ej. 8-12 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando tetrahidro-2H-piran-4-amina.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,37 (s, 1H), 7,95 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,87 (s, 1H), 7,63 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,52 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,23 (m, 1H), 6,72 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,98 (m, 5 H), 2,11 (m, 2H), 1,59 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 379,5.

**13. 1,1-Dióxido de 4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopirano (Ej. 8-13).**

Una mezcla de compuesto dihidro-2H-tiopiran-4 (3H)-ona (0,75 g, 6,46 mmoles) y TosMIC (0,138 g, 7,11 mmoles) en DME (25 mL) se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota una solución de terc-butoxido de potasio (0,145 g, 12,9 mmoles) en *terc*-butanol (13 mL). Después, se dejó que la mezcla se calentara a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h antes de diluir con DCM, lavar con una solución sat. de bicarbonato de sodio y secar sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La eliminación del disolvente a vacío produjo el compuesto tetrahidro-2H-tiopiran-4-carbonitrilo (1 g, bruto) en forma de un aceite de color pardo pálido.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  7,98-7,94 (m, 1H), 7,44-7,43 (d,  $J = 1,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,37-7,34 (m, 1H).

Se enfrió  $\text{LiAlH}_4$  (45 mg, 11,8 mmoles) en 15 mL de THF a 0°C bajo  $\text{N}_2$ . El embudo de adición se cargó con 10 mL de compuesto tetrahidro-2H-tiopiran-4-carbonitrilo (1 g, 8 mmoles) en 5 mL de THF, la velocidad de adición se estableció para mantener la temperatura por debajo de 10°C. Se dejó que la mezcla de reacción se calentara gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. A continuación, la mezcla de reacción se enfrió a aproximadamente 5°C y se añadió  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  en porciones para mantener la temperatura a aproximadamente 10°C. La mezcla de reacción se filtró y las sales se lavaron con THF caliente. El producto filtrado se combinó y se concentró para producir el compuesto (tetrahidro-2H-tiopiran-4-il)metanamina (150 mg, bruto) en forma de un aceite de color amarillo.

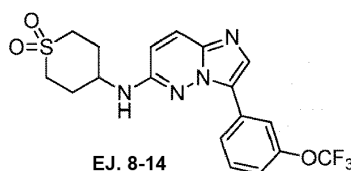
A la solución de compuesto (tetrahidro-2H-tiopiran-4-il)metanamina (150 mg, 1,14 mmoles) y el compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (358 mg, 1,14 mmoles) en 3 mL de DMSO se le añadieron DIEA (0,22 mL, 2,28 mmoles) y 10 mg de CsF, el disolvente se agitó durante 5 h a 120°C, a continuación la mezcla se purificó mediante HPLC para producir el compuesto N-((tetrahidro-2H-tiopiran-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (26 mg, 30%) en forma de aceite de color amarillo.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,29 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,98-7,95 (m, 2H), 7,64-7,60 (t,  $J = 8\text{ Hz}$ , 1H), 7,41-7,39 (d,  $J = 8\text{ Hz}$ , 1H), 7,25-7,23 (d,  $J = 10\text{ Hz}$ , 1H), 3,24-3,22 (d,  $J = 6,8\text{ Hz}$ , 2H), 2,68-2,55 (m, 4 H), 2,14-2,10 (m, 2H), 1,80-1,78 (t,  $J = 3,2\text{ Hz}$ , 1H), 1,44-1,37 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 409,5.

El compuesto *n*-((tetrahidro-2H-tiopiran-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (70 mg, 0,171 mmoles) se disolvió en  $\text{CH}_3\text{OH}$  (10 mL). Se añadió una solución de  $(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24}$  (84 mg, 0,07 mmoles) en  $\text{H}_2\text{O}_2$  (290 mg, 2,56 mmoles) a la mezcla gota a gota. Después de agitar durante 30 min, el disolvente se eliminó y se purificó en una columna para producir el compuesto 1,1-dióxido de 4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopirano (23 mg, 30%) en forma de un sólido de color amarillo.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,20 (s, 1H), 7,90-7,87 (m, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,56-7,53 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,44-7,40 (t,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 7,14-7,12 (m, 1H), 6,65-6,62 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,25-3,20 (m, 2H), 3,02-2,95 (m, 4H), 2,15-2,11 (d,  $J = 12,8\text{ Hz}$ , 2H), 2,08-1,95 (m, 1H), 1,81-1,69 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 441,5.

**14. 1,1-Dióxido de 4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)tetrahidro-2H-tiopirano (Ej. 8-14).**

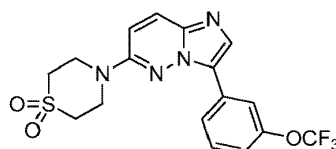


EJ. 8-14

El Ej. 8-14 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando 1,1-dióxido de 4-aminotetrahidro-2H-tiopirano.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,20 (s, 1H), 8,01 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,82 (s, 1H), 7,67 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,55 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,23 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,75 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 4,01 (m, 1H), 3,20 (m, 4 H), 2,48 (m, 2H), 2,24 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 441,5.

**15. 1,1-Dióxido de 4-(3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)tiomorfolina (Ej. 8-15).**

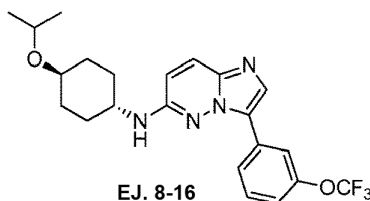


EJ. 8-15

Ej. 8-15 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando 1,1-dióxido de tiomorfolina.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,10 (s, 1H), 7,98 (m, 2H), 7,89 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,57 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,31 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,26 (d,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 4,18 (t,  $J = 6,4\text{ Hz}$ , 4 H), 3,21 (t,  $J = 6,4\text{ Hz}$ , 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 413,4.

**16. 4-(trans-isopropoxyciclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-16).**



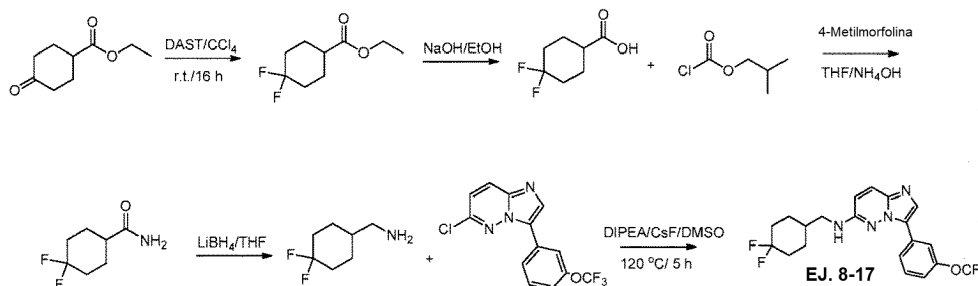
EJ. 8-16

El Ej. 8-16 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando *trans*-4-

isopropoxiciclohexanamina.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,35 (s, 1H), 7,98 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,84 (s, 1H), 7,59 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,51 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,20 (d,  $J = 7,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,68 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,45 (m, 1H), 3,42 (m, 2H), 2,02 (m, 2H), 1,33 (m, 2H), 1,14 (d,  $J = 6,0\text{ Hz}$ , 6 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 435,5.

**17. *N*-((4,4-difluorociclohexil)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-17).**



A una solución de DAST (7,7 mL) en 75 mL de  $\text{CCl}_4$  se le añadió gota a gota el compuesto 4-oxociclohexanocarboxilato de etilo (5 g, 29 mmoles) a  $0^\circ\text{C}$ , a continuación la mezcla se agitó durante 16 h a temperatura ambiente, se añadió agua lentamente y la fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se destiló para producir el compuesto 4,4-difluorociclohexanocarboxilato de etilo (4,2 g, 71%) en forma de un aceite incoloro.

Una solución del compuesto 4,4-difluorociclohexanocarboxilato de etilo (4,2 g, 21,8 mmoles) en 40 mL de EtOH se trató con NaOH 2 N (1,34 g, 32,8 mmoles) a  $0^\circ\text{C}$ , y se dejó que la mezcla se calentara a temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. La mezcla se diluyó con agua y el pH se ajustó a 3-4 con HCl 6N. La mezcla se extrajo con tolueno, se secó y se concentró para proporcionar el compuesto del título, ácido 4,4-difluorociclohexanocarboxílico (3,4 g, 94%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  2,28-2,27 (m, 1H), 2,22-2,20 (m, 1H), 2,08-2,02 (m, 3 H), 1,99-1,94 (m, 3 H), 1,19 (s, 1H).

A una solución del compuesto ácido 4,4-difluorociclohexanocarboxílico (3,5 g, 21 mmoles) en 80 mL de THF, se le añadió 4-metilmorfolina (2,51 g, 21 mmoles) a  $-70^\circ\text{C}$ , seguido de clorocarbonato de isobutilo (2,85 g, 21 mmoles). Al cabo de 30 min, se añadieron 10 mL de hidróxido de amonio. La mezcla resultante se dejó calentando hasta  $0^\circ\text{C}$ . Después de eliminar todos los disolventes, el residuo se lavó con agua, PE para producir el compuesto 4,4-difluorociclohexanocarboxamida (1,82 g, 40%) en forma de un sólido de color blanco.

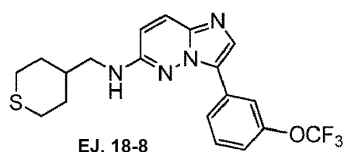
RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  7,26 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 2,25-2,15 (m, 1H), 2,05-1,95 (m, 2H), 1,80-1,75 (m, 4 H), 1,57-1,53 (m, 2H).

A una solución del compuesto 4,4-difluorociclohexanocarboxamida (1,8 g, 13 mmoles) en 100 mL de THF se le añadió  $\text{LiBH}_4$  (1,1 g, 50 mmoles) bajo  $\text{N}_2$  agitado durante la noche. A continuación, la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, se vertió en agua helada lentamente. Después de la filtración, el producto se extrajo con DCM del producto filtrado. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se condensaron para producir el compuesto (4,4-difluorociclohexil)metanamina (0,8 g, bruto) en forma de un aceite incoloro.

A la solución del compuesto (4,4-difluorociclohexil)metanamina (100 mg, 6 mmoles) y el compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (190 mg, 6 mmoles) en 3 mL de DMSO se le añadió DIEA (0,21 mL, 12 mmoles) y 10 mg de CsF, el disolvente se agitó durante 5 h a  $120^\circ\text{C}$ , a continuación la mezcla se purificó mediante HPLC para producir el compuesto *N*-((4,4-difluorociclohexil)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (21 mg, 10%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,35 (s, 1H), 7,94-7,91 (t,  $J = 13,2\text{ Hz}$ , 1H), 7,93-7,82 (d,  $J = 4\text{ Hz}$ , 1H), 7,62-7,60 (t,  $J = 4,8\text{ Hz}$ , 1H), 7,49-7,46 (m, 1H), 7,20-7,18 (t,  $J = 2,8\text{ Hz}$ , 1H), 7,73-7,69 (d, 1H), 3,26-3,22 (t,  $J = 6,4\text{ Hz}$ , 2H), 2,05 (s, 1H), 2,02 (s, 2H), 1,93-1,65 (m, 4 H), 1,38-1,22 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 427,4.

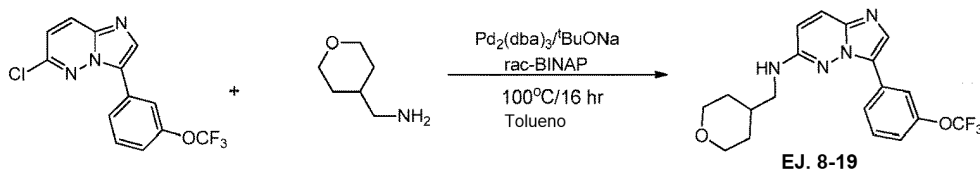
**18. *N*-((Tetrahidro-2H-tiopiran-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-18).**



A la solución del compuesto (tetrahydro-2H-tiopiran-4-il)metanamina (150 mg, 1,14 mmoles) y el compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (358 mg, 1,14 mmoles) en 3 mL de DMSO se añadió DIEA (0,22 mL, 2,28 mmoles) y 10 mg de CsF, el disolvente se agitó durante 5 h a 120°C, a continuación la mezcla se purificó mediante HPLC para producir el compuesto N-((tetrahydro-2H-tiopiran-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (26 mg, 30%) en forma de aceite de color amarillo.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,29 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,98-7,95 (m, 2H), 7,64-7,60 (t,  $J = 8\text{ Hz}$ , 1H), 7,41-7,39 (d,  $J = 8\text{ Hz}$ , 1H), 7,25-7,23 (d,  $J = 10\text{ Hz}$ , 1H), 3,24-3,22 (d,  $J = 6,8\text{ Hz}$ , 2H), 2,68-2,55 (m, 4 H), 2,14-2,10 (m, 2H), 1,80-1,78 (t,  $J = 3,2\text{ Hz}$ , 1H), 1,44-1,37 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 409,5.

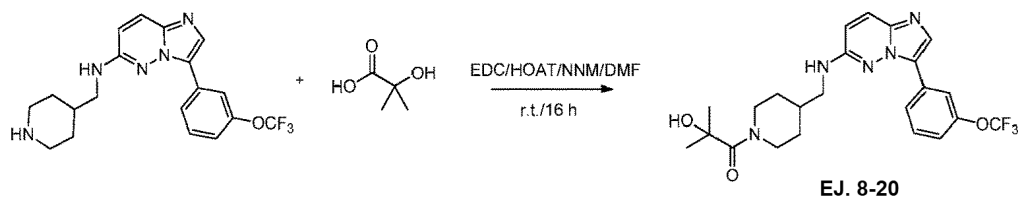
**19. N-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-19).**



El Compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (0,2 g, 0,638 mmoles), 4-aminometiltetrahidropirano (0,145 g, 0,956 mmoles), terc-butilóxido de sodio (0,172 g, 1,785 mmoles), rac-BINAP (0,024 g, 0,038 mmoles) y  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (0,018 g, 0,019 mmoles) se combinaron en un vial de 20 mL. Se añadió tolueno (5 mL) y se hizo burbujear nitrógeno a través de la mezcla durante 5 minutos. A continuación, la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante la noche. Se añadió gel de sílice a la mezcla de reacción y se eliminó el disolvente. El producto se aisló mediante cromatografía en columna (hexanos:EtOAc) con el Compuesto N-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina eluyendo a 100% de EtOAc.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,50 (s, 1H), 8,07 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 8,03 (s, 1H), 7,77 (d,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 1H), 7,58 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,29 (d,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 7,24 (bs, 1H), 6,76 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,87 (d,  $J = 11,2\text{ Hz}$ , 1H), 3,30 (m, 3 H), 3,20 (m, 2H), 1,97 (s ancho, 1H), 1,69 (d,  $J = 12,8\text{ Hz}$ , 2H), 1,26 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 393,3

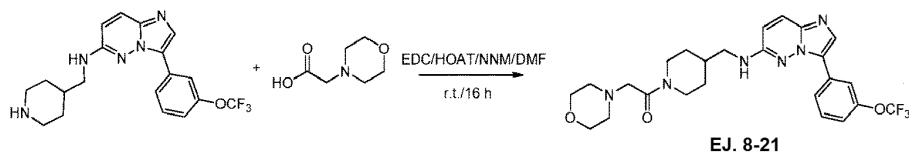
**20. 2-Hidroxi-2-metil-1-(4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-il)propan-1-ona (Ej. 8-20).**



El Compuesto *n*-(piperidin-4-ilmetil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (200 mg, 0,47 mmoles) se combinó con ácido 2-hidroxi-2-metilpropanoico (49 mg, 0,47 mmoles), EDC (99 mg, 0,51 mmoles) y HOAT (64 mg, 0,47 mmoles). Después, la mezcla se recogió en DMF (2 mL) y se añadió NMM (257  $\mu\text{L}$ , 2,34 mmoles). Después, la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después, la solución en DMF se vertió en un exceso de agua (20 mL) provocando la formación de un precipitado. El precipitado se recogió mediante filtración y se purificó mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH 0-15%) para proporcionar el Compuesto 2-hidroxi-2-metil-1-(4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-il)propan-1-ona.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,46 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 8,08 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,83 (d,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 1H), 7,60 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,42 (bs, 1H), 7,32 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,85 (d,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 1H), 4,62 (m, 1H), 3,19 (s, 2H), 2,99 (m, 1H), 2,76 (d,  $J = 15,6\text{ Hz}$ , 2H), 2,66 (d,  $J = 15,6\text{ Hz}$ , 2H), 1,99 (m, 1H), 1,80 (d,  $J = 13,2\text{ Hz}$ , 2H), 1,30 (s, 6 H), 1,14 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 478,3

**21. 2-Morfolino-1-(4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-il)etanona**

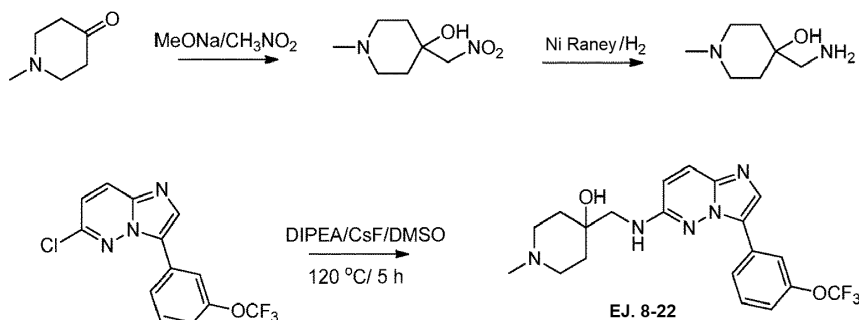
**(Ej. 8-21).**

5 El Compuesto *n*-(piperidin-4-ilmetil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-amina (200 mg, 0,47 mmoles) se combinó con ácido 2-morfolinoacético (68 mg, 0,47 mmoles), EDC (99 mg, 0,51 mmoles) y HOAT (64 mg, 0,47 mmoles). Después, la mezcla se recogió en DMF (2 mL) y se añadió NMM (257 uL, 2,34 mmoles). A continuación, la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Con posterioridad, la solución de DMF se vertió en un exceso de agua (20 mL) provocando la formación de un precipitado. El precipitado se recogió mediante filtración y se purificó mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH 0-15%). El producto bruto se disolvió a continuación en HCl metanólico y se precipitó con éter dietílico para proporcionar 2-morfolino-1-(4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-il)etanona en forma de la sal de HCl.

15 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  10,26 (bs, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,38 (m, 2H), 8,09 (m, 2H), 7,69 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,48 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,39 (d,  $J = 13,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,62 (m, 4 H), 3,90 (m, 5 H), 3,68 (d,  $J = 12,8\text{ Hz}$ , 1H), 3,38 (m, 3 H), 3,05 (t,  $J = 12,0\text{ Hz}$ , 1H), 2,68 (t,  $J = 12,0\text{ Hz}$ , 1H), 2,03 (m, 1H), 1,86 (d,  $J = 11,6\text{ Hz}$ , 2H), 1,26 (m, 1H), 1,09 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 519,3

**22. 1-Metil-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-4-ol (Ej. 8-22).**

20



25 Se añadieron  $\text{CH}_3\text{NO}_2$  (6,6 mL, 122 mmoles) y MeONa (221 mg, 4,1 mmoles) a una solución del compuesto 1-metilpiperidin-4-ona (10 mL, 81,3 mmoles) en EtOH (10 mL). Después de 30 min se añadió más etanol (15 mL) para facilitar la agitación. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días y a continuación se filtró a través de celite. El sólido aislado se lavó con éter para proporcionar el producto 1-metil-4-(nitrometil)piperidin-4-ol (5,7 g, rendimiento de 40,4%). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  5,01 (s, 1H), 4,47 (s, 2H), 2,41-2,40 (m, 2H), 2,21-2,15 (m, 2H), 2,12 (s, 3 H), 1,64-1,53 (m, 4H).

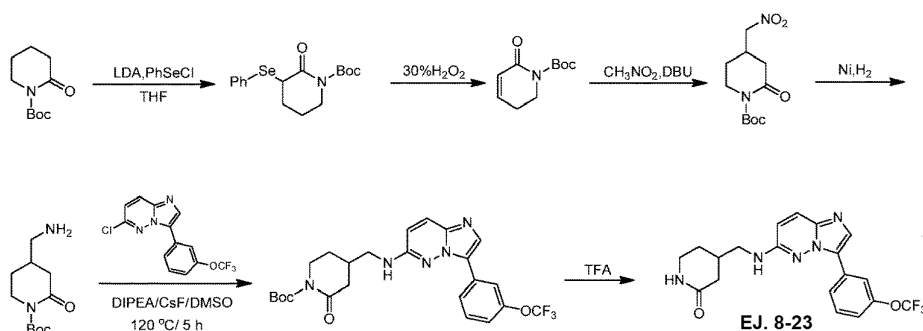
30 Una mezcla de 1-metil-4-(nitrometil)piperidin-4-ol (0,6 g, 3,5 mmoles) y Ni Raney (0,1 g) en metanol (25 mL) se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente bajo presión ambiente de gas hidrógeno. La mezcla se filtró a través de celite y se evaporó a presión reducida. El residuo se utilizó sin purificación adicional 4-(aminometil)-1-metilpiperidin-4-ol (0,4 g, 74%).

35 Se añadió CsF (50 mg, 0,33 mmoles) a la mezcla de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-*b*]piridazina (150 mg, 0,48 mmoles) y 4-(aminometil)-1-metilpiperidin-4-ol (150 mg, 1,04 mmoles) en DMSO (1,5 mL). La mezcla se calentó a  $120^\circ\text{C}$  durante la noche y se repartió entre EtOAc (10 mL) y agua (10 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (8 mL x 3), se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante pre-HPLC para proporcionar el producto 1-metil-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-4-ol (22 mg, 10%).

40 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,28 (s, 1H), 8,02 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,84 (s, 1H), 7,64 (d,  $J = 5,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,55 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,22 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,84 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,47 (s, 2H), 2,58-2,60 (s ancho, 2H), 2,48-2,47 (s ancho, 2H), 2,25 (s, 3 H), 1,79-1,69 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 422,0.

45

**23. 4-(((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-2-ona (Ej. 8-23).**



A una solución de 2-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (5,4 g, 27 mmoles) en THF (100 mL) se le añadió LDA (16,2 mL, 32,4 mmoles) a  $-78^{\circ}\text{C}$ . Después de agitar durante 0,5 h, se añadió cloruro de fenil selenio (7,94 g, 41,5 mmoles). La mezcla se agitó a  $-78^{\circ}\text{C}$  durante 4,5 horas y a continuación se sofocó con  $\text{H}_2\text{O}$  (30 mL), diluido con salmuera (200 mL). La capa acuosa se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 mL x 2). La fase orgánica combinada se secó, filtró y condensó. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (100% de éter de petróleo a éter de petróleo/ $\text{EtOAc}$  = 5: 1) para proporcionar el compuesto 2-oxo-3-(fenilselenil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (4,27 g, 45%) en forma de un sólido de color naranja.

Una solución de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% (2,2 mL, 36 mmoles) se añadió a una solución en agitación de 2-oxo-3-(fenilselenil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (4,27 g, 12 mmoles) en THF (20 mL) a  $0^{\circ}\text{C}$ . La mezcla de reacción se agitó durante 15 min a  $0^{\circ}\text{C}$  y se dejó calentar a temperatura ambiente y se mantuvo durante 30 min. A continuación, la mezcla de reacción se disolvió en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 mL) y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  saturado. La fase orgánica se secó y se condensó para proporcionar el compuesto 2-oxo-5,6-dihidropiridin-1 (2H)-carboxilato de *terc*-butilo (2,1 g, 88,6%).

A una solución de 2-oxo-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato de *terc*-butilo (2,1 g, 11 mmoles) en  $\text{CH}_3\text{NO}_2$  (22,7 g, 372 mmoles) bajo  $\text{N}_2$  se le añadió DBU (2,52 g, 16,5 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y a continuación se condensó y purificó por cromatografía ultrarrápida para proporcionar el compuesto 4-(nitrometil)-2-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,6 g, 22%) en forma de un sólido de color blanco.

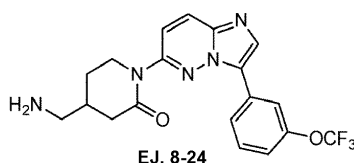
Una solución de compuesto 4-(nitrometil)-2-oxopiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,3 g, 1,2 mmoles), Ni (0,1 g) y amoníaco (2 mL) en MeOH (30 mL) se agitó bajo  $\text{H}_2$  a temperatura ambiente durante 7 hr. La mezcla se filtró y se condensó para obtener el compuesto 4-(aminometil)-2-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,13 g, 49%) en forma de un sólido de color blanco.

Una mezcla de compuesto 4-(aminometil)-2-oxopiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (37 mg, 0,16 mmoles), DIEA (0,6 mL, 3,5 mmoles), 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (50 mg) y CsF (17 mg, 0,11 mmoles) en DMSO (2 mL) se agitó a  $120^{\circ}\text{C}$  durante la noche. La mezcla se diluyó con  $\text{H}_2\text{O}$  (20 mL) y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL). La fase orgánica se separó y se condensó para proporcionar el compuesto bruto 2-oxo-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)methyl)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (60 mg).

A una solución del compuesto 2-oxo-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)methyl)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (114 mg, 0,23 mmoles) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió TFA (2 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y se condensó. El residuo se purificó mediante prep-HPLC para proporcionar 4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)methyl)piperidin-2-ona (6 mg, 6,6%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  9,06 (d,  $J$  = 10 Hz, 2H), 8,59 (s, 1H), 8,45 (d,  $J$  = 10 Hz, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,03-8,01 (m, 1H), 7,69 (t,  $J$  = 8 Hz, 1H), 7,51-7,48 (m, 1H), 4,36-4,32 (m, 1H), 3,79-3,74 (m, 1H), 3,06-3,01 (m, 2H), 2,69-2,63 (m, 1H), 2,59-2,53 (m, 1H), 2,02-1,97 (m, 1H), 1,95-1,89 (m, 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): 406,3.

#### 24. 4-(Aminometil)-1-(3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)piperidin-2-ona (Ej. 8-24).

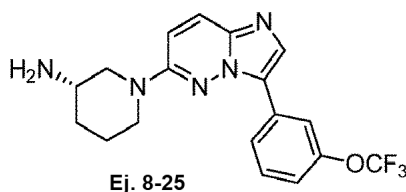


Una solución de compuesto 2-oxo-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)methyl)piperidin-1-

carboxilato de *terc*-butilo (114 mg, 0,23 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) se le añadió TFA (2 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y se condensó. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar 4-(aminometil)-1-(3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)piperidin-2-ona de color blanco sólido.

RMN H<sup>1</sup> (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,33 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,99 (m, 2H), 7,69 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,44 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,25 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,52 (m, 2H), 3,44 (m, 2H), 3,07 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,49 (m, 1H), 2,08 (m, 1H), 1,86 (m, 1H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): 406,3.

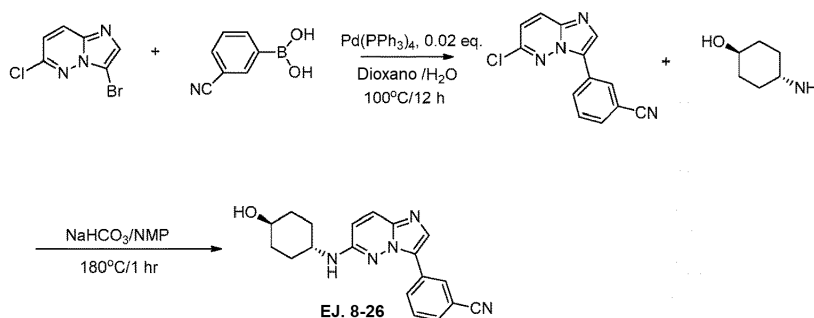
**25. (S)-1-(3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)piperidin-3-amina (Ej. 8-25).**



El Ej. 8-25 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando piperidin-3-ilcarbamato de (S)-*terc*-butilo, y a continuación se desprotegió con HCl en dioxano.

RMN H<sup>1</sup> (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,22 (s, 1H), 7,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,74 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,52 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,20 (m, 2H), 3,98 (m, 2H), 3,07 (m, 1H), 2,88 (m, 2H), 2,00 (m, 1H), 1,88 (m, 1H), 1,69 (m, 1H), 1,43 (m, 1H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 378,5.

**26. 4-(trans-hidroxiciclohexil)amino)imidazo[1,2-b]piridazin-3-il)benzonitrilo (Ej. 8-26).**



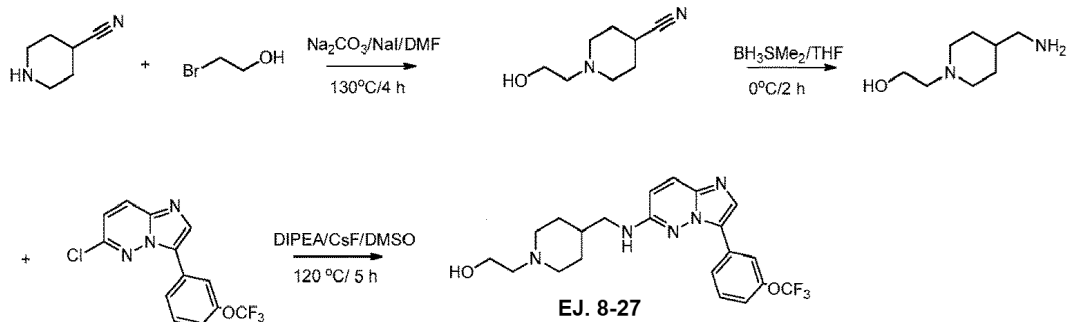
A una solución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (2 g, 8,6 mmoles) y ácido 3-(ciano)fenilborónico (1,26 g, 8,6 mmoles) en dioxano/H<sub>2</sub>O (100 mL, 4:1) se le añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,38 g, 17,2 mmoles) y Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,19 g, 0,172 mmoles), la mezcla se agitó a 110°C durante 3 h. La solución se concentró y se repartió en EtOAc/H<sub>2</sub>O. La capa acuosa se lavó con EtOAc (50 mL) 3 veces. Las capas orgánicas recogidas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentraron y se purificaron mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto 3-(6-cloroimidazo[1,2-b]piridazin-3-il)benzonitrilo (1,2 g, 4,71 mmoles, rendimiento 55%) en forma de un sólido de color pardo.

RMN H<sup>1</sup> (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,39 (s, 1H), 8,24 (m, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,99 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,65 (m, 2H), 7,15 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 264,3.

A una solución de 3-(6-cloroimidazo[1,2-b]piridazin-3-il)benzonitrilo (300 mg, 1,18 mmoles) y hidrogenocloruro de *trans*-4-aminociclohexanol (678 mg, 5,89 mmoles) en NMP (2,0 mL) se le añadió NaHCO<sub>3</sub> (496 mg, 5,89 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 min con irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar 4-((3-(3-(ciano)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (110 mg, 28%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

RMN H<sup>1</sup> (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,72 (s, 1H), 8,33 (m, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,64 (m, 3 H), 6,70 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,61 (m, 2H), 2,23 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 2,02 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 1,49 (m, 2H), 1,34 (m, 2H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 334,5.

**27. 2-(4-(((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-il)etanol (Ej. 8-27).**



Bromoetanol (1,36 g, 11 mmoles) y piperidin-4-carbonitrilo (1,0 g, 9,1 mmoles) 5 mL de dimetilformamida. Después de esto, se añadieron 4,0 g de carbonato de sodio anhidro y 0,08 g de yoduro de sodio a la solución resultante y la mezcla se agitó durante 4 horas a 130°C. A continuación, la mezcla se vertió en agua helada y se extrajo con acetato de etilo. El extracto oleoso obtenido se purificó mediante cromatografía en gel de sílice 1-(2-hidroxietil)piperidin-4-carbonitrilo (300 mg, 18%).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  3,58 (t,  $J = 4,6\text{ Hz}$ , 2H), 2,60 - 2,75 (m, 4 H), 2,50 - 2,60 (m, 2H), 2,31 - 2,46 (m, 2H), 1,70 - 2,00 (m, 4 H).

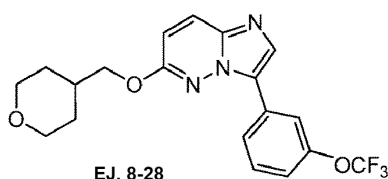
A la solución del compuesto 1-(2-hidroxietil)piperidina-4-carbonitrilo (300 mg, 2 mmoles) en THF seco (5 mL) a 0°C, se le añadió gota a gota  $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$  (220 mg, 2,4 mmoles). La mezcla se agitó a 0°C durante 2 h. Se añadió agua y a continuación  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . La mezcla se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto 2-(4-(aminometil)piperidin-1-il)etanol (150 mg, 47%).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  3,61 - 3,70 (m, 1H), 3,59 (t,  $J = 5,6\text{ Hz}$ , 2H), 2,91 (d,  $J = 11,6\text{ Hz}$ , 2H), 2,57 (d,  $J = 6,4\text{ Hz}$ , 2H), 2,50 (t,  $J = 5,6\text{ Hz}$ , 2H), 1,97 - 2,10 (m, 2H), 1,63-1,70 (m, 2H), 1,15-1,35 (m, 2H).

A la solución del compuesto 2-(4-(aminometil)piperidin-1-il)etanol (150 mg, 0,95 mmoles) y el compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,64 mmoles) en 3 mL de DMSO se le añadieron DIEA (0,3 mL, 1,37 mmoles) y 10 mg de CsF, el disolvente se agitó durante 5 h a 120°C, a continuación la mezcla se purificó mediante HPLC para producir el compuesto 2-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)ciclohexil)etanol (34 mg, 8,2%) en forma de un sólido de color pardo.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,61 (s, 1H), 8,20 - 8,25 (m, 1H), 7,95 - 8,05 (m, 2H), 7,66 (t,  $J = 4,4\text{ Hz}$ , 1H), 7,21 - 7,28 (m, 1H), 3,80 - 3,90 (m, 2H), 3,62 - 3,75 (m, 2H), 3,37 (d,  $J = 6,4\text{ Hz}$ , 2H), 3,21 (t,  $J = 5,2\text{ Hz}$ , 2H), 2,91 - 3,09 (m, 2H), 2,10 (d,  $J = 14,0\text{ Hz}$ , 2H), 1,51 - 1,69 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 435,5.

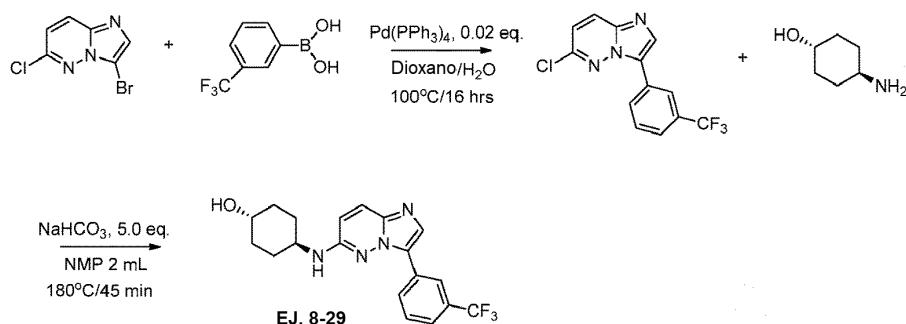
**28. 6-((Tetrahydro-2H-piran-4-il)metoxi)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (Ej. 8-28).**



A la solución de compuesto (tetrahydro-2H-piran-4-il)metanol (100 mg, 0,86 mmoles) y el compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (270 mg, 0,86 mmoles) en 10 mL de dioxano se le añadió t-BuOK (200 mg, 1,78 mmoles). La mezcla se agitó a 70°C durante 4 horas. A continuación, la mezcla se purificó mediante pre-HPLC para producir el compuesto 6-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metoxi)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (25 mg, 12%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,18 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,82 (d,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 1H), 7,71-7,79 (m, 1H), 7,42 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,10-7,19 (m, 1H), 6,69 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,16 (d,  $J = 6,8\text{ Hz}$ , 2H), 3,90 - 4,04 (m, 2H), 3,30 - 3,45 (m, 2H), 2,01 - 2,15 (m, 1H), 1,63 - 1,75 (m, 2), 1,37 - 1,45 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 334,5.

**29. 4-(((3-(3-(Trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-29).**



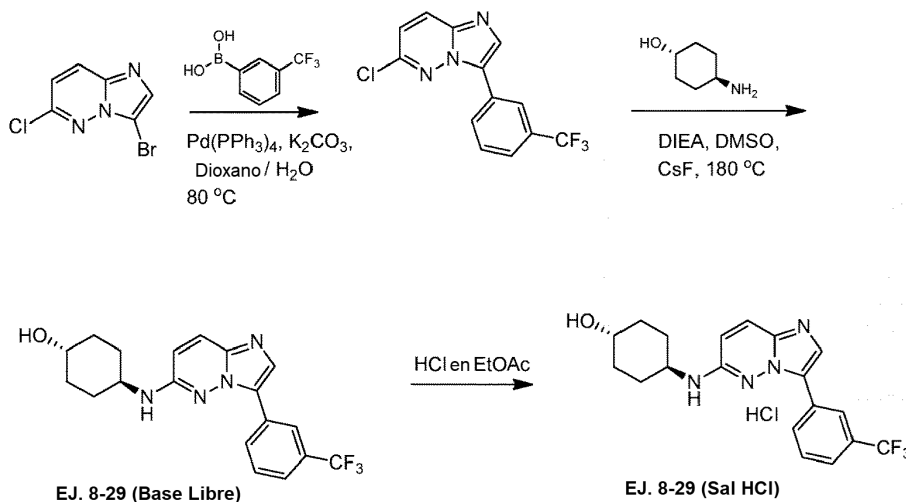
A una solución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (2 g, 8,6 mmoles) y ácido 3-(trifluorometil)fenilborónico (1,63 g, 8,6 mmoles) en dioxano/H<sub>2</sub>O (100 mL, 4:1) se le añadieron K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,4 g, 17,2 mmoles) y Pd(Ph<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,497 g, 0,430 mmoles), la mezcla se agitó a 110°C durante 3 h. La solución se concentró, se repartió en EtOAc/H<sub>2</sub>O. La capa acuosa se lavó con EtOAc (50 mL) 3 veces. Las capas orgánicas recogidas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentraron y se purificaron mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (0,22 g, 0,739 mmoles, rendimiento de 9%) en forma de un sólido de color pardo.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,28 (s, 1H), 8,24 (m, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,99 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,64 (m, 2H), 7,13 (d, J = 9,6 Hz, 1H).

A una solución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (220 mg, 0,739 mmoles) y hidrogenocloruro de trans-4-aminociclohexanol (85 mg, 0,739 mmoles) en NMP (2,0 mL) se le añadió NaHCO<sub>3</sub> (79 mg, 0,739 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 min con irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar 4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (40 mg, 0,106 mmoles, 14%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,71 (s, 1H), 8,21 (m, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,60 (m, 3 H), 6,67 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 3,59 (m, 1H), 2,18 (m, 2H), 1,96 (m, 2H), 1,38 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 377,4.

La base libre del Ej. 8-29 y la sal hidrocloreuro se prepararon a escala de 50 g de acuerdo con los siguientes procedimientos.



A una solución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (150 g, 0,65 mol) y ácido 3-(trifluorometil)fenilborónico (143 g, 0,65 mol) en dioxano/H<sub>2</sub>O (2,5 L: 4:1) se le añadieron K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (180 g, 1,3 mol) y Pd(Ph<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (10 g, 10 mmoles). La mezcla se agitó a 80°C durante 24 h. La solución se concentró, se repartió con EA/H<sub>2</sub>O. La capa acuosa se extrajo con EA (500 mL) 3 veces. Las capas orgánicas recogidas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentraron y se purificaron mediante cromatografía en columna (PE:EA, 3:1 a 2:1) para proporcionar 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (135,15 g, 70,3 %) en forma de un sólido de color amarillo.

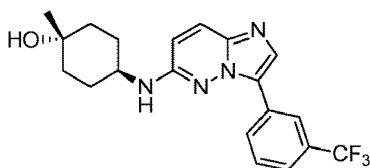
A una solución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (90 g, 300 mmoles) y *trans*-4-aminociclohexanol (60 g, 522 mmoles) en 300 mL de DMSO, se le añadieron DIEA (90 g, 900 mmoles) y CsF (45 g,

30 mmoles). La mezcla se agitó a 180°C durante 4 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en 3 L de agua. El sólido precipitado se recogió, se lavó con agua y se recrystalizó con MeOH para proporcionar el Ej. 8-29 (base libre) (68,3 g, 63,06%) en forma de un sólido de color blanco. El producto precipitado en MeOH contiene generalmente 1 eq de MeOH. Para eliminar el residuo de MeOH, el producto se disolvió en EA y a continuación se volvió a evaporar.

A una solución del Ej. 8-29 (base libre) (54 g, 144 mmoles) en EA (3000 mL) se añadió HCl/EA hasta que no se formó más sólido. El sólido se recogió y se secó a vacío para proporcionar Ej. 8-29 (sal de HCl) (53 g, 98,13%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN  $^1\text{H}$  (MeOD/400 MHz):  $\delta$  8,64 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,27 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 8,00 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 7,85 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,79 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,27 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 3,76-3,71 (m, 1H), 3,66-3,61 (m, 1H), 2,22-2,20 (m, 2H), 2,03-2,01 (m, 2H), 1,45-1,41 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 377,2.

**30. 1-Metil-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-30).**



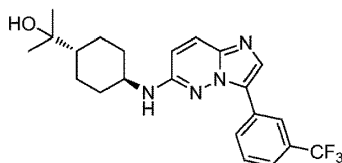
EJ. 8-30

El Ej. 8-30 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando *trans*-4-amino-1-metilciclohexanol.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ /400 MHz):  $\delta$  8,72 (s, 1H), 8,23 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,62 (m, 3 H), 6,74 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 3,84 (m, 1H), 2,08 (m, 2H), 1,74 (m, 2H), 1,60 (m, 4 H), 1,55 (s, 3 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 391,5.

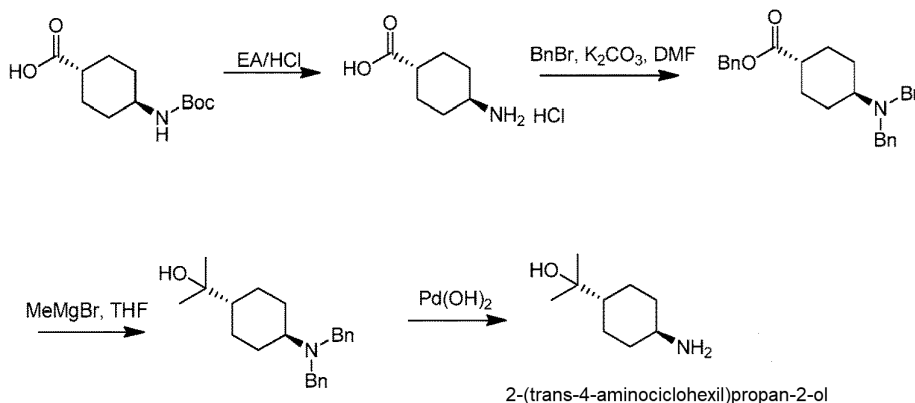
**31. 4-((3-(3-(Trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-31).**

Ej. 8-31 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1 utilizando 2-(*trans*-4-aminociclohexil)propan-2-ol.



RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ /400 MHz):  $\delta$  8,82 (s, 1H), 8,19 (m, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,62 (m, 3 H), 6,70 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 3,71 (m, 1H), 2,26 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,36 (m, 1H), 1,27 (m, 4 H), 1,21 (s, 6 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 419,6.

Alternativamente, Ej. 8-31 se preparó a escala de 50 g empleando los siguientes procedimientos.



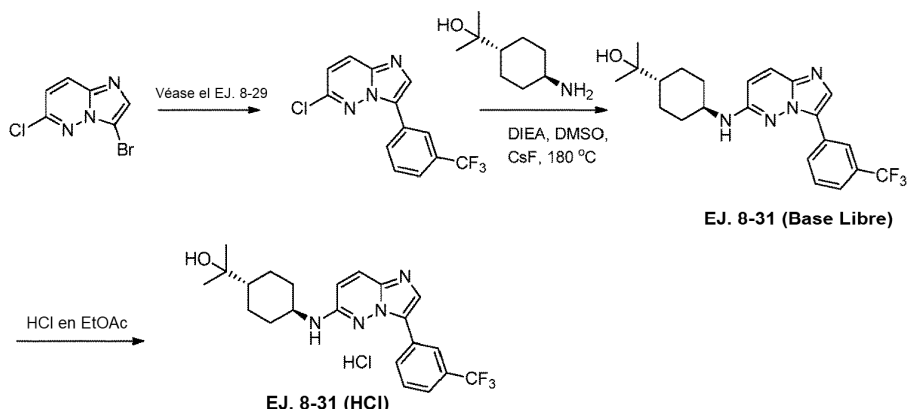
A una solución de ácido *trans*-4-((terc-butoxicarbonil)amino)ciclohexanocarboxílico (823 g, 3,38 moles) en EtOAc

(4000 mL) se le añadió EA/HCl (2500 mL). La mezcla se agitó a 0°C durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y se secó a vacío para proporcionar un producto de sal hidrocloreto de ácido *trans*-4-aminociclohexanocarboxílico en forma de un sólido de color blanco (604 g, rendimiento de 99,42%).

Una mezcla de sal hidrocloreto de ácido *trans*-4-aminociclohexanocarboxílico (720 g), BnBr (1700 g, 2,5 eq) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en DMF (8000 mL) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió más BnBr (100 g) y la mezcla de reacción se calentó a 50°C y se mantuvo durante 3 h. Después, la mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se concentró a vacío para proporcionar 4-(dibencilamino)ciclohexanocarboxilato de *trans*-bencilo bruto en forma de un sólido de color blanco (1495 g, rendimiento de 93,9%).

A una solución de 4-(dibencilamino)ciclohexanocarboxilato de *trans*-bencilo (290 g X 5, 3,6 moles) en 2 L de THF bajo N<sub>2</sub> a 0°C, se le añadió MeMgBr (800 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y a continuación se sofocó con 1,5 L de NH<sub>4</sub>Cl saturado. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. El producto se extrajo con HCl 1 M hasta la fase acuosa, que después se lavó con EtOAc. A continuación, la fase acuosa se neutralizó con NaOH, se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera y se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a vacío para proporcionar 2-(*trans*-4-(dibencilamino)ciclohexil)propan-2-ol en forma de un sólido de color blanco (950 g, 78,3% de rendimiento).

Una mezcla de 2-(*trans*-4-(dibencilamino)ciclohexil)propan-2-ol (120 g X 8, 356 mmoles) y Pd(OH)<sub>2</sub> (15 g X 8) en metanol (1000 mL) y MeOH/NH<sub>3</sub> (100 mL) se agitó bajo H<sub>2</sub> (3,45 bar) a 50°C durante 72 horas, a continuación se eliminó el catalizador y el producto filtrado se concentró a vacío y el producto bruto se sometió a cromatografía en gel de sílice (DCM/MeOH 20:1 - DCM/MeOH/NH<sub>3</sub> 5 : 4: 1) para proporcionar 2-(*trans*-4-aminociclohexil)propan-2-ol en forma de un sólido de color amarillo pálido (210 g, rendimiento de 47,5%).



La 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina se preparó de acuerdo con el procedimiento del Ej. 8-29.

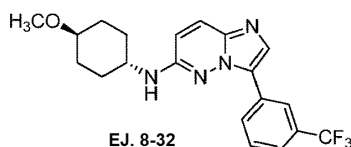
A una solución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (100 g, 337 mmoles) y 2-(*trans*-4-aminociclohexil)propan-2-ol (55 g, 350 mmoles) en 400 mL de DMSO, DIEA (90 g, 900 mmoles) y CsF (45 g, 30 mmoles). La mezcla se agitó a 180°C durante 4 horas. El sólido se retiró y el producto filtrado se vertió en una solución agitada de agua (4 L) y EA (1 L). El sólido formado se recogió y se recristalizó en EA para proporcionar el Ej. 8-31 (base libre) en forma de un sólido de color blanquecino (70,58 g, 48,34%). A partir de las aguas madre y el producto filtrado, se obtuvo un segundo lote de producto después de la cromatografía en columna (EA).

RMN <sup>1</sup>H (MeOD/400 MHz): δ 8,80 (s, 1H), 8,17 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,62-7,58 (m, 3 H), 6,68 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,72-3,65 (m, 1H), 2,30-2,24 (m, 2H), 1,95-1,90 (m, 2H), 1,37-1,22 (m, 5 H), 1,16 (s, 6 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 419,3. Punto de fusión: 216,7°C -219,3°C.

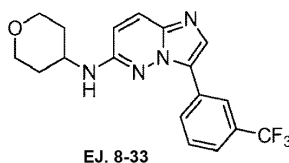
Para la producción del Ej. 8-31 (Base Libre) (57 g, 136 mmoles) en EA (10 L) se le añadió HCl/EA hasta que no se formó más sólido (aproximadamente 100 mL de HCl/EA). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante media hora y el sólido se recogió, se lavó con EA y se secó a vacío para proporcionar el Ej. 8-31 (HCl) (52,06 g, 91,33%) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN <sup>1</sup>H (MeOD/400 MHz): δ 8,69 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,21 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,96 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,81 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,75 (dd, J = 7,6 Hz, 8,0 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,73-3,66 (m, 1H), 2,24-2,20 (m, 2H), 1,97 (m, 2H), 1,37-1,25 (m, 5 H), 1,16 (s, 6 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 419,2. Punto de fusión: 200,4°C-201,6°C

Los Ej. 8-32 a Ej. 8-34 se prepararon mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1.

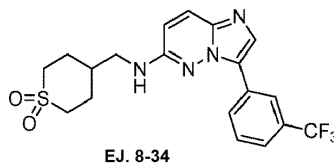
**32. 4-(trans-metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-32).**

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,73 (s, 1H), 8,21 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,86 (s, 1H), 7,60 (m, 3 H), 6,69 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,73 (m, 1H), 3,34 (s, 3 H), 3,24 (m, 1H), 2,21 (m, 2H), 1,36 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 391,5.

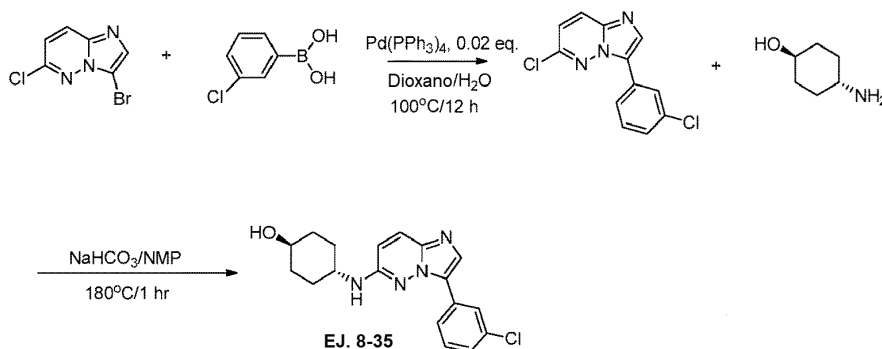
**33. N-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-33).**

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,74 (s, 1H), 8,16 (d,  $J = 6,8\text{ Hz}$ , 1H), 7,86 (s, 1H), 7,62 (m, 3 H), 6,71 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,98 (m, 3 H), 3,53 (m, 2H), 2,08 (m, 2H), 1,57 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 363,5.

34. 1,1-Dióxido 4-(((3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopirano (Ej. 8-34).



RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,73 (s, 1H), 8,25 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,69 (s, 1H), 7,64 (m, 3 H), 6,76 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,98 (m, 2H), 3,06 (m, 4 H), 2,23 (m, 2H), 2,11 (m, 1H), 1,86 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 425,4.

**35. 4-(((3-(3-Clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-35).**

A una solución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (2 g, 8,6 mmoles) y ácido 3-(cloro)fenilborónico (1,35 g, 8,6 mmoles) en dioxano/ $\text{H}_2\text{O}$  (100 mL, 4:1) se le añadieron  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (2,4 g, 17,2 mmoles) y  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (0,19 g, 0,172 mmoles), la mezcla se agitó a  $110^\circ\text{C}$  durante 3 h. La solución se concentró, se repartió en  $\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$ . La capa acuosa se lavó con  $\text{EtOAc}$  (50 mL) 3 veces. Las capas orgánicas recogidas se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se concentraron y se purificaron mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (1,2 g, 4,54 mmoles, 53% de rendimiento) en forma de un sólido de color pardo.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,04 (d,  $J = 13,2\text{ Hz}$ , 2H), 7,94 (m, 2H), 7,42 (m, 2H), 7,10 (d,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 264,3.

A una solución de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (300 mg, 1,14 mmoles) y hidrogenocloruro de trans-4-aminociclohexanol (327 mg, 2,84 mmoles) en NMP (2,0 mL) se le añadió  $\text{NaHCO}_3$  (286 mg, 3,41 mmoles), la

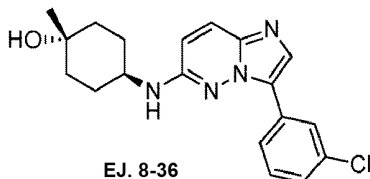
mezcla se agitó a 180°C durante 45 min con irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (120 mg, 0,350 mmoles, 31%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

- 5 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,47 (s, 1H), 7,90 (m, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,58 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,41 (m, 2H), 7,30 (m, 1H), 6,66 (m, 1H), 3,61 (m, 2H), 2,20 (m, 2H), 2,00 (m, 2H), 1,50 (m, 2H), 1,45 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 343,5.

Ej. 8-36 a Ej. 8-40 se prepararon mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-35.

10

**36. 4-((3-(3-Clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-1-metil-trans-ciclohexano (Ej. 8-36)/.**

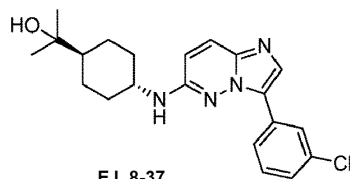


EJ. 8-36

- 15 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,43 (s, 1H), 7,91 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,79 (s, 1H), 7,57 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,36 (m, 1H), 7,27 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,79 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,80 (m, 1H), 2,14 (m, 2H), 1,73 (m, 4 H), 1,52 (m, 2H), 1,26 (s, 3 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 357,5.

**37. 4-((3-(3-Clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-trans-ciclohexilpropan-2-ol (Ej. 8-37).**

20

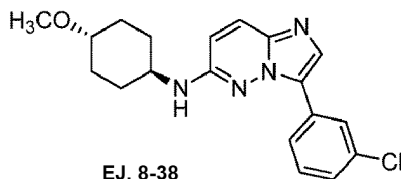


EJ. 8-37

- 25 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,56 (s, 1H), 7,88 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,82 (s, 1H), 7,58 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,41 (m, 1H), 7,29 (d,  $J = 6,8\text{ Hz}$ , 1H), 6,65 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,68 (m, 1H), 2,30 (m, 2H), 1,94 (m, 4 H), 1,30 (m, 5 H), 1,15 (s, 6 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 385,5.

**38. 3-(3-Clorofenil)-N-(4-trans-metoxiciclohexil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-38).**

30

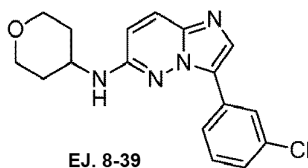


EJ. 8-38

- 30 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,44 (s, 1H), 7,84 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,77 (s, 1H), 7,55 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,35 (m, 1H), 7,26 (d,  $J = 6,8\text{ Hz}$ , 1H), 6,63 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,65 (m, 1H), 3,23 (m, 1H), 2,22 (m, 2H), 2,09 (m, 2H), 1,32 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 357,5.

**39. 3-(3-Clorofenil)-N-(tetrahidro-2H-piran-4-il)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-39).**

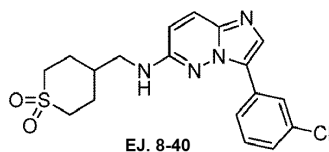
35



EJ. 8-39

- 40 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,35 (s, 1H), 7,81 (m, 2H), 7,74 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,38 (m, 1H), 6,63 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,04 (m, 3 H), 3,60 (m, 2H), 2,17 (m, 2H), 1,60 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 329,5.

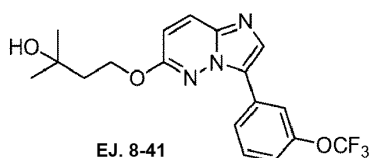
**40. 1,1-Dióxido de 4-(((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopirano**

**(Ej. 8-40).**

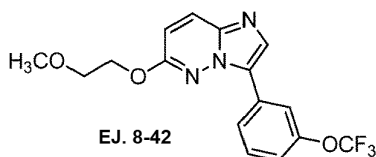
- 5 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,41 (s, 1H), 7,90 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,82 (s, 1H), 7,63 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,40 (m, 1H), 7,30 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,68 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,34 (m, 2H), 3,07 (m, 4 H), 2,28 (m, 2H), 2,19 (m, 1H), 1,85 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 391,4.

Los Ej. 8-41 a Ej. 8-42 se prepararon mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-4.

10

**41. 2-Metil-4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)oxi)butan-2-ol (Ej. 8-41).**

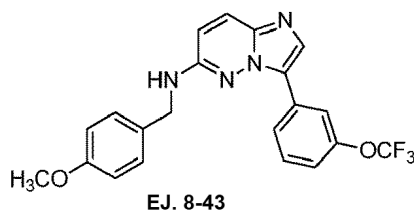
- 15 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,41 (s, 1H), 7,94 (m, 2H), 7,82 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,48 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,21 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,56 (t,  $J = 6,4\text{ Hz}$ , 1H), 2,05 (t,  $J = 6,4\text{ Hz}$ , 1H), 1,32 (s, 6 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 382,5.

**42. 6-(2-metoxietoxi)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (Ej. 8-42).**

20

- RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,11 (s, 1H), 7,98 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,94 (s, 1H), 7,81 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,49 (t,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,22 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 6,90 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,53 (t,  $J = 4,8\text{ Hz}$ , 1H), 3,80 (t,  $J = 4,8\text{ Hz}$ , 1H), 3,45 (s, 3 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 354,4.

25

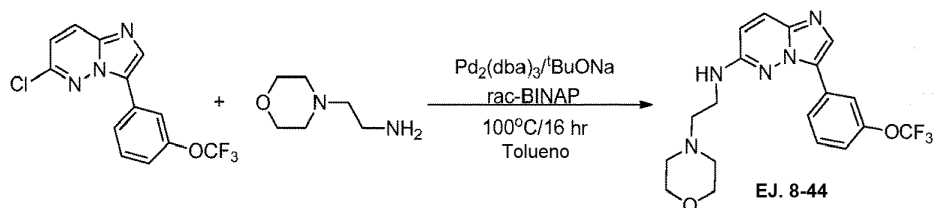
**43. N-(4-metoxibencil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-43).**

- 30 El Ej. 8-43 se preparó mediante procedimientos similares a los del Ej. 8-1.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,21 (s, 1H), 7,92 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,82 (s, 1H), 7,64 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,48 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,32 (d,  $J = 6,4\text{ Hz}$ , 2H), 7,20 (d,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 6,87 (m, 2H), 6,78 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 4,48 (s, 2H), 3,75 (s, 3 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 415,5.

35

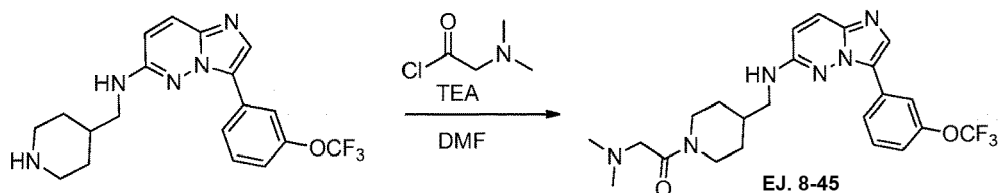
**44. N-(2-morfolinoetil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-44).**



A una solución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,638 mmoles) y 2-morfolinoetanamina (83 mg, 0,638 mmoles) en tolueno (5 mL, 0,638 mmoles) se le añadieron terc-butilóxido de sodio (110 mg, 1,148 mmoles), rac-BINAP (23,81 mg, 0,038 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante la noche. Después de 16 h, la solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando cromatografía combiflash (12 g, DCM a MeOH al 10%/DCM) lo que proporcionó 252 mg de *N*-(2-morfolinoetil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina como un sólido de color amarillo. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8,28 (s, 1H), 8,00 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,63 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 7,52 (m, 1H), 7,21 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 6,74 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 3,67 (m, 4 H), 3,53 (m, 2H), 2,68 (m, 2H), 2,52 (m, 4 H) ESI: 408,4 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>

La base libre de *N*-(2-morfolinoetil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (258 mg, 0,658 mmoles) se suspendió en metanol (2 mL). Se añadió HCl concentrado (137  $\mu\text{L}$ , 12 M) y la solución se añadió gota a gota a 30 mL de éter, se filtró y se secó para proporcionar 247 mg de un polvo blanquecino en forma de la sal de HCl. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8,31 (s, 1H), 8,26 (s, 2H), 7,97 (m, 2H), 7,64 (m, 1H), 7,42 (d,  $J = 8,21$  Hz, 1H), 7,26 (m, 1H), 3,93 (m, 2H), 3,35 (m, 4 H), 2,02 (m, 1H), 1,71 (m, 2H), 1,34 (m, 2H).

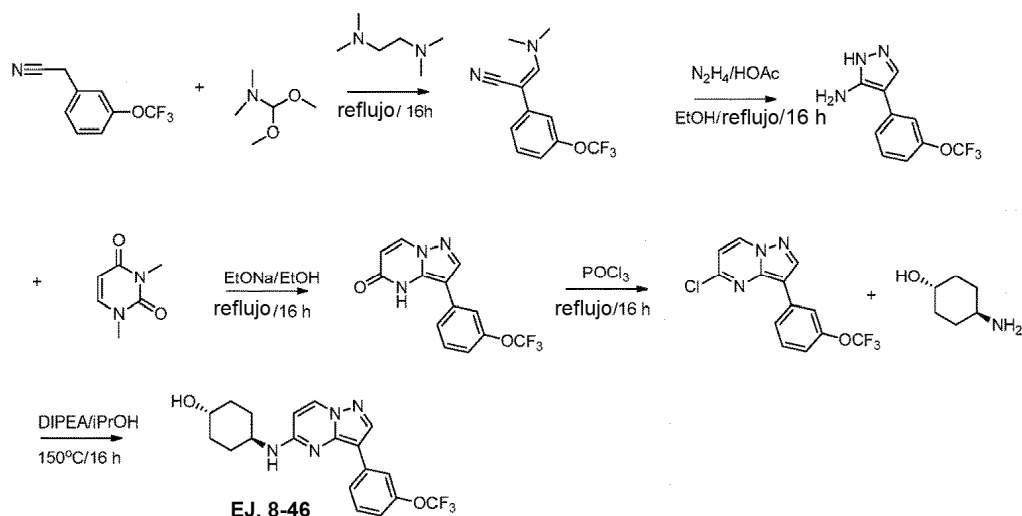
**45. *N*-(2-morfolinoetil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-45).**



La mezcla de reacción de *N*-(piperidin-4-ilmetil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (100 mg, 0,234 mmoles), cloruro de 2-(dimetilamino)acetilo (43,5 mg, 0,234 mmoles), TEA (81  $\mu\text{L}$ , 2,5 eq) en DMF (1 mL) se agitó durante la noche. El residuo se vertió en agua (20 mL). El precipitado se recogió mediante filtración y se purificó mediante cromatografía combiflash (12 g, DCM a MeOH al 10%/DCM) proporcionó 22 mg de 2-(dimetilamino)-1-(4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-il)etanona sólida. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8,28 (m, 2H), 7,97 (m, 2H), 7,64 (t,  $J = 8,02$  Hz, 1H), 7,41 (d,  $J = 8,21$  Hz, 1H), 7,22 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 4,53 (d,  $J = 13,5$  Hz, 1H), 4,25 (m, 2H), 3,68 (d,  $J = 13,5$  Hz, 1H), 3,11 (m, 2H), 3,06 (s, 3H), 2,90 (s, 3 H), 2,71 (t,  $J = 12,5$  Hz, 2H), 2,08 (m, 1H), 1,90 (d,  $J = 12,5$  Hz, 2H). ESI: 477,5 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>

La base libre 2-(dimetilamino)-1-(4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-il)etanona (247 mg, 0,517 mmoles) se suspendió en metanol (2 mL). Se añadió HCl concentrado (108  $\mu\text{L}$ , 2,5 eq). La solución se añadió gota a gota a 30 mL de éter, se filtró y se secó para proporcionar 205 mg de un polvo blanquecino en forma de la sal de HCl. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 8,29 (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 7,96 (m, 2H), 7,64 (t,  $J = 8,02$  Hz, 1H), 7,41 (d,  $J = 8,41$  Hz, 1H), 7,24 (d,  $J = 9,8$  Hz, 1H), 2,02 (m, 1H), 1,87 (d,  $J = 8,32$  Hz, 2H), 1,39 (s, 6 H).

**46. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-46).**



#### Síntesis de 3-(dimetilamino)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)acrilonitrilo.

- 5 Una mezcla de 3-trifluorometoxifenilacetronitrilo (2,5 gramos, 12,43 mmoles), DIPEA (0,321 gramos, 2,48 mmoles) y dimetil acetal de dimetilformamida (20 mL) se calentó a reflujo durante 4 h. Al enfriar, la reacción se repartió entre EtOAc y una solución acuosa saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se concentró a vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía (acetato de etilo/hexano, 0-10%) sobre gel de sílice (24 gramos) para proporcionar un producto puro (2,3 gramos, 8,98 mmoles, 72% de rendimiento).

#### Síntesis de 4-(3-(trifluorometoxi)fenil)-1H-pirazol-5-amina

- 15 Una mezcla de acrilonitrilo (2,0 g, 7,81 mmoles), hidrato de hidrazina (4,53 gramos, 39,0 mmoles) y ácido acético glacial (2,34 gramos, 39,0 mmoles) y etanol (20 mL) se calentó a reflujo durante 16 h. Al enfriar, la reacción se diluyó con agua, se extrajo con AcOEt y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se concentró a vacío (1,90 gramos, 7,84 mmoles, rendimiento de 100%).

20 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ /400 MHz):  $\delta$  7,64 (m, 1H), 7,42 (m, 4 H), 7,06 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H). MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  244,3.

#### Síntesis de 3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5(4H)-ona.

- 25 Una mezcla de pirazol (0,8 gramos, 3,29 mmoles), 1,3-dimetiluracilo (0,51 gramos, 3,62 mmoles) y 10 mL de EtOH seco se trató gota a gota con etóxido de sodio (0,29 gramos, 4,28 mmoles) y al finalizar la adición la reacción se calentó a reflujo durante 16 h. Al enfriar, la reacción se concentró a vacío y el residuo se añadió a hielo, se neutralizó con ácido acético y el precipitado resultante se filtró, se lavó con agua y se secó para proporcionar el producto (0,4 gramos, 1,36 mmoles, rendimiento de 41%). No se necesitó cromatografía para esta etapa.

30 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ /400 MHz):  $\delta$  8,42 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,62 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,52 (m, 2H), 7,20 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 6,16 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H).

#### Síntesis de 5-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina.

- 35 Una mezcla de pirazolpirimidinona (0,5 gramos, 1,69 mmoles) se trató con 10 mL de  $\text{POCl}_3$  y la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. Al enfriar, después de eliminar el residuo en un rotavapor, la reacción se vertió sobre hielo, se alcalinizó cuidadosamente con una solución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se concentraron a vacío para proporcionar el producto (0,3 gramos, 0,96 mmoles, rendimiento de 56%).

40 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ /400 MHz):  $\delta$  8,56 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 8,39 (s, 1H), 7,92 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,85 (m, 2H), 7,45 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,12 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 6,85 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H). MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 314,3.

#### Síntesis de 4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexanol.

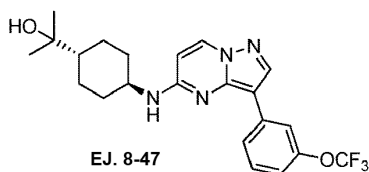
- 45 A una solución de 3-bromo-5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina (0,03 gramos, 0,096 mmoles) y trans-1,4-diamociclohexano (0,017 gramos, 0,143 mmoles) en isopropanol (5 mL) se le añadió DIPEA (0,025 gramos, 0,191

mmoles) y la mezcla se calentó a 150°C durante 12 h con irradiación de microondas. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando cromatografía combiflash (columna de 12 g), eluyente: CH<sub>3</sub>OH al 0-6%/DCM y producto obtenido (0,020 gramos, 0,051 mmoles, 53% de rendimiento).

RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,22 (s, 1H), 8,18 (m, 2H), 7,80 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,34 (t, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,96 (m, 1H), 6,17 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 2,18 (m, 2H), 2,00 (m, 2H), 1,38 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 393,5.

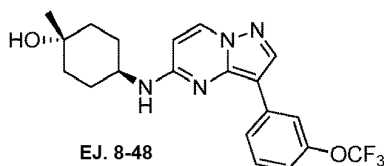
Los Ej. 8-47 a Ej. 8-53 se prepararon utilizando procedimientos similares a los del Ej. 8-46.

**47. 4-(((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-47).**



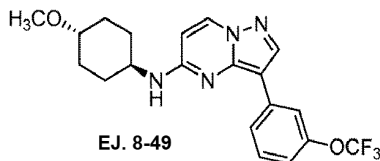
RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,38 (s, 1H), 8,22 (m, 2H), 7,78 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,38 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,97 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,22 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,90 (m, 1H), 2,25 (m, 2H), 1,97 (m, 2H), 2,00 (m, 2H), 1,37 (m, 1H), 1,30 (m, 4 H), 1,16 (s, 6 H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 435,5.

**48. 1-Metil-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-48).**



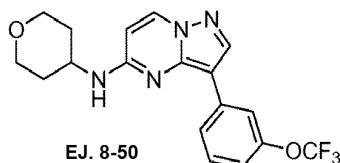
RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,25 (m, 3 H), 7,95 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,40 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,99 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,29 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,10 (m, 1H), 2,11 (m, 2H), 1,74 (m, 2H), 1,62 (m, 4 H), 1,28 (s, 3 H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 407,5.

**49. 4-(trans-metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina (Ej. 8-49).**



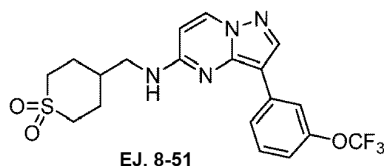
RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,30 (m, 1H), 8,22 (m, 2H), 7,82 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,38 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,38 (m, 1H), 6,22 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,26 (m, 1H), 2,22 (m, 2H), 2,14 (m, 2H), 1,38 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 407,5.

**50. N-(Tetrahidro-2H-piran-4-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina (Ej. 8-50).**



RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,32 (s, 1H), 8,29 (m, 2H), 7,83 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,41 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,02 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,29 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,24 (m, 1H), 4,02 (m, 2H), 3,60 (t, *J* = 12,0 Hz, 2H), 2,12 (m, 2H), 1,62 (m, 2H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 379,4.

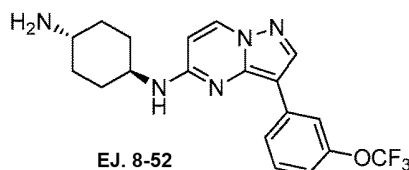
**51. 1,1-Dióxido de 4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)tetrahidro-2H-**

**tiopirano (Ej. 8-51).**

5 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,24 (m, 2H), 8,21 (s, 1H), 7,70 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,38 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,23 (m, 1H), 6,07 (d,  $J = 7,2\text{ Hz}$ , 1H), 3,51 (t,  $J = 6,4\text{ Hz}$ , 2H), 3,06 (m, 2H), 3,00 (m, 2H), 2,22 (m, 3 H), 1,96 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 441,4.

**52. N-(3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)ciclohexano-1,4-trans-diamina (Ej. 8-52).**

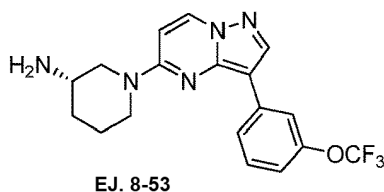
10



15 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,24 (m, 3 H), 7,87 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,39 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,99 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,24 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,95 (m, 1H), 2,86 (m, 1H), 2,24 (m, 2H), 1,8 (m, 2H), 1,37 (t,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 392,4.

**53. (S)-1-(3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperidin-3-amina (Ej. 8-53).**

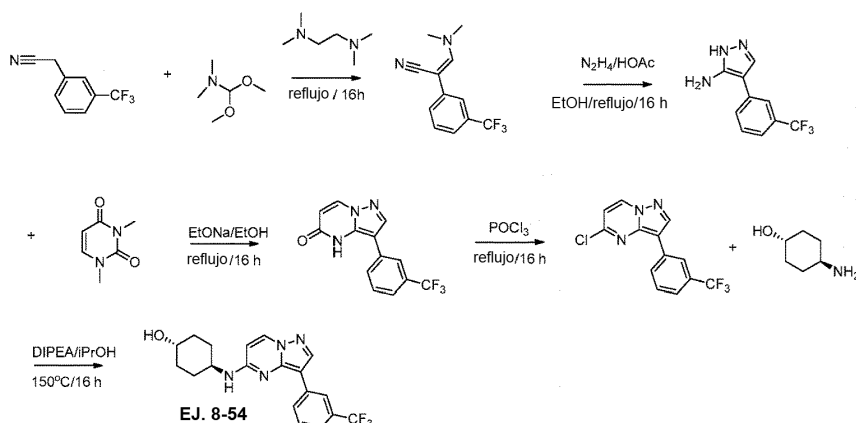
20



20 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,32 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 8,24 (m, 1H), 8,07 (m, 1H), 7,85 (d,  $J = 5,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,38 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,95 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 6,61 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,22 (m, 2H), 3,17 (m, 2H), 2,91 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 1,80 (m, 1H), 1,60 (m, 1H), 1,50 (m, 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 378,5.

**54. 4-((3-(3-(Trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-54).**

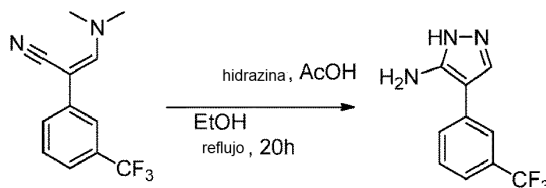
25



30 Una mezcla de 2-(3-(trifluorometil)fenil)acetonitrilo (4,55 g, 24,58 mmoles), 1,1-dimetoxi-N,N-dimetilmetanamina (13,10 mL, 98 mmoles), y  $N^1,N^1,N^2,N^2$ -tetrametiletano-1,2-diamina (0,737 mL, 4,92 mmoles) se calentó a reflujo durante 5 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se repartió entre  $\text{NH}_4\text{Cl}$  acuoso saturado y EtOAc y se extrajo tres veces con EtOAc. Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron a vacío. Tras la absorción sobre celite, el compuesto se purificó mediante Isco (40 g de sílice, EtOAc de 10% a 70%/hexanos) para proporcionar 3-(dimetilamino)-2-(3-(trifluorometil)fenil)acrilonitrilo puro (2,93 g,

rendimiento de 50%).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,48 (m, 2H), 7,41-7,34 (m, 2H), 6,94 (s, 1H), 3,25 (s, 6 H).

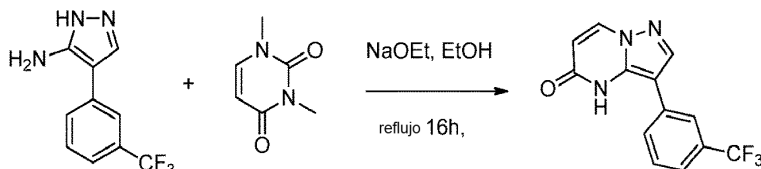


5

A una mezcla de 3-(dimetilamino)-2-(3-(trifluorometil)fenil)acrilonitrilo (2,93 g, 12,20 mmoles) en etanol (35 mL) se le añadieron hidrato de hidrazina (3,80 mL, 122 mmoles) y ácido acético (6,98 mL, 122 mmoles). Después del reflujo; se formó una solución. Al cabo de 5 horas, se añadieron 0,25 mL de hidrato de hidrazina y la reacción se calentó a reflujo durante 15 horas más. Se eliminaron las sustancias volátiles a vacío, y el residuo se repartió entre EtOAc y agua. Después de extraer tres veces con EtOAc, los extractos orgánicos combinados se lavaron dos veces con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron a vacío para proporcionar limpiamente 4-(3-(trifluorometil)fenil)-1H-pirazol-5-amina (2,7 g, rendimiento de 97%) en forma de un aceite de color amarillo claro.

10

15 RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,69 (m, 1H), 7,63 (m, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,50 (m, 2H), 5,78 (s ancho, 3 H).

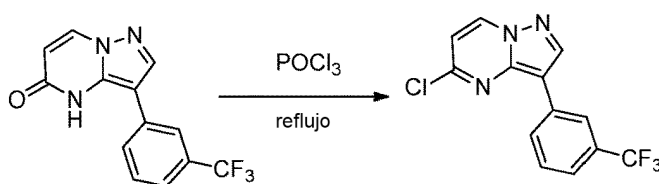


20

A una mezcla de 4-(3-(trifluorometil)fenil)-1H-pirazol-5-amina (2,7 g, 11,88 mmoles) y 1,3-dimetilpirimidin-2,4 (1H,3H)-diona (1,999 g, 14,26 mmoles) en etanol (35 mL) se le añadió etóxido de sodio (1,132 g, 16,64 mmoles). Después de calentar a reflujo durante 16 horas en Argón, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y las sustancias volátiles se eliminaron a vacío. La mezcla se diluyó con 30 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  y se aciduló a pH = 4 con AcOH. El sólido resultante se recogió mediante filtración a vacío. El sólido se recogió en una solución 4:1 de DCM/2-propanol, se lavó con agua, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se sometió a rotavapor para proporcionar 3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5 (4H)-ona pura (2,07 g, 7,41 mmoles, rendimiento de 62,4%).

25

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 12,38 (s ancho, 1H), 8,62 (d, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,05 (m, 2H), 7,60 (m, 2H), 6,20 (m, 1H).

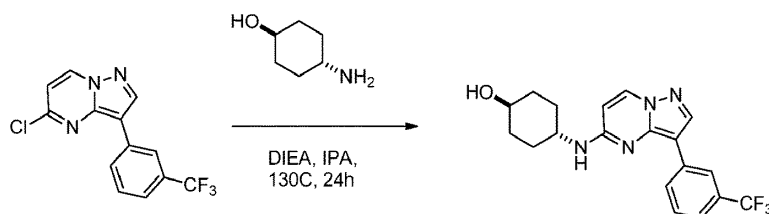


30

Una mezcla de 3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5 (4H)-ona (2,07 g, 7,41 mmoles) y  $\text{POCl}_3$  (6,91 mL, 74,1 mmoles) se calentó a  $107^\circ\text{C}$ . El calentamiento continuó durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el  $\text{POCl}_3$  se eliminó a vacío para proporcionar un sólido ceroso. El sólido se trituró varias veces con  $\text{Et}_2\text{O}$  y la capas de  $\text{Et}_2\text{O}$  se combinaron y se sometieron a rotavapor. El residuo resultante se recogió en DCM y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró a vacío para proporcionar 5-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina (1,47 g, rendimiento de 67%) en forma de un sólido de color pardo.

35

40 RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,60 (d, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,24 (d, 1H), 8,19 (s, 1H), 7,55 (m, 2H), 6,87 (d, 1H).

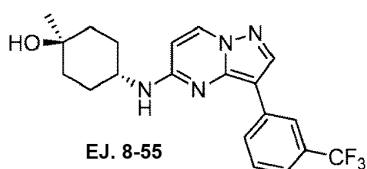


Una mezcla de 5-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina (100 mg, 0,336 mmoles), 4-aminociclohexanol (58,0 mg, 0,504 mmoles) y DIEA (0,117 mL, 0,672 mmoles) en 2-propanol (3 mL) se irradió a 135°C durante 14 h en un microondas Biotage. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> acuoso saturado y se concentró a vacío. Tras la absorción sobre celite, el compuesto se purificó mediante Isco (12 g de sílice, 1/5/4 MeOH/EtOAc/hex) para proporcionar trans-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexanol (101 mg, 80% de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco.

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 8,72 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,50 (d, 1H), 8,09 (d, 1H), 7,50 (t, 1H), 7,39 (d, 1H), 6,25 (d, 1H), 3,98 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 2,23 (m, 2H), 2,03 (m, 2H), 1,55-1,32 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 377,5.

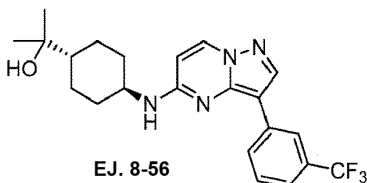
Los Ej. 8-55 a Ej. 8-60 se prepararon utilizando procedimientos similares a los del Ej. 8-54.

**55. 1-Metil-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-55).**



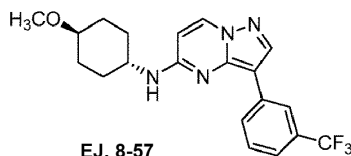
RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 8,69 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,25 (d, 1H), 8,11 (d, 1H), 7,30 (t, 1H), 7,39 (d, 1H), 6,31 (d, 1H), 4,09 (m, 1H), 2,15 (m, 2H), 1,79-1,52 (m, 6 H), 1,30 (s, 3 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 391,5.

**56. 4-((3-(3-(Trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-56).**



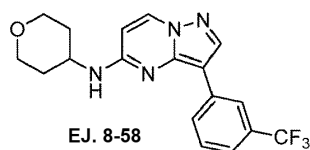
RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 8,78 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,24 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,49 (t, 1H), 7,38 (d, 1H), 6,25 (d, 1H), 3,95 (m, 1H), 2,28 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,32 (m, 5 H), 1,20 (s, 6 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 419,5.

**57. 4-(trans-metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina (Ej. 8-57).**



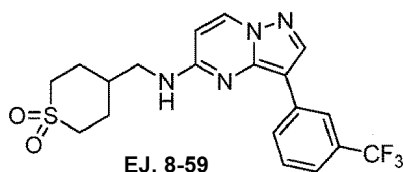
RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 8,76 (s, 1H), 8,49 (d, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,13 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,56 (t, 1H), 7,42 (d, 1H), 6,30 (d, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,27 (s, 3H), 3,19 (m, 1H), 2,10 (m, 4H), 1,30 (m, 4H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 391,5.

**58. N-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina (Ej. 8-58).**



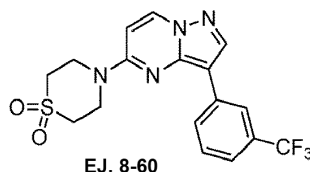
RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8,73 (s, 1H), 8,52 (d, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,15 (d, 1H), 7,77 (d, 1H), 7,55 (t, 1H), 7,43 (d, 1H), 6,33 (d, 1H), 4,08 (m, 1H), 3,93 (m, 2H), 3,43 (m, 2H), 2,05 (m, 2H), 1,53 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 363,5.

**59. 1,1-Dióxido de 4-(((3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopirano (Ej. 8-59).**



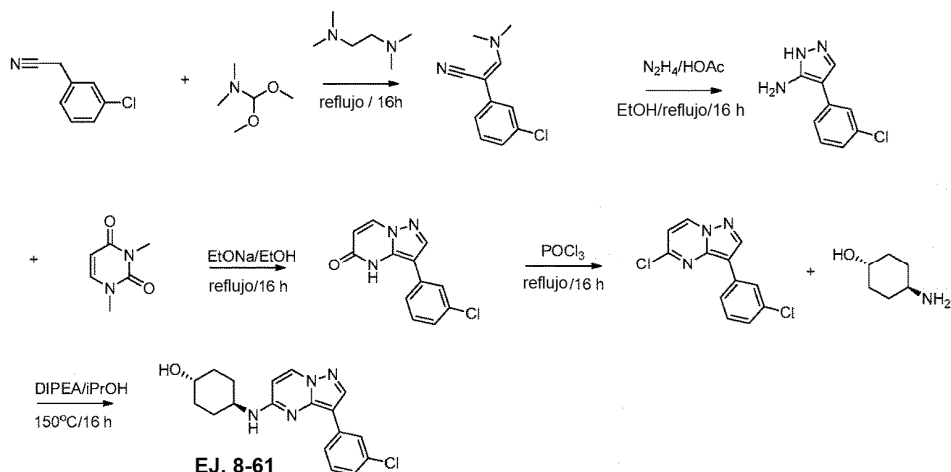
RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 8,66 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,12 (d, 1H), 7,52 (t, 1H), 7,40 (d, 1H), 6,31 (d, 1H), 3,50 (d, 2H), 3,18 (m, 4 H), 2,21 (m, 3 H), 1,88 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 425,5.

**60. 1,1-Dióxido de 4-(3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)tiomorfolina (Ej. 8-60).**



RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8,82 (d, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,48 (m, 1H), 8,28 (d, 1H), 7,61 (t, 1H), 7,48 (d, 1H), 6,98 (d, 1H), 4,22 (m, 4 H), 3,28 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 397,4.

**61. 4-(((3-(3-Clorofenil) pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-61).**



**Síntesis de 3-(dimetilamino)-2-(3-clorofenil) acrilonitrilo.**

Una mezcla de 3-clorofenilacetronitrilo (5 gramos, 33,0 mmoles), *N,N,N',N'*-tetrametil-etano-1,2-diamina (0,767 gramos, 6,60 mmoles) y dimetil acetal de dimetilformamida (20 mL) se calentó a reflujo durante 4 h. Al enfriar, la reacción se repartió entre EtOAc y una solución acuosa saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se concentró a vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía (acetato de etilo/hexano, 0-10%) sobre gel de sílice (24 gramos) para proporcionar un producto puro (6,8 gramos, 33,0 mmoles, rendimiento de 100%).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  7,31 (m, 2H), 7,22 (m, 2H), 7,08 (m, 1H), 3,31 (s, 3 H), 3,30 (s, 3 H).

#### Síntesis de 4-(3-clorofenil)-1H-pirazol-5-amina

Una mezcla de acrilnitrilo (5,0 g, 24,19 mmoles), hidrato de hidrazina (7,75 gramos, 242 mmoles) y ácido acético glacial (14,53 gramos, 242 mmoles) y etanol (20 mL) se calentaron a reflujo durante 16 h. Al enfriar, la reacción se diluyó con agua, se extrajo con AcOEt y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se concentró a vacío (4,0 gramos, 20,66 mmoles, 85% de rendimiento).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  7,63 (m, 1H), 7,52 (m, 1H), 7,42 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,33 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,17 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 194,3.

#### Síntesis de 3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5 (4H)-ona

Una mezcla de pirazol (4,0 gramos, 20,66 mmoles), 1,3-dimetiluracilo (3,47 gramos, 24,79 mmoles) y 10 mL de EtOH seco se trató gota a gota con etóxido de sodio (1,97 gramos, 28,9 mmoles) y al finalizar la adición, la reacción se calentó a reflujo durante 16 h. Al enfriar, la reacción se concentró a vacío y el residuo se añadió a hielo, se neutralizó con ácido acético y el precipitado resultante se filtró, se lavó con agua y se secó para proporcionar el producto (4,0 gramos, 16,28 mmoles, rendimiento de 79%). No se necesitó cromatografía para esta etapa.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,38 (d,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 8,04 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,51 (m, 1H), 7,40 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,27 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,12 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 246,3.

#### Síntesis de 5-cloro-3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina.

Una mezcla de pirazolpirimidinona (4,0 gramos, 16,28 mmoles) se trató con  $\text{POCl}_3$  10 mL y la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. Al enfriar, después de eliminar el residuo en un rotavapor, la reacción se vertió sobre hielo, se alcalinizó cuidadosamente con una solución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se concentraron a vacío para proporcionar el producto (0,65 gramos, 2,46 mmoles, rendimiento de 15%).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,89 (d,  $J = 7,4\text{ Hz}$ , 1H), 8,61 (s, 1H), 8,10 (m, 1H), 7,96 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,40 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,26 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,06 (d,  $J = 7,2\text{ Hz}$ , 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}$ ) $^+$ : 264,3.

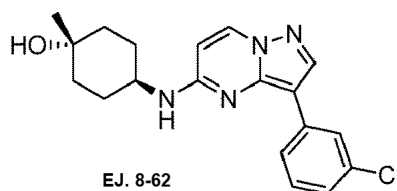
#### Síntesis de 4-((3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexanol

A una solución de 3-cloro-5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina (0,150 gramos, 0,568 mmoles) y trans-1,4-diamociclohexano (0,131 gramos, 1,14 mmoles) en isopropanol (5 mL) se le añadió DIPEA (0,177 gramos, 2,272 mmoles) y la mezcla se calentó a  $150^\circ\text{C}$  durante 12 h con irradiación de microondas. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando cromatografía combiflash (columna de 12 g), eluyente:  $\text{CH}_3\text{OH}$  al 0-6%/DCM y se obtuvo el producto (0,100 gramos, 0,292 mmoles, rendimiento de 52%).

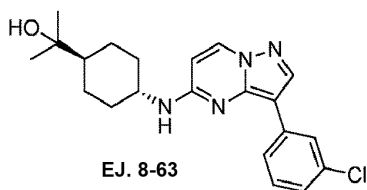
RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,41 (s, 1H), 8,24 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 2H), 7,80 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,30 (t,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 7,10 (m, 1H), 6,25 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,95 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 2,26 (m, 2H), 2,04 (m, 2H), 1,55 (m, 2H), 1,39 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 343,5.

Los Ej. 8-62 a Ej. 8-67 y el Ej. 8-69 se prepararon utilizando procedimientos similares a los del Ej. 8-61.

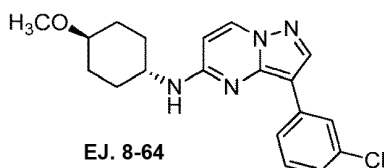
#### 62. 4-((3-(3-Clorofenil) pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-1-metil-trans-ciclohexanol (Ej. 8-62).



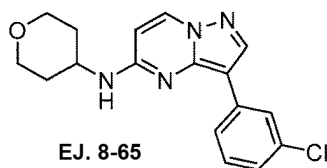
RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,36 (s, 1H), 8,23 (m, 2H), 7,84 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,30 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,11 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 6,29 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,02 (m, 1H), 2,20 (m, 2H), 1,75 (m, 4 H), 1,50 (m, 2H), 1,29 (s, 6 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 357,5.

**63. 4-((3-(3-Clorofenil) pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-63).**

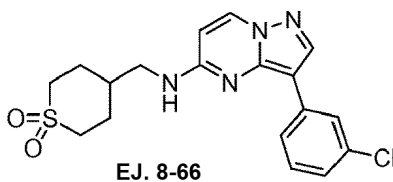
5 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,35 (s, 1H), 8,12 (m, 2H), 7,72 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,27 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,09 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 6,20 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,95 (m, 1H), 2,30 (m, 2H), 1,94 (m, 2H), 1,32 (m, 4 H), 1,50 (s, 6 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 385,5.

**64. 3-((3-(3-Clorofenil)-N-4-metoxi-trans-ciclohexil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina (Ej. 8-64).**

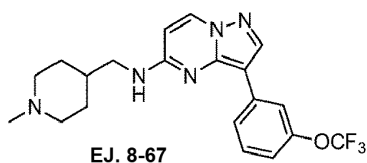
10 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,40 (s, 1H), 8,23 (m, 2H), 7,80 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,29 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,05 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,22 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,95 (m, 1H), 3,30 (m, 1H), 2,25 (m, 2H), 2,15 (m, 2H), 1,45 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 357,5.

**65. 3-(3-clorofenil)-N-(tetrahidro-2H-pirano-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina (Ej. 8-65).**

20 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,32 (s, 1H), 8,15 (m, 2H), 7,72 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,26 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,08 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,23 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 4,20 (m, 1H), 4,00 (m, 2H), 3,62 (t,  $J = 12,0\text{ Hz}$ , 2H), 2,17 (m, 2H), 1,62 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 329,5.

**66. 1,1-Dióxido de 4-(((3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopirano (Ej. 8-66).**

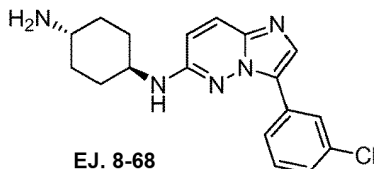
30 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,35 (s, 1H), 8,28 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 8,24 (s, 1H), 7,81 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,31 (t,  $J = 7,2\text{ Hz}$ , 1H), 7,11 (d,  $J = 7,2\text{ Hz}$ , 1H), 6,29 (d,  $J = 7,2\text{ Hz}$ , 1H), 3,46 (m, 2H), 3,10 (m, 4 H), 2,27 (m, 3 H), 1,89 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 391,4.

**67. N-((1-Metilpiperidin-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina (Ej. 8-67).**

35 RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,26 (m, 3 H), 7,86 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,37 (m, 1H), 6,99 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,28 (d,

$J = 7,2$  Hz, 1H), 3,41 (d,  $J = 6,0$  Hz, 2H), 2,80 (d,  $J = 12,0$  Hz, 1H), 2,30 (s, 3 H), 2,11 (t,  $J = 12,0$  Hz, 1H), 1,89 (m, 3 H), 1,44 (m, 2H), 1,29 (m, 2H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 391,4.

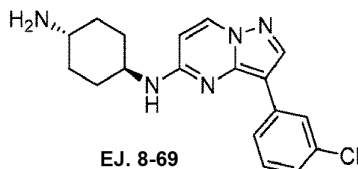
**68.  $N^1$ -(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-trans-diamina (Ej. 8-68).**



El Ej.8-68 se preparó utilizando procedimientos similares a los del Ej. 8-8.

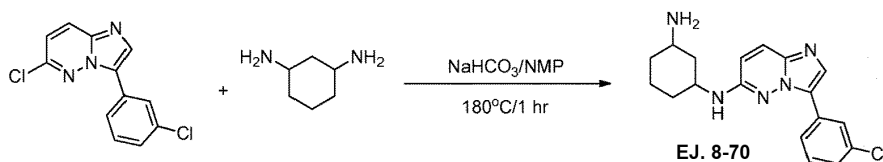
RMN  $H^1$  ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  8,42 (s, 1H), 7,84 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,59 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,37 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,27 (m, 1H), 6,66 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,01 (m, 1H), 2,33 (m, 2H), 2,08 (m, 2H), 1,56 (m, 2H), 1,38 (m, 2H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 325,5.

**69.  $N$ -(3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)ciclohexano-1,4-trans-diamina (Ej. 8-69).**



RMN  $H^1$  ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  8,37 (s, 1H), 8,23 (m, 2H), 7,80 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,28 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,09 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 6,23 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 3,90 (m, 1H), 2,75 (m, 1H), 2,27 (m, 2H), 2,05 (m, 2H), 1,36 (m, 4 H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 325,5.

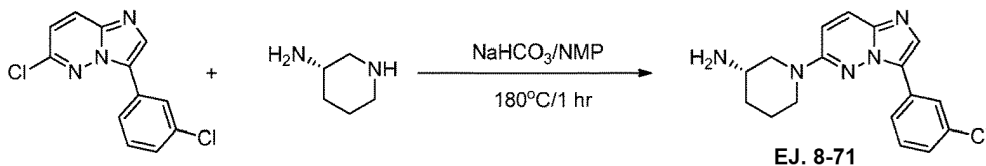
**70.  $N^1$ -(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,3-diamina (Ej. 8-70)**



A una solución de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (100 mg, 0,38 mmoles) y ciclohexano-1,3-diamina (43 mg, 0,38 mmoles) en NMP (1,0 mL) se le añadió  $NaHCO_3$  (32 mg, 0,38 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 60 minutos con irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar  $N^1$ -(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,3-diamina (30 mg, 0,088 mmoles, 23%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

RMN  $H^1$  ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  8,44 (s, 1H), 7,84 (d, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,28 (m, 1H), 7,25 (m, 1H), 6,65 (d, 1H), 3,75 (m, 1H), 2,94 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 1,95 (m, 2H), 1,51 (m, 1H), 1,16 (m, 3 H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 342,5.

**71. (S)-1-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)piperidin-3-amina (Ej. 8-71).**

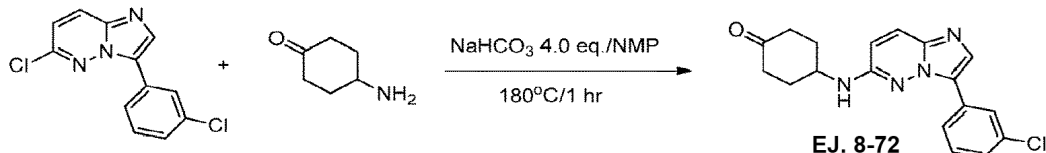


A una solución de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,78 mmoles) y (S)-piperidin-3-amina (290 mg, 2,12 mmoles) en NMP (1,0 mL) se le añadió  $NaHCO_3$  (118 mg, 1,52 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 60 min con irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar (S)-1-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)piperidin-3-amina (32 mg, 0,098 mmoles, 13 %) en

forma de un sólido de color amarillo pálido.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,19 (s, 1H), 7,87 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,79 (s, 1H), 7,66 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,34 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,23 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,07 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,97 (m, 1H), 3,95 (m, 1H), 2,99 (m, 1H), 2,83 (m, 2H), 1,98 (m, 1H), 1,79 (m, 1H), 1,60 (m, 1H), 1,36 (m, 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 328,6.

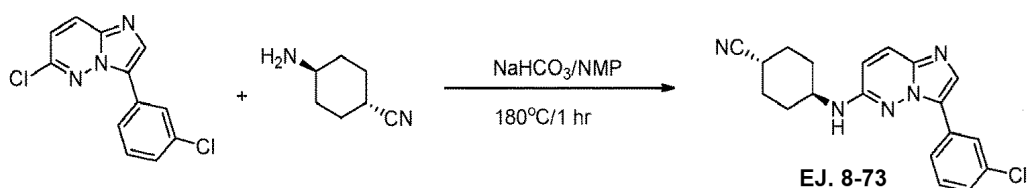
**72. 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (Ej. 8-72).**



A una solución de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,757 mmoles) y 4-aminociclohexanona (290 mg, 2,56 mmoles) en NMP (1,0 mL) se le añadió  $\text{NaHCO}_3$  (118 mg, 1,52 mmoles), la mezcla se agitó a  $180^\circ\text{C}$  durante 60 min con irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (40 mg, 0,117 mmoles, 16%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{Cl}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,38 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,76 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 2H), 7,37 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,29 (m, 1H), 6,64 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,90 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 2,53 (m, 6H), 1,80 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 341,4.

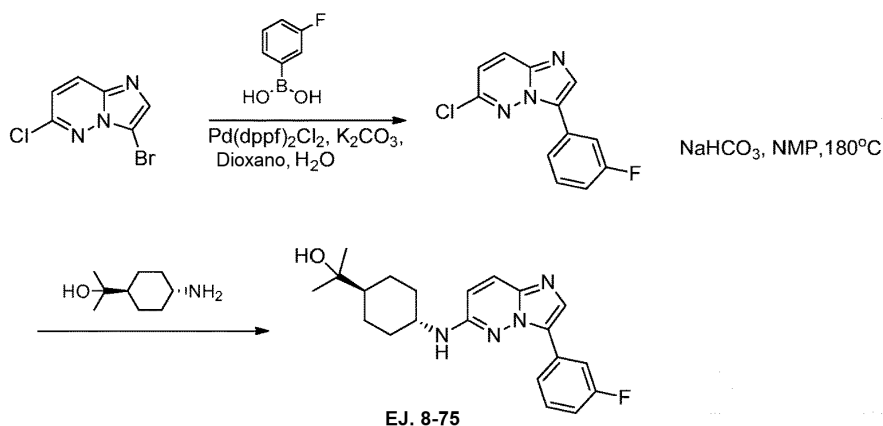
**73. 4-trans-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (Ej. 8-73).**



A una solución de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (80 mg, 0,303 mmoles) y *trans*-4-aminociclohexanocarbonitrilo (38 mg, 0,303 mmoles) en NMP (1,0 mL) se le añadió  $\text{NaHCO}_3$  (102 mg, 1,212 mmoles), la mezcla se agitó a  $180^\circ\text{C}$  durante 60 minutos bajo irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar 4-*trans*-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (20 mg, 0,057 mmoles, 23%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,40 (s, 1H), 7,83 (d, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,56 (d, 1H), 7,38 (m, 1H), 7,29 (m, 1H), 6,63 (d, 1H), 3,67 (m, 1H), 2,65 (m, 1H), 2,30 (m, 2H), 2,20 (m, 2H), 1,75 (m, 2H), 1,32 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 352,5.

**75. 2-(trans-4-((3-(3-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-75)**

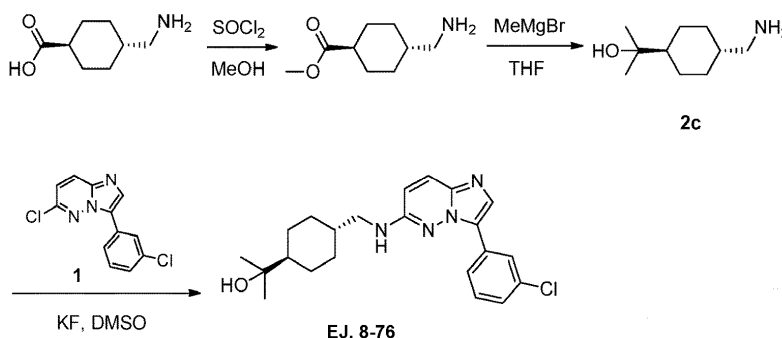


A una solución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (500 mg, 2,15 mmoles) en una mezcla disolvente de dioxano (5 mL) y agua (0,5 mL) se le añadieron ácido (3-fluorofenil)borónico (273 mg, 1,96 mmoles), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (811 mg, 5,88 mmoles) y Pd(dppf)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (79 mg, 0,098 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a 80°C durante la noche bajo N<sub>2</sub>. La TLC (PE: EA = 5:1) mostró que se consumió la sustancia de partida. La mezcla se enfrió y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/EtOAc = 20:1 a 1:1) para proporcionar 6-cloro-3-(3-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (300 mg, 56%) en forma de un sólido de color amarillo.

A una solución de 6-cloro-3-(3-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (100 mg, 0,404 mmoles) en NMP (2 mL) se le añadió 2-(trans-4-aminociclohexil)propan-2-ol (95 mg, 0,6 mmoles) y NaHCO<sub>3</sub> (101,8 mg, 1,21 mmoles). La mezcla se purgó con nitrógeno y se mantuvo a 180°C durante 30 min con la reacción de M.W. La LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se repartió entre agua (100 mL) y EtOAc (50 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar el Ej. 8-75 (10,6 mg, 7,2%) en forma de un sólido de color amarillo.

<sup>1</sup>H RMN (MeOD, 400 MHz): δ 8,26 (dt, J<sub>1</sub> = 11,34 Hz, J<sub>2</sub> = 2,06 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 7,90 Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,63 (d, J = 9,96 Hz, 1H), 7,48-7,43 (m, 1H), 7,07 (td, J<sub>1</sub> = 8,42 Hz, J<sub>2</sub> = 2,75 Hz, 1H), 6,71 (d, J = 9,62 Hz, 1H), 3,68 (ancho, 1H), 2,36 (ancho, 2H), 2,00 (ancho, 2H), 1,42-1,26 (m, 5 H), 1,21 (s, 6 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 369,3

**76. 2-(trans-4-(((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-76).**



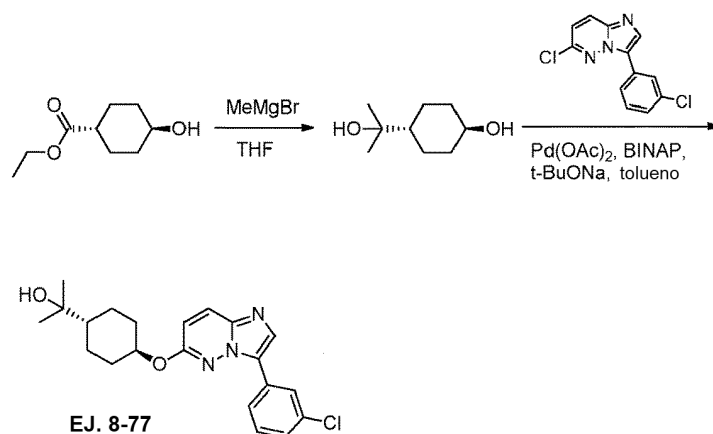
A una solución de ácido trans-4-(aminometil)ciclohexanocarboxílico (2 g, 12,7 mmoles) en MeOH (64 mL) se le añadió gota a gota cloruro de tionilo (0,93 mL, 12,7 mmoles) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla se concentró a vacío hasta sequedad para proporcionar 4-(aminometil)ciclohexanocarboxilato de trans-metilo (2,5 g, 115%) en forma de la sales de HCl.

A una solución de 4-(aminometil)ciclohexanocarboxilato de trans-metilo (1 g, 5,8 mmoles) en THF (50 mL) se le añadió gota a gota bromuro de metilmagnesio (7,7 mL, 23,2 mmoles) a -78°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La TLC (PE: EA = 5: 1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se sofocó mediante la adición de NH<sub>4</sub>Cl (100 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL x 3). Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar 2-(trans-4-(aminometil)ciclohexil)propan-2-ol (0,42 g, 39,2%) en forma de un sólido de color amarillo.

Una mezcla de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (100 mg, 0,38 mmoles), 2-(trans-4-(aminometil)ciclohexil)propan-2-ol (140 mg, 0,76 mmoles) y KF (51 mg, 0,88 mmoles) en DMSO (2 mL) se agitó a 130°C durante la noche. LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en agua (100 mL) y se extrajo con EtOAc (50 mL x 3). Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar el Ej. 8-76 (12 mg, 8%) en forma de un sólido de color amarillo.

<sup>1</sup>H RMN (MeOD, 400 MHz): δ 8,44 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,98 (d, J = 7,56 Hz, 1H), 7,78 (d, J = 9,62 Hz, 1H), 7,50 (t, J = 7,56 Hz, 1H), 7,43 (d, J = 8,25 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 9,62 Hz, 1H), 3,27 (d, J = 6,87 Hz, 2H), 2,03 (d, J = 10,65 Hz, 2H), 1,94 (s, J = 10,65 Hz, 2H), 1,77 (ancho, 1H), 1,35-1,31 (m, 1H), 1,15 (s, 6 H), 1,15-1,02 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 399,3.

**77. 2-(trans-4-(((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)oxi)ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-77).**

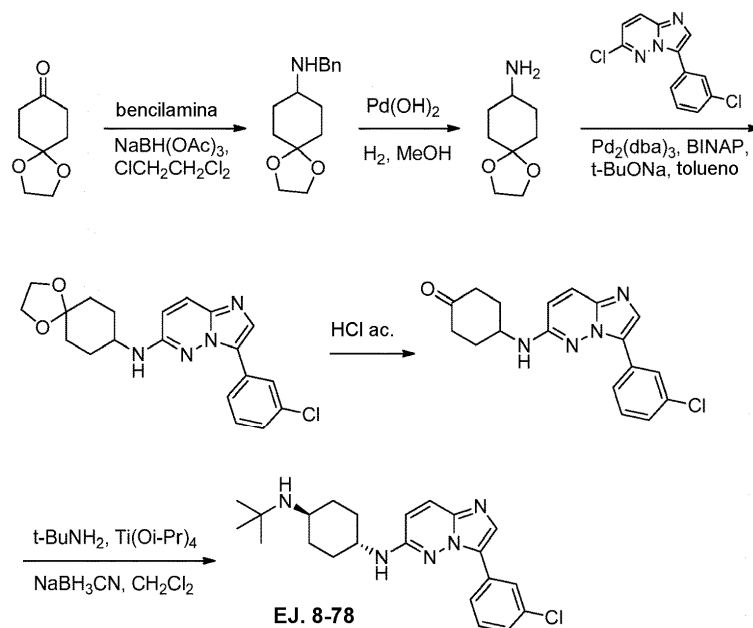


A una solución de 4-hidroxiciclohexanocarboxilato de trans-etilo (1 g, 5,8 mmoles) en THF (50 mL) se le añadió gota a gota bromuro de metilmagnesio (7,7 mL, 23,2 mmoles) a  $-78^{\circ}\text{C}$ . La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se sofocó mediante la adición de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (100 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL  $\times$  3). Los extractos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar trans-4-(2-hidroxipropil)ciclohexanol (0,88 g, 96%) en forma de un sólido de color amarillo.

A una solución de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (100 mg, 0,378 mmoles) en tolueno (2 mL) se le añadieron trans-4-(2-hidroxipropil)ciclohexanol (179,8 mg, 1,14 mmoles), BINAP (23,5 mg, 0,038 mmoles),  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (8,78 mg, 0,038 mmoles) y t-BuONa (60,5 mg, 0,76 mmoles). La mezcla se cargó con nitrógeno y se mantuvo a  $120^{\circ}\text{C}$  durante 1 h con la reacción de M.W. La LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en salmuera (100 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL  $\times$  3). Los extractos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar trans-4-(2-(6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (13 mg, 8,6%) en forma de un sólido de color amarillo.

$^1\text{H}$  RMN(DMSO, 400 MHz):  $\delta$  8,41 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,05 (d,  $J = 9,62$  Hz, 1H), 7,97 (d,  $J = 7,56$  Hz, 1H), 7,48 (t,  $J = 7,56$  Hz, 1H), 7,38 (d,  $J = 7,56$  Hz, 1H), 6,89 (d,  $J = 9,88$  Hz, 1H), 4,84-4,79 (m, 1H), 4,11 (s, 1H), 2,28 (d,  $J = 7,82$  Hz, 2H), 1,88 (d,  $J = 9,88$  Hz, 2H), 1,44-1,36 (m, 2H), 1,25-1,18 (m, 3 H), 1,02 (s, 6 H), EM ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 386,2

**78. trans-N1-(terc-butil)-N4-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (Ej. 8-78).**



Una solución de 1,4-dioxaespiro[4,5]decan-8-ona (10 g, 6,4 mmoles) y bencilamina (7 mL, 6,4 mmoles) en 1,2-dicloroetano (220 mL) se trató con  $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$  (19 g, 89,6 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se repartió entre

NaHCO<sub>3</sub> ac. sat. (500 mL) y EtOAc (200 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para proporcionar N-bencil-1,4-dioxaspiro[4,5]decan-8-amina (18 g, 115%) en forma de un líquido de color amarillo, que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Una mezcla de N-bencil-1,4-dioxaspiro[4,5]decan-8-amina (3 g, 12,2 mmoles) e hidróxido de paladio (0,9 g) en MeOH (120 mL) se hidrogenó a 3,45 bar de H<sub>2</sub> a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a vacío para proporcionar 1,4-dioxaspiro[4,5]decan-8-amina (2,1 g, 110%) en forma de un aceite de color pardo.

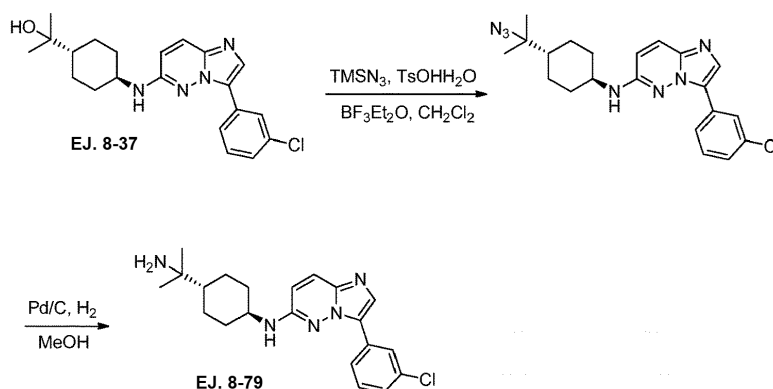
Una mezcla de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (500 mg, 1,89 mmoles), 4-dioxaspiro[4,5]decan-8-amina (297 mg, 1,89 mmoles), BINAP (117,7 mg, 0,189 mmoles), t-BuONa (302,4 mg, 3,78 mmoles) y Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> en tolueno (10 mL) se cargó con N<sub>2</sub> y se agitó a 110°C durante la noche. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que casi se había consumido la sustancia de partida. La mezcla se repartió entre agua (150 mL) y EtOAc (100 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante combiflash para proporcionar 3-(3-clorofenil)-N-(1,4-dioxaspiro[4,5]decan-8-il)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (420 mg, 57,8%) en forma de un sólido de color amarillo.

A una solución de 3-(3-clorofenil)-N-(1,4-dioxaspiro[4,5]decan-8-il)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (210 mg, 0,55 mmoles) en THF (3 mL) se le añadió HCl 3 N (3 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La TLC (EtOAc) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en una NaHCO<sub>3</sub> (ac) sat. y se extrajo con EtOAc (100 mL X 3). Las capas orgánicas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (190 mg, 102%) en forma de un sólido de color amarillo.

A una solución a 0°C de 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (80 mg, 0,23 mmoles) y t-butilamina (17,2 mg, 0,23 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1,2 mL) se le añadió gota a gota Ti(Oi-Pr)<sub>4</sub> (0,27 mL, 0,92 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en agua (150 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL X 3). Las capas orgánicas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar el Ej. 8-78 (15 mg, 16,5%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN <sup>1</sup>H (MeOD, 400 MHz): δ 8,56 (t, J = 1,72 Hz, 1H), 8,45 (ancho, 0,66 H), 7,91 (d, J = 7,93 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,67 (d, J = 9,66 Hz, 1H), 7,46 (t, J = 7,93 Hz, 1H), 7,35 (dd, J<sub>1</sub> = 7,93 Hz, J<sub>2</sub> = 1,03 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 9,66 Hz, 1H), 3,78 (tt, J<sub>1</sub> = 11,04 Hz, J<sub>2</sub> = 3,45 Hz, 1H), 3,42 (tt, J<sub>1</sub> = 12,07 Hz, J<sub>2</sub> = 3,79 Hz, 1H), 2,42 (d, J = 11,04 Hz, 2H), 2,23 (d, J = 12,42 Hz, 2H), 1,79 (q, J = 12,42 Hz, 2H), 1,54 (q, J = 12,07 Hz, 2H), 1,46 (s, 9 H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H<sup>+</sup>): 398,3.

**79. N-(trans-4-(2-aminopropan-2-il)ciclohexil)-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (Ej. 8-79).**

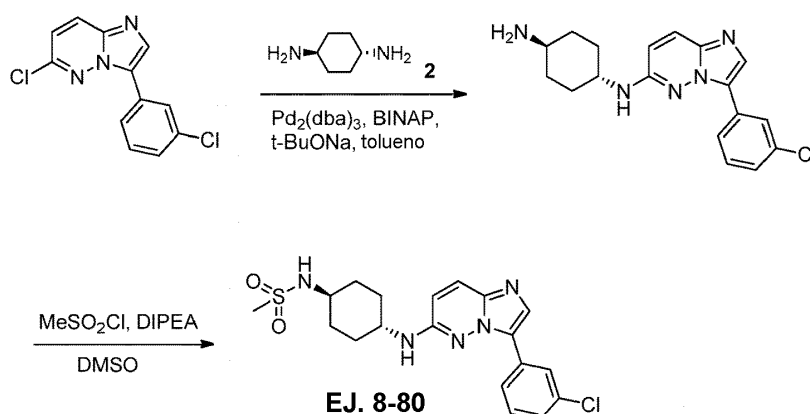


A una solución de TMSN<sub>3</sub> (93 mg, 0,78 mmoles), TsOH · H<sub>2</sub>O (49 mg, 0,26 mmoles) y BF<sub>3</sub>Et<sub>2</sub>O (74 mg, 0,52 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1,3 mL) se le añadió lentamente gota a gota una solución del Ej. 8-37 (100 mg, 0,26 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL) a 0°C. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 10:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en agua (150 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL X 3). Las capas orgánicas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar N-(trans-4-(2-azidopropan-2-il)ciclohexil)-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina bruta (80 mg) en forma de un aceite de color amarillo, que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Una mezcla de N-(trans-4-(2-azidopropan-2-il)ciclohexil)-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (90 mg, 0,22 mmoles) y Pd/C(30 mg) en MeOH (5 mL) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) se hidrogenó a 3,45 bar de H<sub>2</sub> a temperatura ambiente durante 48 h. La LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se filtró y el producto filtrado se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar el Ej. 8-79 (4 mg, 5%) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN <sup>1</sup>H (MeOD, 400 MHz): δ 8,49 (s, 1H), 8,29 (ancho, 0,68 H), 7,79 (d, J = 7,56 Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,56 (d, J = 9,62 Hz, 1H), 7,34 (t, J = 7,56 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 7,56 Hz, 1H), 6,62 (d, J = 9,62 Hz, 1H), 3,65 (tt, J<sub>1</sub> = 11,68 Hz, J<sub>2</sub> = 4,12 Hz, 1H), 2,29 (d, J = 11,68 Hz, 2H), 1,81 (s, J = 12,37 Hz, 2H), 1,52 (t, J = 11,68 Hz, 1H), 1,36 (q, J = 11,68 Hz, 4 H), 1,39-1,29 (m, 4 H), 1,25 (s, 6 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H<sup>+</sup>): 384,2.

**80. N-(trans-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)metanosulfonamida (Ej. 8-80).**

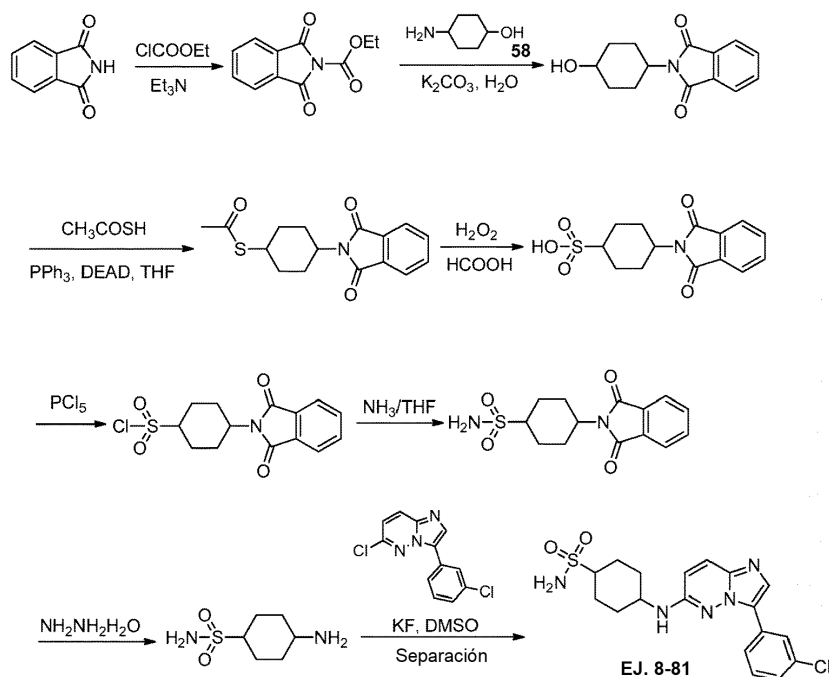


A una mezcla de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (500 mg, 1,89 mmoles) en tolueno (10 mL) se le añadieron trans-ciclohexano-1,4-diamina (215,9 mg, 1,89 mmoles), t-BuONa (302,4 mg, 3,78 mmoles), BINAP (117,7 mg, 0,189 mmoles), Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (173 mg, 0,189 mmoles). La mezcla se cargó con N<sub>2</sub> y se calentó a 110°C durante 4 h. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que la reacción se había completado. La reacción se vertió en agua (150 mL), se extrajo con EA (3 X 50 mL). La capa orgánica se secó y se condensó. El residuo se purificó mediante combiflash (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 0 ~ 10:1) para proporcionar trans-N1-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (240 mg, rendimiento: 37%) en forma de un sólido de color amarillo.

A una solución a 0°C de trans-N1-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (50 mg, 0,146 mmoles) y DIPEA (0,08 mL, 0,44 mmoles) en DMSO (0,6 mL) se le añadió gota a gota MeSO<sub>3</sub>Cl (20 mg, 0,176 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. La TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 10:1) mostró que se convertía la mayor parte de la sustancia de partida. La mezcla se repartió entre agua (50 mL) y EtOAc (50 mL) y se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (50 mL X 3). Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar el Ej. 8-80 (10,8 mg, 18%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO, 400 MHz): δ 8,53 (s, 1H), 8,23 (ancho, 0,4 H), 8,01 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,75 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,45 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,35 (dd, J<sub>1</sub> = 7,6 Hz, J<sub>2</sub> = 1,2 Hz, 1H), 7,10 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,07 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,54-3,51 (m, 1H), 3,21-3,15 (m, 1H), 2,92 (s, 3 H), 2,17 (d, J = 10,4 Hz, 2H), 1,98 (d, J = 10,4 Hz, 2H), 1,46-1,30 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H<sup>+</sup>): 420,2

**81. 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexano-1-sulfonamida (Ej. 8-81).**



A una solución de isoindolino-1,3-diona (2 g, 13,6 mmoles) en Et<sub>3</sub>N (60 mL) se le añadió ClCOOEt (2,55 g, 16,33 mmoles) a 0°C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla se filtró y el sólido se repartió entre agua (150 mL) y EtOAc (50 mL) y se ajustó el valor de pH a 6 con HCl 1 N. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para proporcionar 1,3-dioxoisoindolin-2-carboxilato de etilo (1,67 g, 53,08%) en forma de un sólido de color blanco.

A una solución de 1,3-dioxoisoindolin-2-carboxilato de etilo (1,67 g, 7,19 mmoles) en agua (16 mL) se le añadió 4-aminociclohexanol (1,31 g, 8,63 mmoles), seguido de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,59 g, 11,5 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se filtró y el sólido se secó a vacío para proporcionar 2-(4-hidroxiciclohexil)isoindolin-1,3-diona (1 g, 56,82%) en forma de un sólido de color pardo.

A una solución de PPh<sub>3</sub> (1,28 g, 4,9 mmoles) en THF (12 mL) se le añadió gota a gota DEAD (852 mg, 4,9 mmoles) a -10°C. Después de que apareció el sólido de color blanco, se añadió el compuesto 2-(4-hidroxiciclohexil)isoindolino-1,3-diona (600 mg, 2,45 mmoles), seguido de CH<sub>3</sub>COSH (0,35 mL, 4,9 mmoles) a -10°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en agua (200 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (100 mL X 3). Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar S-(4-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)ciclohexil)etanotioato (600 mg, 81%) en forma de un sólido de color blanco.

Una solución de peróxido de hidrógeno (0,8 mL) en ácido fórmico (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de enfriar en un baño de hielo, se añadió una mezcla del compuesto **60** (400 mg, 1,32 mmoles) en ácido fórmico (2 mL) mientras se mantenía la temperatura a 0°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se enfrió en un baño de hielo y se añadió lentamente Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> sólido hasta que el yodo-almidón no se volvió azul. La mezcla se mezcló con gel de sílice y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante combi flash (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 10:1) para proporcionar ácido 4-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfónico (400 mg, 98%) en forma de un sólido de color blanco.

Una mezcla de ácido 4-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfónico (6,8 g, 22 mmoles) y PCl<sub>5</sub> (5 g, 24 mmoles) se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Y a continuación la mezcla se calentó a 100°C y se agitó durante 2 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se lavó con EtOAc (150 mL X 3). Los extractos combinados se concentraron a vacío para proporcionar cloruro de 4-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfonilo bruto (5 g, 68%) en forma de un sólido de color blanco, que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Una mezcla de cloruro de 4-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfonilo (5 g, 15,2 mmoles) en NH<sub>3</sub>/THF (150 mL) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró a vacío. El residuo se disolvió en aproximadamente 100 mL de agua caliente y el sólido se filtró en caliente. El producto filtrado se concentró a vacío

para proporcionar 4-(1,3-dioxoisindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfonamida (3 g, 64%) en forma de un sólido de color blanquecino.

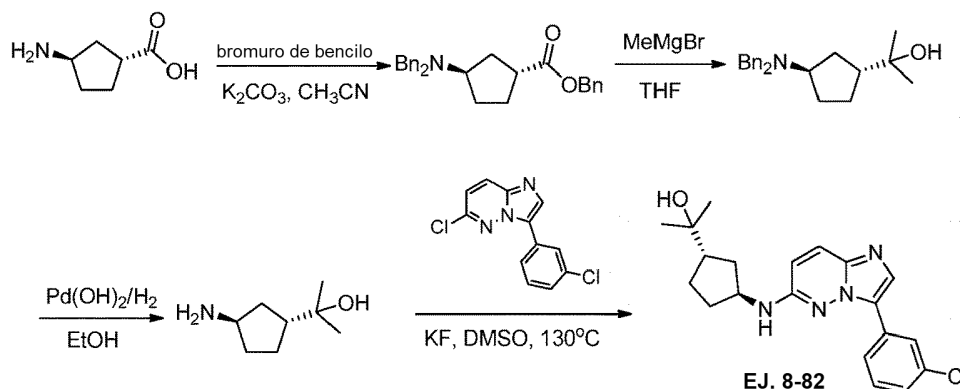
Una mezcla de 4-(1,3-dioxoisindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfonamida (3 g, 9,7 mmoles) y  $\text{NH}_2\text{NH}_2\text{H}_2\text{O}$  (1 mL) en EtOH (15 mL) se calentó a reflujo durante 30 min. Después de enfriar, se ajustó el pH a 5 con HCl diluido. La mezcla se concentró a vacío. El residuo se disolvió con HCl al 35% (10 mL) y se calentó hasta que se disolvió todo el material sólido. Tras enfriar, se filtró un material cristalino y el producto filtrado se concentró para proporcionar 4-aminociclohexano-1-sulfonamida bruta (700 mg, 40%) en forma de un sólido de color amarillo, que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Una mezcla de 4-aminociclohexano-1-sulfonamida (200 mg, 1,12 mmoles), 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,76 mmoles) y KF (500 mg, 8,6 mmoles) en DMSO (2 mL) se calentó a  $120^\circ\text{C}$  durante la noche. La LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en salmuera (80 mL) y se extrajo con EtOAc (30 mL  $\times$  3). Los extractos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar dos isómeros: El isómero 1 del Ej. 8-81 (7,0 mg) y el isómero 2 del Ej. 8-81 (8,1 mg) en forma de un sólido de color blanco.

Isómero 1 del Ej. 8-81. RMN  $^1\text{H}$  (MeOD, 400 MHz):  $\delta$  8,39 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 8,00-7,97 (m, 2H), 7,58-7,55 (m, 2H), 7,25 (d,  $J = 9,93$  Hz, 1H), 3,78 (tt,  $J_1 = 11,35$  Hz,  $J_2 = 3,41$  Hz, 1H), 3,02 (tt,  $J_1 = 11,64$  Hz,  $J_2 = 3,41$  Hz, 1H), 2,39 (t,  $J = 11,64$  Hz, 4 H), 1,79 (d,  $J = 12,49$  Hz, 2H), 1,47 (d,  $J = 12,49$  Hz, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 406,1.

Isómero 2 del Ej. 8-81. RMN  $^1\text{H}$  (MeOD, 400 MHz):  $\delta$  8,34 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,0 (d,  $J = 9,96$  Hz, 1H), 7,97 (d,  $J = 6,87$  Hz, 1H), 7,56 (d,  $J = 7,56$  Hz, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,40 (d,  $J = 9,96$  Hz, 1H), 4,08 (t,  $J = 3,44$  Hz, 1H), 3,09 (tt,  $J_1 = 9,96$  Hz,  $J_2 = 3,78$  Hz, 1H), 2,29-2,25 (m, 2H), 2,15-2,10 (m, 2H), 2,06-1,96 (m, 2H), 1,88-1,80 (m, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 406,2.

## 82. 2-(trans-3-((3-L3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclopentil)propan-2-ol (Ej. 8-82).



A una mezcla de  $80^\circ\text{C}$  de ácido trans-3-aminociclopentanocarboxílico (1 g, 7,74 mmoles) y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (3,2 g, 23,22 mmoles) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  (20 mL) se le añadió gota a gota una solución de bromuro de bencilo (3,2 mL, 27,1 mmoles) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  (10 mL). La mezcla se calentó a  $80^\circ\text{C}$  durante la noche. La mezcla se enfrió y se vertió en agua (150 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL  $\times$  3). Los extractos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante combiflash para proporcionar 3-(dibencilamino)ciclopentanocarboxilato de trans-bencilo (2,8 g, 90,6%) en forma de un sólido de color blanco.

A una solución a  $0^\circ\text{C}$  de 3-(dibencilamino)ciclopentanocarboxilato de trans-bencilo (2,8 g, 7 mmoles) en THF (250 mL) se le añadió gota a gota MeMgBr (23 mL, 70 mmoles). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC (PE) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se enfrió y se vertió en  $\text{NH}_4\text{Cl}$  sat. (300 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL  $\times$  3). Los extractos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar 2-(trans-3-(dibencilamino)ciclopentil)propan-2-ol bruto (3 g, 133%) en forma de un líquido de color amarillo.

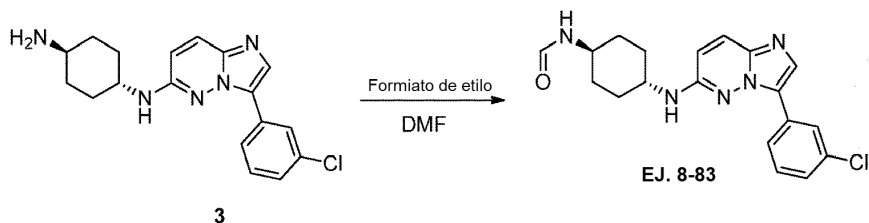
Una mezcla de 2-(trans-3-(dibencilamino)ciclopentil)propan-2-ol (3 g, 9,3 mmoles) y  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  (900 mg) en EtOH (30 mL) se hidrógeno a 3,45 bar de  $\text{H}_2$  durante 48 h a temperatura ambiente. La TLC (PE: EA = 5:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se filtró y se concentró a vacío para proporcionar 2-(trans-3-aminociclopentil)propan-2-ol bruto (1 g, 77%) en forma de un aceite de color amarillo.

Una mezcla de 2-(trans-3-aminociclopentil)propan-2-ol (82 mg, 0,57 mmoles), 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (100 mg, 0,38 mmoles) y KF (66,2 mg, 1,14 mmoles) en DMSO (1 mL) se agitó a  $130^\circ\text{C}$  durante la

noche. La LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en agua (100 mL) y se extrajo con EtOAc (50 mL \* 3). Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar Ej. 8-82 (45 mg, 32%) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN <sup>1</sup>H (MeOD, 400 MHz): δ 8,57 (t, *J* = 2,06 Hz, 1H), 7,96 (dt, *J*<sub>1</sub> = 8,11 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1,32 Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,63 (d, *J* = 9,88 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 8,11 Hz, 1H), 7,33 (d, *J* = 7,76 Hz, 1H), 6,74 (d, *J* = 9,70 Hz, 1H), 4,19-4,12 (m, 1H), 2,41-2,34 (m, 1H), 2,22-2,10 (m, 2H), 1,83-1,62 (m, 3 H), 1,51-1,43 (m, 1H), 1,23 (s, 6 H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H<sup>+</sup>): 371,1

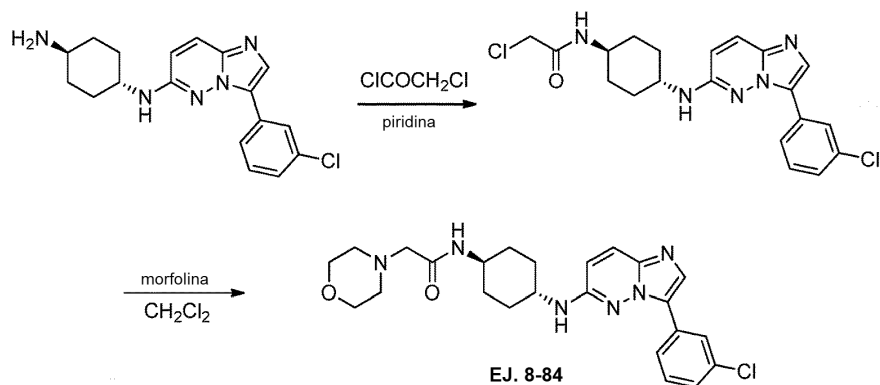
**83. *N*-(trans-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)formamida (Ej. 8-83).**



Una mezcla de trans-N1-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (50 mg, 0,146 mmoles) y formiato de etilo (0,37 mL) en DMF (1,2 mL) se calentó a 90°C durante 6 h. La LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se concentró a vacío y se purificó mediante HPLC prep para proporcionar Ej. 8-83 (22 mg, 41%) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN <sup>1</sup>H (MeOD, 400 MHz): δ 8,47 (s, 1H), 8,23 (ancho, 0,36 H), 7,98 (s, 1H), 7,88 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,60 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,39 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,29 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,68 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,79 (t, *J* = 11,2 Hz, 1H), 3,70 (t, *J* = 10,8 Hz, 1H), 2,28 (d, *J* = 12 Hz, 2H), 2,02 (d, *J* = 12 Hz, 2H), 1,54-1,36 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H<sup>+</sup>): 370,2

**84. *N*-(trans-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)-2-morfolinoacetamida (Ej. 8-84).**



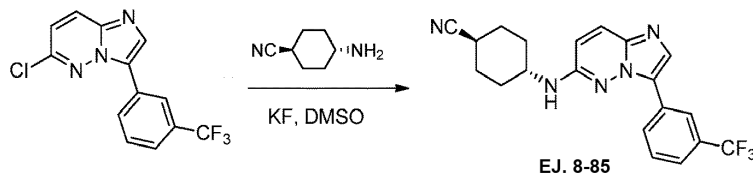
A una solución de trans-N1-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (90 mg, 0,26 mmoles) y piridina (0,08 mL, 1,04 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2,6 mL) se le añadió gota a gota cloruro de cloroacetilo (0,03 mL, 0,39 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 10:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en una solución ac. sat. de NaHCO<sub>3</sub> (100 mL) y se extrajo con EtOAc (50 mL \* 3). Los extractos se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar 2-cloro-N-(trans-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)acetamida bruta (110 mg, 101%) en forma de un sólido de color amarillo.

Una mezcla de 2-cloro-N-(trans-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-*b*]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)acetamida (50 mg, 0,12 mmoles), morfolina (0,3 mL) y DIPEA (0,2 mL) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,6 mL) se agitó a 50°C durante 3 h. La LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se concentró a vacío. El residuo se repartió entre agua (100 mL) y EtOAc (50 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar el Ej. 8-84 (9,6 mg, 17%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN <sup>1</sup>H (MeOD, 400 MHz): δ 8,49 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,66 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,34 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,75 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,87-3,73 (m, 6 H), 3,36-3,30 (m, 1H), 3,36-3,30 (m,

1H), 3,30-3,20 (m, 1H), 2,84 (ancho, 4 H), 2,31 (d,  $J = 12,8$  Hz, 2H), 2,02 (d,  $J = 12,8$  Hz, 2H), 1,54-1,40 (m, 4 H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H^+$ ): 469,3.

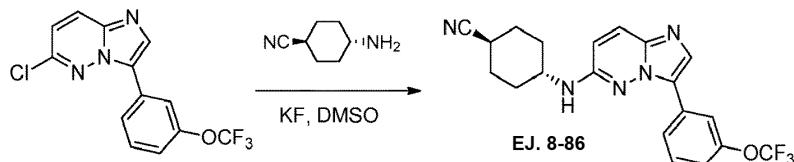
**85. *trans*-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (Ej. 8-85).**



Una mezcla de 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (50 mg, 0,168 mmoles), Trans-4-aminociclohexanocarbonitrilo (53 mg, 0,22 mmoles) y KF (42,2 mmoles) mg, 0,73 mmoles) en DMSO (0,5 mL) se calentó a 130°C durante la noche. La LCMS mostró que casi se había completado la reacción. La mezcla se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar *trans*-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (20 mg, 30,8%) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN  $H^1$  (MeOD, 400 MHz):  $\delta$  8,75 (s, 1H), 8,24 (t,  $J = 3,61$  Hz, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,74-7,69 (m, 3 H), 6,84 (d,  $J = 9,79$  Hz, 1H), 3,83 (tt,  $J_1 = 10,82$  Hz,  $J_2 = 3,78$  Hz, 1H), 2,71 (tt,  $J_1 = 11,51$  Hz,  $J_2 = 3,61$  Hz, 1H), 2,23 (tt,  $J_1 = 16,15$  Hz,  $J_2 = 6,18$  Hz, 4 H), 1,73 (q,  $J = 12,20$  Hz, 2H), 1,43 (q,  $J = 12,54$  Hz, 2H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H^+$ ): 386,2.

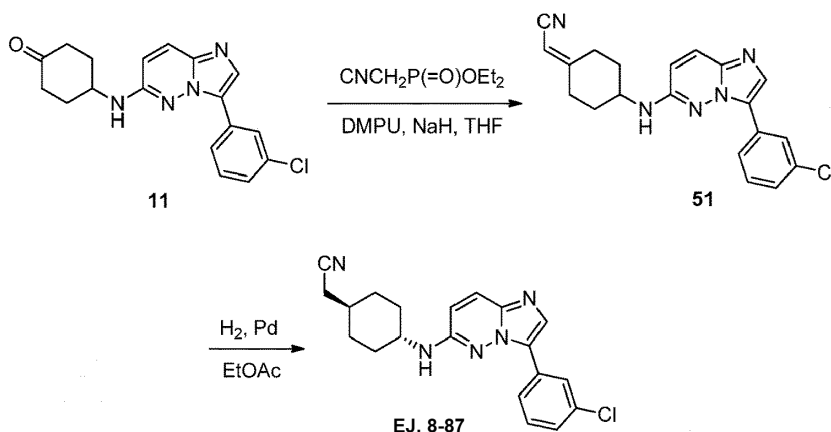
**86. *trans*-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazol[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (Ej. 8-86).**



Ej. 8-86 se prepara a partir de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina utilizando procedimientos similares a los del Ej. 8-85.

RMN  $H^1$  (MeOD, 400 MHz):  $\delta$  8,42 (s, 1H), 8,02 (d,  $J = 7,90$  Hz, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,72 (d,  $J = 9,62$  Hz, 1H), 7,60 (t,  $J = 8,25$  Hz, 1H), 7,31 (t,  $J = 8,25$  Hz, 1H), 6,82 (t,  $J = 9,62$  Hz, 1H), 3,82 (tt,  $J_1 = 10,65$  Hz,  $J_2 = 3,44$  Hz, 1H), 2,73 (tt,  $J_1 = 11,68$  Hz,  $J_2 = 3,44$  Hz, 1H), 2,31-2,20 (m, 4 H), 1,76 (q,  $J = 12,02$  Hz, 2H), 1,43 (q,  $J = 12,02$  Hz, 2H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H^+$ ): 402,2.

**87. 2-(*trans*-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)acetoniitrilo (Ej. 8-87)**



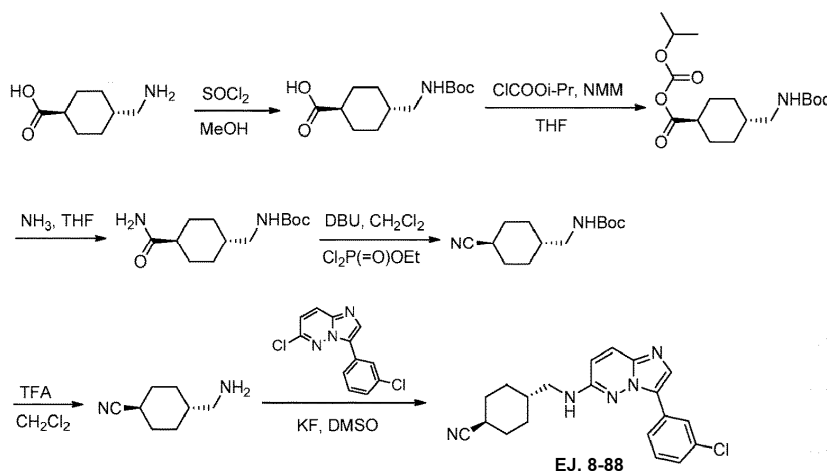
A una solución a 0°C de cianometilfosfonato de dietilo (0,07 mL, 0,4 mmoles) en THF (1,5 mL) se le añadió DMPU (0,27 mL, 1 mmoles), seguido de NaH (15 mL, 0,37 mmoles). Después de agitar durante 10 min, una solución de 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (130 mg, 0,38 mmoles) en THF (1,5 mL) fue añadido. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La TLC (EA) mostró que la mayor parte de s.m. se convirtió en producto. La mezcla se vertió en agua (100 mL) y se extrajo con EtOAc (50 mL \* 3). Los extractos combinados se secaron sobre  $Na_2SO_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío para proporcionar 2-(4-((3-(3-

clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexiliden)acetonitrilo bruto (100 mg, 69%) en forma de un sólido de color amarillo.

Una mezcla de 2-(4-(((3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexiliden)acetonitrilo (100 mg, 0,26 mmoles) y Pd/C al 10% (100 mg) en EtOAc (2 mL) se agitó bajo un balón de H<sub>2</sub> a temperatura ambiente durante 4 h. La LCMS mostró que se consumió la mayor parte de s.m. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar Ej. 8-87 (13 mg, 13,7%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN H<sup>1</sup> (MeOD, 400 MHz): δ 8,51 (s, 1H), 8,17 (ancho, 0,4 H), 7,93 (d, *J* = 7,90 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,64 (d, *J* = 9,96 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,90 Hz, 1H), 7,34 (d, *J* = 7,90 Hz, 1H), 6,73 (d, *J* = 9,96 Hz, 1H), 3,72 (tt, *J*<sub>1</sub> = 10,31 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,44 Hz, 1H), 2,46 (d, *J* = 6,18 Hz, 2H), 2,33 (d, *J* = 10,65 Hz, 2H), 1,98 (d, *J* = 10,99 Hz, 2H), 1,77 (ancho, 1H), 1,48-1,32 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H<sup>+</sup>): 366,3.

**88. trans-4-(((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)ciclohexanocarbonitrilo (Ej. 8-88).**



A una solución de ácido trans-4-(aminometil)ciclohexanocarboxílico (2 g, 12,7 mmoles) en MeOH (64 mL) se le añadió gota a gota cloruro de tionilo (0,927 mL, 12,7 mmoles) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla se concentró a vacío para proporcionar ácido trans-4-(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)ciclohexanocarboxílico bruto (2,5 g, 115%) en forma de la sal de HCl, que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Una suspensión de ácido trans-4-(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)ciclohexanocarboxílico (2,27 g, 8,8 mmoles) y NMM (1,4 mL, 10,12 mmoles) en THF (15 mL) se añadió gota a gota a cloroformato de isopropilo (1,79 g), 17,6 mmoles) por debajo de 10°C. La mezcla que contenía anhídrido trans-4-(((terc-butoxicarbonil)amino)metil)ciclohexanocarboxílico (isopropilcarboxílico) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se utilizó directamente en la siguiente etapa.

La mezcla anterior se enfrió de nuevo a 10°C y se añadió hidróxido de amonio (8,2 mL, 52,8 mmoles). La mezcla final se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla se filtró y la torta del filtro se lavó con agua tres veces y se secó para proporcionar ((trans-4-carbamoilciclohexil)metil)carbamato de terc-butilo (1,7 g, 74%) en forma de un sólido de color blanco.

A una solución de ((trans-4-carbamoilciclohexil)metil)carbamato de terc-butilo (1,7 g, 6,6 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (33 mL) se le añadió DBU (3 g, 19,8 mmoles) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 10 min, se añadió diclorofosfato de etilo (2,2 g, 13,2 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 50 min. La TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 10: 1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en una solución de NH<sub>4</sub>Cl sat. (ac., 150 mL) y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL \* 2). Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante combiflash para proporcionar ((trans-4-cianociclohexil)metil)carbamato de terc-butilo (1,4 g, 88%) en forma de un sólido de color blanco.

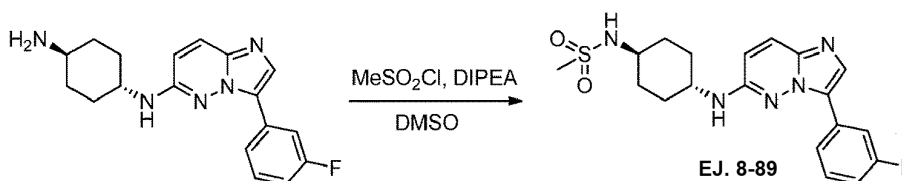
A una solución de ((trans-4-cianociclohexil)metil)carbamato de terc-butilo (1,4 g, 5,86 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) se le añadió TFA (20 mL) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La TLC (PE: EA = 5:1) mostró que la reacción se había completado. La mezcla se concentró a vacío para proporcionar trans-4-(aminometil)ciclohexanocarbonitrilo (2,6 g, 319%) en forma de sales de TFA.

Una mezcla de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (50 mg, 0,189 mmoles), -4-(aminometil)ciclohexanocarbonitrilo (111 mg, 0,25 mmoles) y KF (47 mg, 0,82 mmoles) en DMSO (0,5 mL) se calentó a 130°C durante la noche. La LCMS mostró que casi se había completado la reacción. La mezcla se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar Ej. 8-88 (26 mg, 38%) en forma de un sólido de color blanquecino.

RMN  $^1\text{H}$  (MeOD, 400 MHz):  $\delta$  8,48 (t,  $J = 1,89$  Hz, 1H), 8,19 (ancho, 0,3 H), 7,95 (dt,  $J_1 = 7,90$  Hz,  $J_2 = 1,37$  Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,66 (d,  $J = 9,62$  Hz, 1H), 7,45 (t,  $J = 7,90$  Hz, 1H), 7,35 (dq,  $J_1 = 8,07$  Hz,  $J_2 = 0,86$  Hz, 1H), 6,76 (d,  $J = 9,62$  Hz, 1H), 3,28 (d,  $J = 6,87$  Hz, 2H), 2,60 (tt,  $J_1 = 12,02$  Hz,  $J_2 = 3,61$  Hz, 1H), 2,17-2,13 (m, 2H), 2,05-2,01 (m, 2H), 1,94-1,87 (m, 1H), 1,59 (qd,  $J_1 = 13,06$  Hz,  $J_2 = 3,26$  Hz, 1H), 1,14 (qd,  $J_1 = 12,71$  Hz,  $J_2 = 3,26$  Hz, 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 366,1.

Ej. 8-89, el Ej. 8-90 y el Ej. 8-91 se prepararon utilizando procedimientos similares a los del Ej. 8-80.

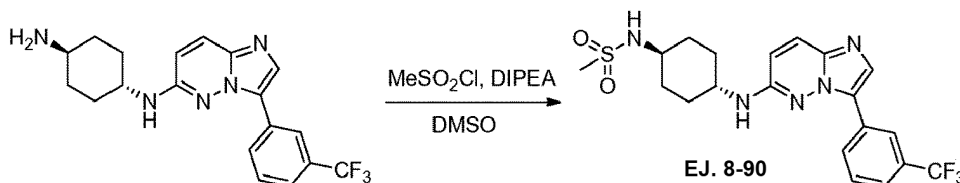
**89. *N*-(trans-4-((3-(3-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)metanosulfonamida (Ej. 8-89).**



A una solución a 0°C de trans-N1-(3-(3-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (180 mg, 0,55 mmoles) y DIPEA (213,2 mg, 1,65 mmoles) en DMSO (2,8 mL) se le añadió gota a gota  $\text{MeSO}_2\text{Cl}$  (63,4 mg, 0,55 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. LCMS mostró que se había convertido la mayor parte de la sustancia de partida. La mezcla se repartió entre salmuera (100 mL) y EtOAc (50 mL) y se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (50 mL  $\times$  3). Los extractos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar Ej. 8-89 (13 mg, 6%) en forma de un sólido de color pardo.

RMN  $^1\text{H}$  (MeOD, 400 MHz):  $\delta$  8,13 (dt,  $J_1 = 10,65$  Hz,  $J_2 = 2,06$  Hz, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,89 (d,  $J = 7,90$  Hz, 1H), 7,80 (d,  $J = 9,62$  Hz, 1H), 7,53 (q,  $J = 7,90$  Hz, 1H), 7,17 (td,  $J_1 = 8,25$  Hz,  $J_2 = 2,40$  Hz, 1H), 6,96 (d,  $J = 9,62$  Hz, 1H), 3,70 (tt,  $J_1 = 10,65$  Hz,  $J_2 = 3,78$  Hz, 1H), 3,32-3,27 (m, 1H), 2,99 (s, 3 H), 2,30 (d,  $J = 12,02$  Hz, 2H), 2,15 (d,  $J = 11,68$  Hz, 2H), 1,58-1,40 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 404,0.

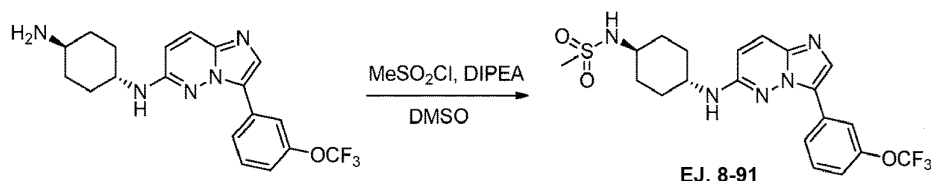
**90. *N*-(trans-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)metanosulfonamida (Ej. 8-90).**



A una solución a 0°C de trans-N1-(3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (130 mg, 0,35 mmoles) y DIPEA (135,7 mg, 1,05 mmoles) en DMSO (1,75 mL) se le añadió gota a gota  $\text{MeSO}_2\text{Cl}$  (47,6 mg, 0,42 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La LCMS mostró que se había convertido la mayor parte de la sustancia de partida. La mezcla se repartió entre salmuera (100 mL) y EtOAc (50 mL) y se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (50 mL  $\times$  3). Los extractos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar el Ej. 8-90 (30 mg, 18,9%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN  $^1\text{H}$  (MeOD, 400 MHz):  $\delta$  8,73 (s, 1H), 8,28 (d,  $J = 6,87$  Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,69-7,67 (m, 3 H), 6,77 (d,  $J = 9,62$  Hz, 1H), 3,74 (tt,  $J_1 = 10,65$  Hz,  $J_2 = 3,78$  Hz, 1H), 3,29-3,26 (m, 1H), 2,99 (s, 3 H), 2,28 (d,  $J = 11,68$  Hz, 2H), 2,12 (d,  $J = 12,35$  Hz, 2H), 1,56-1,39 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 454,7.

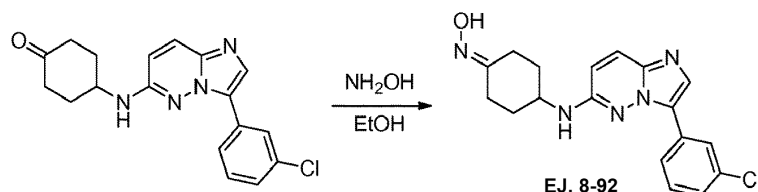
**91. *N*-(trans-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)metanosulfonamida (Ej. 8-91).**



A una solución a 0°C de trans-N1-(3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (180 mg, 0,46 mmoles) y DIPEA (178 mg, 1,38 moles) en DMSO (2,0 mL) se le añadió gota a gota MeSO<sub>2</sub>Cl (53 mg, 0,46 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La LCMS mostró que se había convertido la mayor parte de la sustancia de partida. La mezcla se repartió entre salmuera (100 mL) y EtOAc (50 mL) y se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (50 mL \* 3). Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar Ej. 8-91 (57,1 mg, 26,4%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN <sup>1</sup>H (MeOD, 400 MHz): δ 8,33 (s, 1H), 8,07 (d, *J* = 8,25 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,65 (d, *J* = 9,62 Hz, 1H), 7,56 (t, *J* = 7,56 Hz, 1H), 7,27 (d, *J* = 8,25 Hz, 1H), 6,73 (d, *J* = 9,62 Hz, 1H), 3,73 (tt, *J*<sub>1</sub> = 10,99 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,44 Hz, 1H), 3,32-3,28 (m, 1H), 2,99 (s, 3 H), 2,29 (d, *J* = 12,37 Hz, 2H), 2,14 (d, *J* = 11,68 Hz, 2H), 1,57-1,38 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H<sup>+</sup>): 470,2.

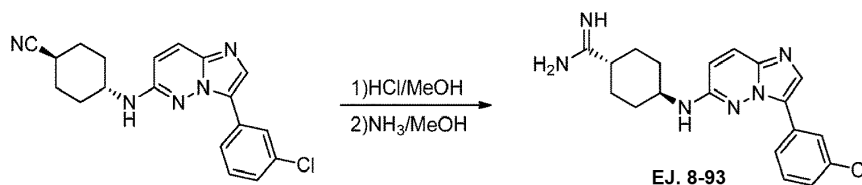
**92. oxima de 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (Ej. 8-92).**



A una mezcla de hidrocloreto de hidroxilamina (15,3 mg, 0,22 mmoles) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (28 mg, 0,26 mmoles) en agua (0,7 mL) se le añadió una solución de 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (50 mg, 0,147 mmoles) en MeOH (0,5 mL) a 0°C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se vertió en agua y se extrajo con EtOAc (50 mL \* 3). Los extractos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. y a continuación mediante SFC para proporcionar el Ej. 8-92 (10 mg, 19%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN <sup>1</sup>H (MeOD, 400 MHz): δ 8,39 (s, 1H), 7,83 (d, *J* = 8,25 Hz, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,54 (d, *J* = 9,96 Hz, 1H), 7,34 (t, *J* = 7,90 Hz, 1H), 7,23 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7,99 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1,12 Hz, 1H), 6,64 (d, *J* = 9,71 Hz, 1H), 3,91 (tt, *J*<sub>1</sub> = 10,31 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,44 Hz, 1H), 3,17-3,15 (m, 1H), 2,40-2,35 (m, 1H), 2,29-2,19 (m, 3 H), 2,07-2,00 (m, 2H), 1,51-1,36 (m, 1H)). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H<sup>+</sup>): 356,1.

**93. trans-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarboximidamida (Ej. 8-93).**

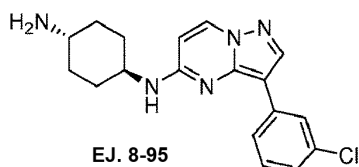


Se disolvió trans-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarboxinitrilo (100 mg, 0,252 mmoles) en HCl/MeOH (4 mL) y HCl/dioxano (4 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró a vacío y el residuo se disolvió en NH<sub>3</sub>/MeOH (4 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. LCMS mostró que la reacción se había completado. La mezcla se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC prep. para proporcionar Ej. 8-93 (3,5 mg, 18,4%) en forma de un sólido de color pardo.

RMN <sup>1</sup>H (MeOD, 400 MHz): δ 8,42 (ancho, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,25 Hz, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,55 (d, *J* = 9,62 Hz, 1H), 7,35 (t, *J* = 8,25 Hz, 1H), 7,23 (d, *J* = 8,25 Hz, 1H), 6,62 (d, *J* = 9,62 Hz, 1H), 3,66 (tt, *J*<sub>1</sub> = 11,68 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,44 Hz, 1H), 2,47 (d, *J*<sub>1</sub> = 13,06 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,44 Hz, 1H), 2,36 (d, *J* = 10,31 Hz, 2H), 1,98 (d, *J* = 12,37 Hz, 2H), 1,72 (qd, *J*<sub>1</sub> = 13,06 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2,40 Hz), 1,32 (qd, *J*<sub>1</sub> = 12,71 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2,75 Hz).

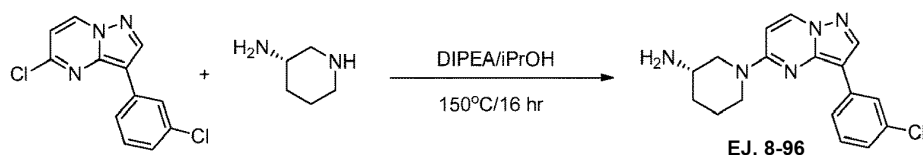
MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 369,1; ( $\text{M}/2 + \text{H}^+$ ): 185,4.

**95. trans-N1-(3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)ciclohexeno-1,4-diamina (Ej. 8-95).**



El Ej. 8-95 se preparó utilizando procedimientos similares a los del Ej. 8-96.

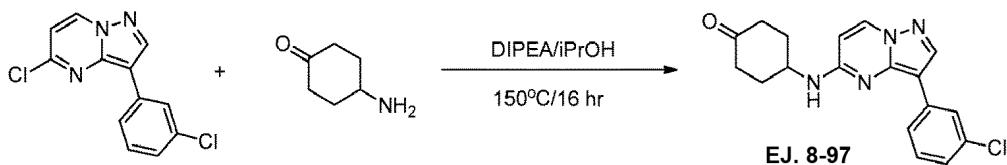
**96. (S)-1-(3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperidin-3-amina (Ej. 8-96)**



Una mezcla de 5-cloro-3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina (100 mg, 0,379 mmoles), (S)-piperidin-3-amina (76 mg, 0,757 mmoles) y DIEA (0,158 mL, 1,515 mmoles) en 2-propanol (3 mL) se irradió a 150°C durante 14 h en un microondas Biotage. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado y se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron a vacío. Después de absorber en celite, el compuesto se purificó mediante cromatografía (12 g de sílice, metanol al 0-15%/DCM) para proporcionar (S)-1-(3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperidin-3-amina (35 mg, 28% de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ): 8,47 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 8,29 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,92 (m, 1H), 7,33 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,13 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,73 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 4,27 (m, 1H), 4,02 (m, 1H), 3,50 (m, 1H), 3,40 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 1,90 (m, 1H), 1,80 (m, 2H), 1,36 (m, 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 328,5.

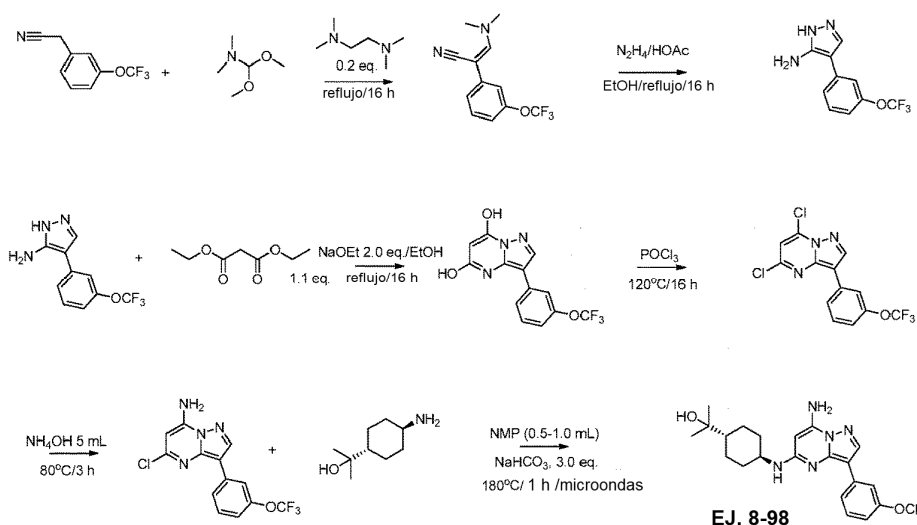
**97. 4-((3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexanona (Ej. 8-97).**



Una mezcla de 5-cloro-3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina (100 mg, 0,379 mmoles), 4-aminociclohexanona (43 mg, 0,379 mmoles) y DIEA (0,158 mL, 1,515 mmoles) en 2-propanol (3 mL) se irradió a 150°C durante 14 h en un microondas Biotage. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado y se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron a vacío. Después de absorber en celite, el compuesto se purificó mediante cromatografía (12 g de sílice, metanol al 0-15%/DCM) para proporcionar 4-((3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexanona (30 mg, rendimiento de 24%) en forma de un sólido de color blanco.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ): 8,35 (s, 1H), 8,26 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 8,21 (d,  $J = 10,4\text{ Hz}$ , 1H), 7,79 (m, 1H), 7,08 (m, 1H), 6,26 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 2,62 (m, 2H), 2,47 (m, 2H), 2,00 (m, 1H), 1,84 (m, 2H), 1,65 (m, 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 341,4.

**98. 4-trans-((7-amino-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-98).**



Una mezcla de 3-trifluorometoxifenilacetonitrilo (2,5 gramos, 12,43 mmoles), DIPEA (0,321 gramos, 2,48 mmoles) y dimetil acetal de dimetilformamida (20 mL) se calentó a reflujo durante 4 h. Al enfriar, la mezcla de reacción se repartió entre EtOAc y una solución acuosa saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se concentró a vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía (acetato de etilo/hexano, 0-10%) sobre gel de sílice (24 gramos) para proporcionar un producto puro (2,3 gramos, 8,98 mmoles, 72% de rendimiento).

#### Síntesis de 4-(3-(trifluorometoxi)fenil)-1H-pirazol-5-amina

Una mezcla de acrilonitrilo (2,0 g, 7,81 mmoles), hidrato de hidrazina (4,53 gramos, 39,0 mmoles) y ácido acético glacial (2,34 gramos, 39,0 mmoles) y etanol (20 mL) se calentó a reflujo durante 16 h. Al enfriar, la mezcla de reacción se diluyó con agua, se extrajo con AcOEt y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se concentró a vacío (1,90 gramos, 7,84 mmoles, rendimiento de 100%). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  7,64 (m, 1H), 7,42 (m, 4 H), 7,06 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 244,3.

Una mezcla de pirazol (2,0 g, 8,22 mmoles), malonato de dietilo (1,32 g, 8,22 mmoles) y 20 mL de EtOH seco se trataron gota a gota con etóxido de sodio (1,12 g, 16,45 mmoles) y, una vez completada la adición, la reacción se calentó a reflujo durante 16 h. Al enfriar, la mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se añadió a hielo, se neutralizó con ácido acético y el precipitado resultante se filtró, se lavó con agua y se secó para proporcionar el producto 3-(3-trifluorometoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5,7-diol (1,6 g, 5,14 mmoles, rendimiento de 63%).

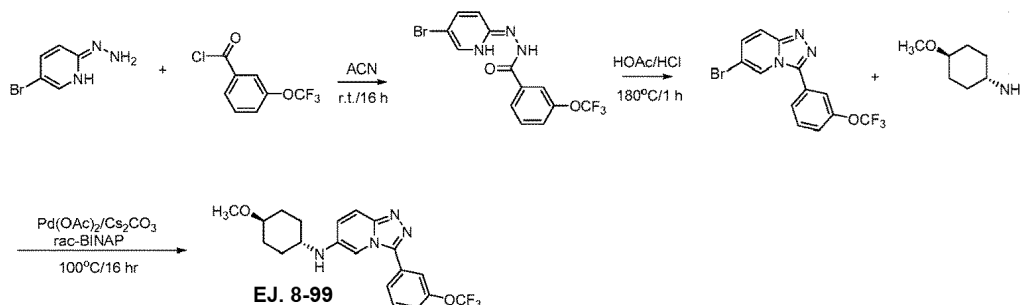
Una mezcla de 3-(3-trifluorometoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5,7-diol (1,0 g, 3,21 mmoles) en 20 mL de oxidocloruro de fosforilo se calentó a reflujo durante 16 h. Al enfriar, la mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se extrajo con éter etílico tres veces. La solución de éter combinada se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  y se secó. Después de eliminar el disolvente, se obtuvo el producto puro 5,7-dicloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina (0,8 g, 2,30 mmoles, rendimiento de 72%).

A un reactor de microondas cargado con el producto 5,7-dicloro (1,0 g, 2,87 mmoles) y una barra de agitación se le añadieron 5 mL de  $\text{NH}_3$  acuoso saturado. El microondas se selló y se calentó a  $80^\circ\text{C}$  durante 4 h. Después de enfriar y extraer con acetato de etilo, la fase orgánica se secó y se concentró. La cromatografía proporcionó un producto puro 5-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-7-amina (0,15 g, 0,456 mmoles, rendimiento de 16%).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{Cl}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,32 (s, 1H), 7,95 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,83 (s, 1H), 7,43 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,07 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 6,16 (s, 1H), 5,78 (ancho, 2H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 329,5.

A una solución de 5-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-7-amina (150 mg, 0,46 mmoles) y 4-*trans*-(aminociclohexil)propan-2-ol (144 mg, 0,913 mmoles) en NMP (2,0 mL) se añadió  $\text{NaHCO}_3$  (43 mg, 0,55 mmoles), la mezcla se agitó a  $180^\circ\text{C}$  durante 60 min con irradiación de microondas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar 4-*trans*-(7-amino-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexil)propan-2-ol (30 mg, 0,067 mmoles, 15%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,40 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 7,78 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,35 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,94 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 5,38 (s, 1H), 3,84 (m, 1H), 3,41 (m, 1H), 2,20 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,26 (m, 4 H), 1,16 (s, 6 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 450,6.

**99. 4-(trans-metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (Ej. 8-99).****5 Síntesis de N'-(5-bromopiridin-2(1H)-iliden)-3-(trifluorometoxi)benzohidrazida.**

A la mezcla de hidrazinpiridina (1,4 gramos, 7,45 mmoles) en ACN (15 mL) se le añadió cloruro de ácido (1,672 gramos, 7,45 mmoles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de agitar durante la noche, la filtración obtuvo el sólido de color blanco puro y se secó para la siguiente etapa directamente (2,60 gramos, 6,91 mmoles, 93% de rendimiento).

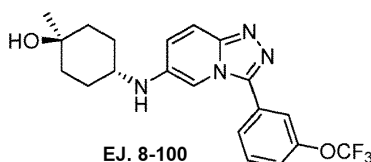
**Síntesis de 6-bromo-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridina.**

A una solución de N'-(5-bromopiridin-2(1H)-iliden)-3-(trifluorometoxi)benzohidrazida (1,0 gramos, 2,66 mmoles) se le añadieron 10 mL de AcOH y 0,5 mL de HCl 4 M en dioxano y la mezcla se calentó a 180°C durante 1 h. La TLC indicó que la reacción se procesó casi por completo. Después de eliminar el disolvente, el residuo se disolvió en DCM y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado. Se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para la purificación mediante cromatografía (acetato de etilo/hexano, 0-40%). Se obtuvo un sólido de color blanco (0,40 gramos, 1,117 mmoles, rendimiento de 42%) en forma de un producto puro.

RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,67 (m, 1H), 7,90 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,79 (m, 1H), 7,77 (m, 1H), 7,60 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,56 (d, J = 9,6 Hz, 1H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 358,3.

A una solución de triazolopiridina (0,15 g, 0,419 mmoles) y 4-metoxiciclohexanamina (0,5 mL) en tolueno 0,5 mL se le añadieron carbonato de cesio (0,273 g, 0,838 mmoles), rac-BINAP (78 mg, 0,127 mmoles) y Pd(OAc)<sub>2</sub> (19 mg, 0,084 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante 16 h con irradiación de microondas. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando cromatografía combiflash (columna de 12 g), eluyente: metanol al 0-10%/DCM y se obtuvo el producto 4-(metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (40 mg, 0,098 mmoles, rendimiento de 24%).

RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 7,85 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,74 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 7,57 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,16 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 3,24 (m, 1H), 3,12 (m, 1H), 2,10 (m, 4 H), 1,31 (m, 4 H). MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 407,5.

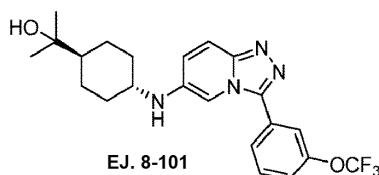
**100. 1-Metil-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-100).**

A una solución de triazolopiridina (0,20 g, 0,558 mmoles) y 4-amino-1-metilciclohexanol (0,216 g, 1,675 mmoles) en dioxano 0,5 mL se le añadieron carbonato de cesio (0,546 g, 1,675 mmoles), rac-BINAP (104 mg, 0,168 mmoles) y Pd(OAc)<sub>2</sub> (25 mg, 0,112 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante 16 h con irradiación de microondas. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando cromatografía combiflash (columna de 12 g), eluyente: metanol al 0-10%/DCM y se obtuvo el producto 1-Metil-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)ciclohexanol (23 mg, 0,057 mmoles, rendimiento de 10%).

RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 7,85 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,76 (m, 2H), 7,74 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 9,2 Hz,

1H), 7,35 (s, 1H), 7,21 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H), 3,23 (m, 1H), 1,98 (m, 2H), 1,70 (m, 2H), 1,49 (m, 4 H), 1,24 (s, 6 H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 407,5.

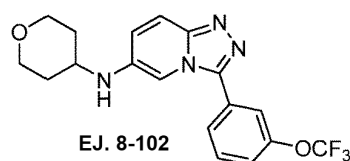
**101. 4-(((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-101)**



A una solución de triazolopiridina (0,10 g, 0,279 mmoles) y 4-aminociclohexilpropanol (0,220 g, 1,396 mmoles) en 0,5 mL de dioxano se le añadieron carbonato de cesio (0,182 g, 0,558 mmoles), *rac*-BINAP (52 mg, 0,084 mmoles) y  $Pd(OAc)_2$  (13 mg, 0,056 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante 16 h con irradiación de microondas. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando HPLC preparativa y se obtuvo el producto 4-(((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)ciclohexil)propan-2-ol.

RMN  $H^1$  ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  7,83 (m, 1H), 7,72 (m, 2H), 7,70 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,48 (m, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,19 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 3,26 (m, 1H), 2,25 (m, 2H), 1,93 (m, 2H), 1,29 (m, 4 H), 1,17 (s, 6 H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 435,6.

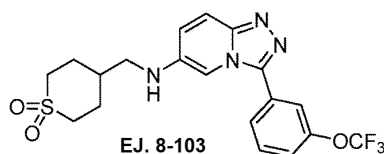
**102. N-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (Ej. 8-102).**



A una solución de triazolopiridina (0,075 g, 0,209 mmoles) y tetrahydro-2H-piran-4-amina (0,5 mL) en tolueno 0,5 mL se le añadieron carbonato de cesio (0,136 g, 0,419 mmoles), *rac*-BINAP (36 mg, 0,063 mmoles) y  $Pd(OAc)_2$  (9,4 mg, 0,042 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante 16 h con irradiación de microondas. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando cromatografía combiflash (columna de 12 g), eluyente: metanol al 0-10%/DCM y se obtuvo el producto N-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (30 mg, 0,079 mmoles, 38% de rendimiento).

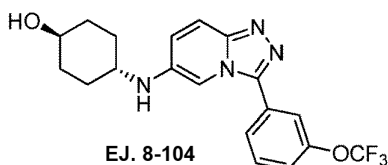
RMN  $H^1$  ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  7,84 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,73 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,59 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H), 7,50 (m, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,18 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 3,94 (m, 2H), 3,47 (m, 2H), 3,38 (m, 1H), 2,00 (m, 2H), 1,52 (m, 2H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 379,5.

**103. 1,1-Dióxido de 4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)metil)tetrahydro-2H-tiopirano (Ej. 8-103).**



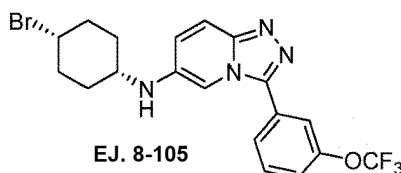
A una solución de triazolopiridina (0,20 g, 0,558 mmoles) y 4-(aminometil)tetrahydro-2H-tiopirano-1,1-dioxano (0,220 g, 1,396 mmoles) en 0,5 mL de dioxano se le añadieron carbonato de cesio (0,546 g, 1,765 mmoles), *rac*-BINAP (104 mg, 0,168 mmoles) y  $Pd(OAc)_2$  (25 mg, 0,112 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante 16 h con irradiación de microondas. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando HPLC preparativa y se obtuvo el producto 1,1-dióxido de 4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)metil)tetrahydro-2H-tiopirano.

RMN  $H^1$  ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  7,92 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,79 (m, 2H), 7,59 (m, 2H), 7,49 (s, 1H), 3,09 (m, 6 H), 2,20 (m, 2H), 1,95 (m, 1H), 1,83 (m, 2H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 441,4.

**104. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-104).**

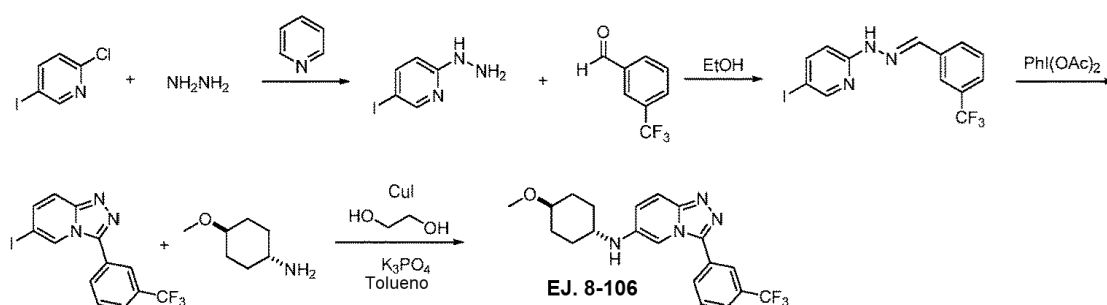
A una solución de 4-(metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (0,030 gramos, 0,074 mmoles) en 1,0 mL de DCM se le añadieron 0,2 mL de TMSI. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC indicó una reacción bastante limpia. Después de eliminar completamente el disolvente, el residuo se sofocó con una solución acuosa saturada  $\text{NaHCO}_3$ . La cromatografía en gel de sílice obtuvo un producto puro (0,020 gramos, 0,051 mmoles, rendimiento de 69%).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  7,95 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,87 (m, 3 H), 7,73 (d,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 1H), 7,65 (d,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 7,50 (s, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,21 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 1,98 (m, 2H), 1,37 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 393,5.

**105. 4-(cis-Bromociclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (Ej. 8-105).**

A una solución de 4-(trans-metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (0,020 gramos, 0,049 mmoles) en DCM 1,0 mL se le añadieron 0,25 mL de TMSBr enfriando con agua helada. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC indicó una reacción bastante limpia. Después de eliminar completamente el disolvente, el residuo se sofocó con una solución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . La cromatografía en gel de sílice obtuvo un producto puro (0,009 gramos, 0,020 mmoles, rendimiento de 40%).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  7,84 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,77 (s, 1H), 7,73 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,58 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,50 (m, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,21 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 4,55 (m, 1H), 3,22 (m, 1H), 2,12 (m, 2H), 1,99 (m, 2H), 1,86 (m, 4 H). MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 455,4.

**106. 4-(trans-metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (Ej. 8-106).****Síntesis de 2-hidrazinil-5-yodopiridina.**

La solución de 2-cloro-5-yodopiridina (2,0 g, 20,9 mmoles), hidrazina anhidra (3,3 mL, 105 mmoles) en piridina (40 mL) se calentó a reflujo durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. Al residuo se le añadió una solución de hidróxido de sodio 1 N y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (sulfato de sodio) y se concentró a presión reducida. Al residuo se le añadieron hexanos y el precipitado se recogió y se secó a vacío para proporcionar el compuesto del título (1,35 g, rendimiento de 69%) en forma de cristales blanquecinos. EM ( $\text{EN}^+$ ,  $m/z$ ): 236,2 ( $\text{M}^++1$ ).

**Síntesis de 5-yodo-2-(2-(3-(trifluorometil)benciliden)hidrazinil)piridina.**

A una suspensión de 5-yodo-2-hidrazinopiridina (1,32 g, 5,62 mmoles) en EtOH (90 mL) se le añadió 3-(trifluorometil)-

benzaldehído (0,98 g, 5,62 mmoles). La mezcla se calentó a reflujo durante 5 h bajo argón. Después de enfriar a temperatura ambiente, el precipitado resultante se recogió mediante filtración y se lavó con EtOH. El producto bruto se recrystalizó en DCM y hexano para producir el compuesto del título (1,80 g, rendimiento de 82%) en forma de un sólido de color blanco. EM (EN<sup>+</sup>, m/z): 392,3 (M<sup>+</sup>+1).

#### **Síntesis de 6-yodo-3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridina.**

A una solución de 5-yodo-2-(2-(3-(trifluorometil)benciliden)hidrazinil)piridina (1,60 g, 4,09 mmoles) en DCM (10 mL)/EtOH (1 mL), se le añadió PhI (OAc)<sub>2</sub> (1,845 g, 5,73 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h, a continuación, se eliminó el disolvente a vacío. El residuo se disolvió en DCM y se purificó sobre cromatografía en columna de SiO<sub>2</sub> con MeOH al 15%/EA al 80% en hexano para producir el compuesto del título (1,21 g, 76% de rendimiento) en forma de un sólido de color blanquecino. EM (EN<sup>+</sup>, m/z): 390,3 (M<sup>+</sup>+1).

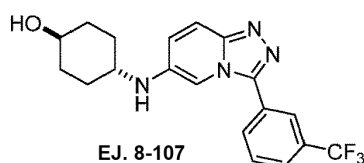
#### **Síntesis de N-(trans-4-metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina.**

A una suspensión de 6-yodo-3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridina (0,078 g, 0,2 mmoles) y trans-4-metoxiciclohexanamina (0,078 g, 0,6 mmoles) en tolueno (0,5 mL) se le añadieron CuI (0,023 g, 0,12 mmoles), etano-1,2-diol (0,025 g, 0,4 mmoles) y K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (0,085 g, 0,4 mmoles). Se lavó abundantemente con argón y se calentó a 90°C durante la noche. La mezcla se absorbió sobre SiO<sub>2</sub> y el pico principal se lavó con MeOH al 20%/DCM/NH<sub>3</sub> al 0,2% al 60%-100% en hexano. A continuación, el producto bruto se combinó y se purificó de nuevo en cromatografía en columna C18 utilizando ACN al 20-40% en agua para proporcionar los compuestos del título.

RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>/CDCl<sub>3</sub>): 8,00 (m, 2H), 7,66 (m, 3 H), 7,38 (m, 1H), 6,96 (m, 1H), 4,58 (ancho, 1H), 3,22 (s, 3 H), 3,08 (m, 1H), 3,07 (m, 1H), 2,00 (m, 2H), 1,18 (m, 4 H).

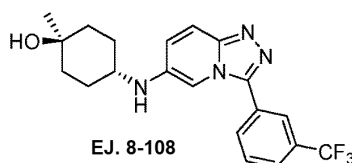
RMN F<sup>19</sup> (376 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>/CDCl<sub>3</sub>): -57,9. EM (EN<sup>+</sup>, m/z): 391,5 (M<sup>+</sup>+1).

#### **107. 4-((3-(3-(Trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-107).**



RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): 8,23 (m, 2H), 7,87 (m, 2H), 7,59 (m, 1H), 7,58 (m, 1H), 7,12 (dd, J = 10,0, 2,0 Hz, 1H), 5,09 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 3,57 (m, 1H), 3,30 (m, 1H), 2,16 (m, 4 H), 1,30 (m, 4 H). RMN F<sup>19</sup> (376 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): -63,4. EM (EN<sup>+</sup>, m/z): 377,5 (M<sup>+</sup>+1).

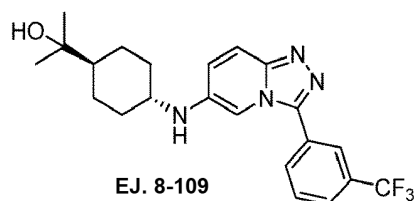
#### **108. 1-Metil-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (Ej. 8-108).**



A una suspensión de 6-bromo-3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridina (0,190 g, 0,56 mmoles) y trans-4-amino-1-metilciclohexanol (0,072 g, 0,56 mmoles) en dioxano (1,5 mL) se le añadieron rac-Binap (0,104 g, 0,17 mmoles), Pd(OAc)<sub>2</sub> (0,025 g, 0,11 mmoles) y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,362 g, 0,111 mmoles). Se lavó abundantemente con argón y a continuación se calentó a 100°C durante la noche. La mezcla se absorbió sobre SiO<sub>2</sub> y se purificó mediante cromatografía en columna sobre SiO<sub>2</sub> con MeOH al 15%/EA al 40-100% en hexano. Este producto se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna C18 utilizando ACN al 20-40% en agua.

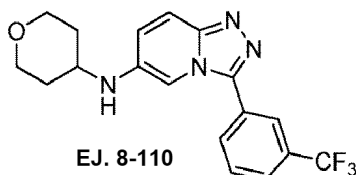
RMN H<sup>1</sup> (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): 8,23 (m, 2H), 7,88 (m, 2H), 7,94 (t, J = 10,0 Hz, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,18 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 3,39 (m, 1H), 2,07 (m, 2H), 1,70 (m, 2H), 1,55 (m, 4 H), 1,21 (s, 3 H). EM (EN<sup>+</sup>, m/z): 391,5 (M<sup>+</sup>+1).

#### **109. 4-((3-(3-(Trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pirin-6-a)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (Ej. 8-109)**



RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ): 8,28 (m, 2H), 7,99 (m, 2H), 7,94 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,53 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H), 3,23 (m, 1H), 2,21 (m, 2H), 1,93 (m, 2H), 1,31 (m, 2H), 1,25 (m, 2H), 1,17 (s, 6 H). EM (EN+,  $m/z$ ): 391,5 ( $M^+ + 1$ ).

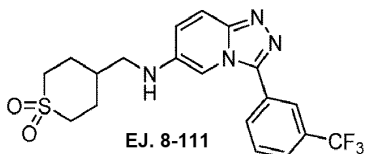
**110. N-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (Ej. 8-110).**



A una suspensión de 6-yodo-3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridina (0,101 g, 0,26 mmoles) y tetrahydro-2H-piran-4-amina (0,131 g, 1,30 mmoles) en tolueno (1 mL) se le añadió rac-Binap (0,049 g, 0,078 mmoles),  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (0,012 g, 0,052 mmoles) y  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (0,169 g, 0,52 mmoles). Se lavó abundantemente con argón y a continuación se calentó a  $110^\circ\text{C}$  durante la noche. Se absorbió sobre  $\text{SiO}_2$  y se purificó mediante cromatografía en columna sobre  $\text{SiO}_2$  con MeOH al 15%/EA al 60% en hexano. Este producto se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna C18 utilizando ACN al 20-40% en agua.

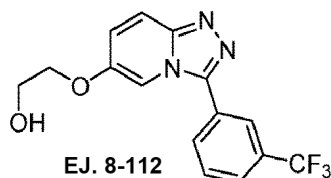
RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ): 8,24 (m, 2H), 7,85 (m, 2H), 7,63 (m, 1H), 7,60 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H), 7,15 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H), 5,21 (ancho, 1H), 3,88 (m, 2H), 3,50 (m, 1H), 3,43 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,49 (m, 2H). RMN  $^{19}\text{F}$  (376 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ): -63,4. EM (EN+,  $m/z$ ): 363,5 ( $M^+ + 1$ ).

**111. 1,1-Dióxido de 4-(((3-L3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)metil)tetrahydro-2H-tiopirano (Ej. 8-111).**



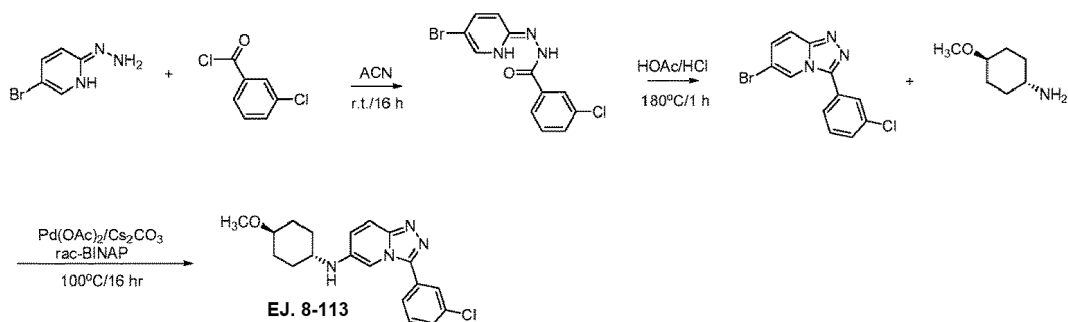
RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ): 8,27 (m, 2H), 7,94 (m, 1H), 7,90 (m, 1H), 7,84 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,39 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 3,18 (d,  $J = 6,8$  Hz, 2H), 3,09 (m, 2H), 3,01 (m, 2H), 2,25 (m, 2H), 2,15 (m, 1H), 1,85 (m, 2H). EM (EN+,  $m/z$ ): 425,5 ( $M^+ + 1$ ).

**112. 2-((3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)oxi)etanol (Ej. 8-112).**



RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ): 8,20 (m, 2H), 8,00 (m, 1H), 7,83 (m, 2H), 7,74 (m, 1H), 7,25 (m, 1H), 4,15 (m, 2H), 3,97 (m, 2H). RMN  $^{19}\text{F}$  (376 MHz,  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ ): -63,1. EM (EN+,  $m/z$ ): 324,4 ( $M^+ + 1$ ).

**113. 4-(trans-metoxiciclohexil)-3-(3-clorofenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (Ej. 8-113).**



### Síntesis de *N'*-(5-bromopiridin-2 (1H)-iliden)-3-clorobenzohidrazida.

- 5 A la mezcla de hidrazinpiridina (2,0 gramos, 10,64 mmoles) en ACN (15 mL) se le añadió cloruro de ácido (1,86 gramos, 10,64 mmoles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de agitar durante la noche, la filtración obtuvo el sólido de color blanco puro y se secó para la siguiente etapa directamente (3,0 gramos, 9,19 mmoles, rendimiento de 86%). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 326,3.

### 10 Síntesis de 6-bromo-3-(3-clorofenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridina.

- A una solución de *N'*-(5-bromopiridin-2 (1H)-iliden)-3-clorobenzohidrazida (3,0 gramos, 9,19 mmoles) se le añadieron 10 mL de AcOH y 0,5 mL de HCl 4 M en dioxano y la mezcla se calentó a 180°C durante 1 h. La TLC indicó que la reacción se procesó casi por completo. Después de eliminar el disolvente, el residuo se disolvió en DCM y se lavó con  $NaHCO_3$  saturado. Se secó con  $Na_2SO_4$  y se concentró para la purificación mediante cromatografía (acetato de etilo/hexano, 0-40%). Se obtuvo un sólido de color blanco (0,30 gramos, 0,972 mmoles, 11% de rendimiento) en forma de un producto puro.

- 20 RMN  $H^1$  ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  8,65 (m, 1H), 7,85 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,77 (m, 1H), 7,75 (m, 1H), 7,58 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 7,56 (d,  $J = 9,2$  Hz, 1H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 308,3.

- 25 A una solución de triazolopiridina (0,13 g, 0,419 mmoles) y 4-metoxiciclohexanamina (0,5 mL) en tolueno 0,5 mL se le añadieron carbonato de cesio (0,273 g, 0,838 mmoles), *rac*-BINAP (78 mg, 0,127 mmoles) y  $Pd(OAc)_2$  (19 mg, 0,084 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante 16 h con irradiación de microondas. La solución de color pardo oscuro resultante se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente utilizando cromatografía combiflash (columna de 12 g), eluyente: metanol al 0-10%/DCM y se obtuvo el producto 4-(metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (50 mg, 0,140 mmoles, 33% de rendimiento).

- 30 RMN  $H^1$  ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  7,83 (s, 1H), 7,75 (d,  $J = 6,8$  Hz, 1H), 7,57 (m, 3 H), 7,35 (s, 1H), 7,14 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H), 3,20 (m, 1H), 3,12 (m, 1H), 2,07 (m, 4 H), 1,29 (m, 4 H). MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 357,5.

### Ejemplo 2

### 35 Ensayos de la actividad quinasa PIM

#### 1. Ensayo de inhibición de la quinasa Pim-1

- Una forma ilustrativa en la que se puede determinar la actividad de la quinasa Pim-1 es cuantificando la cantidad de ATP que permanece en solución después de una reacción de la quinasa Pim-1 in vitro. El kit de ensayo Kinase-Glo (Promega, Inc., Madison, WI) lo permite. La cantidad de ATP que queda en la solución después de la reacción de la quinasa sirve como sustrato para que la luciferasa catalice la luciferina a oxiluciferina más un fotón de luz. Por tanto, la señal luminiscente leída por el Luminoskan Ascent Instrument (Thermo Electron Corp., Milford, MA) se correlaciona con la cantidad de ATP presente después de la reacción de la quinasa y se correlaciona inversamente con la cantidad de actividad quinasa. Este ensayo es eficaz para determinar los valores de  $CI_{50}$  de los inhibidores de quinasa contra la quinasa Pim-1. Estos ensayos se preparan en volúmenes duplicados de 50  $\mu$ l en placas de color blanco de 96 pocillos de fondo plano. Los inhibidores se añaden a la solución de tampón quinasa 1X, ATP 10  $\mu$ M, sustrato específico de Pim-1 100  $\mu$ M, 50 ng de enzima Pim-1 activa y agua en diluciones en serie que van desde concentraciones micromolares a nanomolares. Esta solución se incubó a 30 grados Celsius a 360 rpm durante dos horas. Después de la incubación, se añaden 50  $\mu$ l de reactivo Kinase-Glo a cada pocillo, incluidos todos los pocillos de control positivo y negativo, y se incuban a temperatura ambiente durante 15 minutos. A continuación, el instrumento Luminoskan Ascent lee la placa y los resultados se muestran con la versión 2.6 del soporte lógico Ascent. A continuación, se pueden calcular los valores de  $CI_{50}$ , para cada inhibidor probado.

Alternativamente, la actividad quinasa de Pim-1 se puede determinar cuantificando la fosforilación de un sustrato de Pim-1 conocido en otro ensayo in vitro. El kit de ensayo de proteína quinasa Z-Lyte (Invitrogen, Madison WI.) lo permite mediante el procedimiento de transferencia de energía por resonancia fluorescente (FRET). Brevemente, un sustrato Pim-1 conocido (sustrato de serina-treonina de Invitrogen), que tiene dos fluoróforos en extremos opuestos (cumarina y fluoresceína) se incuba con la enzima Pim-1 y un inhibidor potencial. A continuación, se detiene la reacción de la quinasa y se añade un reactivo de desarrollo. Este reactivo, una proteasa, escindiría solo el sustrato no fosforilado, separando los dos fluoróforos y reduciendo la cantidad de FRET que se puede producir entre ellos. FRET se puede medir con un espectrofotómetro, como el Gemini EM (Molecular Devices). Una reducción de FRET es indicativa de un inhibidor activo.

Alternativamente, las determinaciones de  $CI_{50}$  y  $K_i$  de la quinasa PIM se determinaron en Reaction Biology (Malvern, PA). Para la determinación de  $K_i$ , se incubaron PIM-1 con 10 dosis, diluciones en serie 1:3 del compuesto comenzando con 10  $\mu M$  utilizando 5 concentraciones diferentes de ATP (ATP 25, 50, 100, 250 y 500  $\mu M$  para PIM-1; ATP 5, 10, 20, 50 y 100  $\mu M$  para PIM-2 y PIM-3), y la actividad se midió a los 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 minutos. Los datos se analizaron en un diagrama de Michaelis-Menten para determinar los valores aparentes de  $K_m$  y  $K_i$  utilizando el soporte lógico GraFit utilizando una ecuación de inhibición mixta para un ajuste global.

## 2. Ensayos de inhibidores de quinasa Pim-1 basados en células:

Se pueden utilizar ensayos basados en cultivos celulares para evaluar la capacidad de los compuestos de la invención para inhibir una o más actividades celulares, tales como el crecimiento y/o la supervivencia de las células cancerosas. Se pueden obtener numerosas líneas de células cancerosas de la American Type Culture Collection (ATCC) y otras fuentes. En resumen, las células se siembran en placas de color blanco opacas tratadas para cultivo de tejidos de 96 pocillos (Thermo Electron, Vantaa, Finlandia), a entre 5000 y 10000 células por pocillo, dependiendo de la velocidad de proliferación celular, en 100  $\mu l$  de medio de crecimiento apropiado (determinado por la ATCC). A continuación, las células se exponen a la concentración apropiada de fármaco o una cantidad igual de DMSO (diluyente de fármaco) y se dejan crecer en su presencia durante 96 horas. Después de esto, se añaden a cada pocillo 100  $\mu l$  de reactivo Cell-Titer-Glo (Promega, Inc., Madison, WI). A continuación, las placas se agitan durante 2 minutos a temperatura ambiente para permitir la lisis celular y se incuban durante 10 minutos a temperatura ambiente para estabilizar la señal luminiscente. Al igual que el reactivo de ensayo Kinase-Glo de Promega, este reactivo contiene tanto la enzima luciferasa como su sustrato luciferina. La luciferasa, activada por ATP en el producto lisado celular, cataliza la conversión de luciferina en oxiluciferina, una reacción que produce luz. La cantidad de luz producida es proporcional a la cantidad de ATP en el producto lisado celular, que a su vez es proporcional al número de células y proporciona un índice de proliferación celular.

Para detectar la inhibición específica de la enzima Pim-1 en cultivo celular, también se realizará un ensayo de transferencia Western. Para ello, las células que han sido tratadas con un potencial inhibidor de Pim-1 se lisan con un tampón específico para el aislamiento y conservación de proteínas (Nonidet P-40 al 1%, NaCl 150 mM, Tris 50 mM de pH 8,0, EDTA 5 mM, Protease Inhibitor Cocktail III [Calbiochem], NaF 100 mM, ortovanadato de sodio 100 mM). La concentración de proteína en estos productos lisados se cuantifica a continuación utilizando el kit de ensayo de proteínas BCA (Pierce). Cantidades conocidas de proteína, p. ej. 10  $\mu g$  se cargan en geles de poli(acrilamida)-SDS al 12% y se someten a SDS-PAGE desnaturante y reductor. Las proteínas sometidas a electroforesis se transfieren a una membrana de nitrocelulosa, que a continuación se sondea con anticuerpos contra p-21 y fosfo (Thr 145) p-21. Dado que la treonina-145 de la proteína p-21 es un sustrato para Pim-1, la medición de la cantidad de fosforilación en este sitio en las células tratadas debería proporcionar un medio para evaluar la eficacia de nuestros inhibidores de Pim-1.

## 3. Datos de actividad específica de la quinasa Pim-1:

Utilizando procedimientos esencialmente como los descritos anteriormente, se ensayaron compuestos ilustrativos para determinar la inhibición de la actividad quinasa Pim-1.  $IC_{50}$  Los valores se determinaron para compuestos ilustrativos contra la quinasa Pim-1, utilizando el ensayo Promega Quinasa-Glo, cuyos resultados se resumen en las Tablas IV y V a continuación.

Tabla IV.  $CI_{50}$  de Compuesto sobre Pim1.

Ej.	$CI_{50}$ (nM)	Ej.	$CI_{50}$ (nM)
8-1	13	8-2	18
8-3	30	8-4	7
8-5	36	8-6	30
8-7	10	8-8	4

Ej.	CI <sub>50</sub> (nM)	Ej.	CI <sub>50</sub> (nM)
8-9	13	8-10	9
8-11	8	8-12	81
8-13	58	8-14	1190
8-15	2830	8-16	503
8-17	173	8-18	53
8-19	13	8-20	16
8-21	46	8-22	41
8-23	1630	8-24	34
8-25	30	8-26	28
8-27	23	8-28	553
8-29	5	8-30	103
8-31	1	8-32	115
8-33	33	8-34	241
8-35	7	8-36	145
8-37	4	8-38	18
8-39	48	8-40	200
8-41	226	8-42	1970
8-43	523	8-44	153
8-45	16	8-46	27
8-47	204	8-48	197
8-49	378	8-50	633
8-51	148	8-52	5
8-53	132	8-54	25
8-55	54	8-56	17
8-57	66	8-58	149
8-59	111	8-60	N/A
8-61	237	8-62	378
8-63	23	8-64	68
8-65	186	8-66	164
8-67	45	8-68	4
8-69	24	8-70	8
8-71	12	8-72	58
8-73	17	8-75	56
8-76	687	8-77	14
8-78	206	8-79	2
8-80	52	8-82	34
8-83	89	8-84	239
8-85	19	8-86	14
8-88	69	8-92	38

Ej.	CI <sub>50</sub> (nM)	Ej.	CI <sub>50</sub> (nM)
8-95	24	8-96	94
8-97	168	8-98	470

Tabla V. CI<sub>50</sub> de Compuesto sobre Pim1.

Ej.	CI <sub>50</sub> (nM)	Ej.	CI <sub>50</sub> (nM)
8-99	83	8-100	1644
8-101	488	8-102	3250
8-103	3805	8-104	684
8-105	2490	8-106	518
8-107	3948	8-108	70
8-109	3870	8-110	3165
8-111	> 30 µM	8-112	> 30 µM
8-113	722		

**Ejemplo 3**

5

**Ensayos de actividad hERG**

Se probaron compuestos representativos para determinar la actividad de hERG utilizando el ensayo Fast Patch disponible en WuXiApptec (Shanghai China). La actividad hERG para compuestos representativos se proporciona en la Tabla VI a continuación.

10

Tabla VI. Actividad hERG de Compuestos Representativos

Compuesto	CI <sub>50</sub> de hERG (µM)
8-37	>30
8-35	30
8-64	>30
8-39	>30
8-31	>30
8-30	12
8-29	10
8-10	>30
8-9	26
8-11	>30
8-63	>30
8-54	>30
8-56	>30
8-46	>30
8-1	16
8-13	10

**Ejemplo 4**

15

**Ensayos celulares**

La potencia celular de un compuesto representativo (8-31) se determinó midiendo su efecto sobre la fosforilación

inicial de BAD (antagonista BCL-2 de la muerte celular), un sustrato conocido de PIM, en la serina 112 por expresión en exceso de PIM-1 y BAD en células HEK-293. La expresión en exceso del mutante PIM-1 catalíticamente inactivo (K67M) no aumentó la fosforilación de BAD en comparación con la transfección de BAD sola (datos no mostrados), y se utilizó como control negativo para restar la fosforilación de BAD por quinasas celulares distintas de PIM-1.

El compuesto 8-31 demostró una potente actividad celular específica de PIM-1 en el sistema de expresión en exceso de PIM-1/BAD con una  $CE_{50}$  promedio = 67 nM (Fig. 1).

## Ejemplo 5

### Xenoinjertos tumorales

En un esfuerzo por demostrar la tumorigenicidad de las quinasas PIM y para evaluar compuestos representativos (p. ej., Ej. 8-31) en xenoinjertos tumorales dirigidos por PIM, se desarrollaron líneas celulares de expresión en exceso de PIM-1 y PIM-2. La línea celular de cáncer de próstata 22RV1 diseñada para expresar en exceso PIM-1 como se describió anteriormente (Mumenthaler y col., Mol. Cancer Ther., 2009, 8 (10) 2882-93) fue evaluada *in vivo*. Se estableció un segundo modelo diseñado para expresar en exceso PIM-2 utilizando la línea celular de fibroblastos de ratón NIH-3T3. Ambos fondos celulares mostraron una mayor expresión de la quinasa PIM-1 o PIM-2 por transferencia Western y mejoraron significativamente la tasa de crecimiento observada en cultivo celular (Fig. 2). La expresión en exceso de PIM-1 en células 22RV1 mejoró significativamente el crecimiento del tumor subcutáneo en comparación con la línea celular parental cuando se cultivó como xenoinjertos de ratón (22RV1/PIM-1 + vehículo frente a 22RV1 + vehículo), y el crecimiento se redujo significativamente mediante la administración del compuesto 8-31 (22RV1/PIM-1 + vehículo frente a 22RV1/PIM-1 + compuesto 8-31) (Fig. 3A). La expresión en exceso de PIM-1 demostró un efecto similar sobre el crecimiento del xenoinjerto en presencia o ausencia de tratamiento con vehículo (datos no mostrados). No se observaron cambios significativos en el peso corporal en ratones de ningún grupo. De manera similar, la expresión en exceso de PIM-2 en células NIH-3T3 indujo significativamente el crecimiento tumoral subcutáneo en comparación con la línea celular parental cuando se cultivó como xenoinjertos de ratón (NIH-3T3/PIM-2 + vehículo frente a NIH-3T3 + vehículo), y el crecimiento fue inhibido significativamente por el compuesto 8-31 (NIH-3T3/PIM-2 + vehículo frente a NIH-3T3/PIM-2 + compuesto 8-31) (Fig. 3B). Asimismo, la expresión en exceso de PIM-2 demostró un efecto similar sobre el crecimiento del xenoinjerto con o sin la administración de vehículo (datos no mostrados). No se observaron cambios significativos en el peso corporal en ningún grupo.

## Ejemplo 6

### Modelos traduccionales

También se exploraron modelos traduccionales para la dependencia de PIM utilizando la modificación genética para reducir la expresión de un gen mediante ARNhc. La línea celular de carcinoma de vejiga epitelial urinaria UM-UC-3 se utilizó para verificar y validar la dependencia de PIM-1 para el crecimiento. El ARNm de PIM-1 se redujo significativamente utilizando dos ARNhc independientes dirigidos a PIM-1 en comparación con el control de ARNhc no diana (Fig. 4A). Adicionalmente, la proteína PIM-1 se redujo utilizando ARNhc de PIM-1 en comparación con el ARNhc no diana, y el crecimiento de colonias 2D se redujo notablemente con la modificación genética para reducir la expresión de PIM-1 (Fig. 4A), comparable a un informe anterior en la bibliografía (Guo, S (2010) J Exp Clin Cancer Res 29:161). También se observó la reducción del ARNm de PIM-1 y el crecimiento utilizando ARNhc de PIM-1 y PIM-2 en la línea celular de carcinoma de próstata independiente de andrógenos PC-3 (datos no mostrados). Finalmente, el compuesto 8-31 redujo el crecimiento de colonias de células UM-UC-3 y PC-3 (Fig. 4B y 4C), lo que confirma el crecimiento dependiente de PIM-1 para ambas líneas celulares.

## Ejemplo 7

### Inhibición del crecimiento de tumores de xenoinjerto de ratón

Se probó el compuesto 8-31 para inhibir el crecimiento de tumores de xenoinjerto de ratón establecidos utilizando las líneas de células tumorales sólidas UM-UC-3 y PC-3 que se probaron *in vitro*. La dosificación oral de 200 mg/kg de compuesto 8-31 redujo significativamente el crecimiento tumoral de UM-UC-3 y PC-3 medido por volumen (calibre) y por peso final del tumor, sin cambios significativos en el peso corporal o toxicidad adversa bruta (Figura 5). Además, la dosificación del compuesto 8-31 a 125 mg/kg en cada modelo condujo a una inhibición significativa del crecimiento tumoral, aunque menor que la observada con 200 mg/kg, lo que indica un efecto de respuesta a la dosis y una ventana terapéutica (datos no mostrados). Los estudios farmacocinéticos de los ratones cargados de tumor PC-3 revelaron que la dosis de compuesto 8-31 de 200 mg/kg condujo a niveles en plasma y tejido tumoral por encima de la  $CE_{50}$  de proliferación *in vitro* (datos no mostrados).

## Ejemplo 8

### Escrutinio de células de cáncer hematológico

Las quinasas PIM están implicadas en la supervivencia de cánceres hematológicos, por lo tanto, el compuesto 8-31 se escrutó contra un panel de líneas celulares hematológicas utilizando un ensayo de viabilidad *in vitro*. Se probaron más de 35 líneas celulares y las líneas celulares más sensibles de diversas indicaciones fueron seleccionadas y verificadas mediante múltiples determinaciones de  $CE_{50}$  (Figura 6). El compuesto 8-31 presentó valores de  $CE_{50}$  casi equivalentes para las líneas celulares hematológicas más sensibles en comparación con la línea de vejiga, UM-UC-3, en el intervalo de 1-2  $\mu$ M. Se ha observado actividad antiproliferativa utilizando ARNhc de PIM-2 contra líneas de leucemia controladas por FLT3-ITD (Adam (2006) Cancer Res 66: 3828-35 datos no mostrados). En particular, MV-4-11 y MOLM-13 eran particularmente sensibles a SGI-9481, aunque sin desear ceñirse a la teoría, se cree que esto se debe potencialmente a la combinación de la inhibición de la quinasa PIM y FLT3, aunque la actividad podría posiblemente atribuirse a la actividad FLT3 del compuesto solo. Sin desear ceñirse a la teoría, la actividad inhibidora del compuesto 8-31 (y otros compuestos de la invención) contra múltiples miembros de la familia de fosfatidil inositol-3-quinasas (PI3K) observada en el estudio de selectividad puede impartir una ventaja adicional cuando dirigidos a diferentes tipos de tumores.

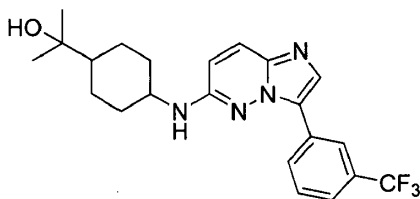
### Ejemplo 9

#### Estudios de xenoinjerto con ratones

El compuesto 8-31 demostró una inhibición significativa del crecimiento tumoral en estudios de xenoinjerto de ratón con células ML-2 (FLT3 de tipo salvaje) (Fig. 7A), similar al nivel de reducción observado en los modelos de tumores sólidos. El tratamiento de xenoinjertos establecidos de MV-4-11 (FLT3-ITD) con el compuesto 8-31 también indujo regresiones (Fig. 7B). Si bien no se desea ceñirse a la teoría, estos datos indican que los modelos de LMA son sensibles al compuesto 8-31, donde el estado de FLT3-ITD mejoró los efectos antitumorales observados.

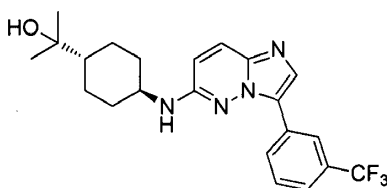
## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la siguiente estructura:



o un estereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la siguiente estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de adición de ácido seleccionada entre sales de ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, en donde los ácidos inorgánicos se seleccionan entre ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, y los ácidos orgánicos se seleccionan entre ácido acético, ácido oxálico, ácido (D)- o (L)-málico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido glutámico y ácido malónico.

4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de ácido clorhídrico.

5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un portador farmacéuticamente aceptable.

6. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de células de avena, cáncer de hueso, cáncer de páncreas, cáncer de piel, dermatofibrosarcoma protuberans, cáncer de cabeza y cuello, melanoma cutáneo o intraocular, útero cáncer, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, tumores ginecológicos, cáncer hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, sarcomas de tejidos blandos, cáncer de uretra, cáncer de pene, cáncer de próstata, tumores sólidos de la infancia, hipereosinofilia, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o de uréter, neoplasia maligna pediátrica, neoplasias del sistema nervioso central o enfermedad cutánea neoplásica.

7. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de una neoplasia maligna hematológica.

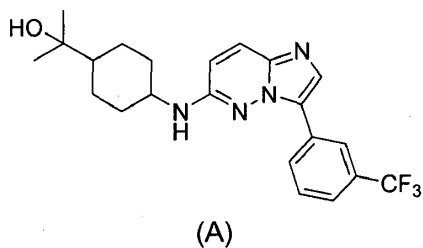
8. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 7, en donde la neoplasia maligna hematológica es una leucemia aguda o crónica, enfermedad de Hodgkin o linfoma linfocítico.

9. La composición farmacéutica para su uso de la reivindicación 7, en donde la neoplasia maligna hematológica es leucemia mieloide aguda.

10. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o enfermedad inflamatoria seleccionada entre osteoartritis, artritis reumatoide, dolor, enfermedades inflamatorias intestinales, trastornos respiratorios y trastornos de la piel, preferiblemente en donde el trastorno de la piel es psoriasis y la enfermedad inflamatoria intestinal es la enfermedad de Crohn.

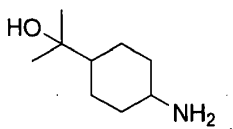
11. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, para su uso en el tratamiento de un tumor, inhibición de la angiogénesis, tratamiento de la fibrosis o tratamiento de la diabetes.

12. Un método para preparar un compuesto que tiene la siguiente estructura (A):

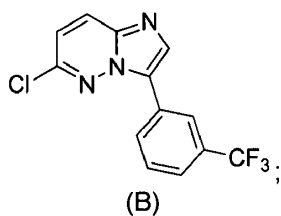


5 o un estereoisómero de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, comprendiendo el método:

a) hacer reaccionar



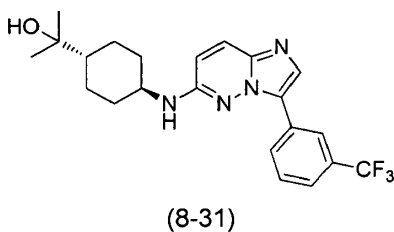
o un estereoisómero del mismo con un compuesto de estructura (B):



15 en presencia de CsF; y

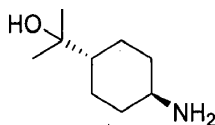
b) aislar el compuesto de estructura (A), o un estereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en forma de un sólido.

13. El método de la reivindicación 12, en donde el compuesto de estructura (A) tiene la siguiente estructura (8-31):

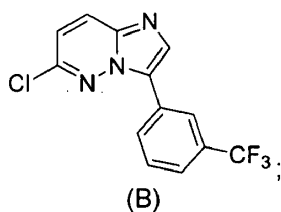


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y el método comprende

a) hacer reaccionar



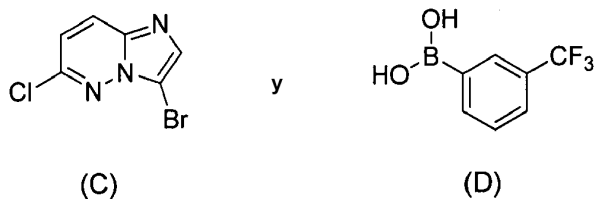
con un compuesto de estructura (B):



en presencia de CsF; y

b) aislar el compuesto de estructura (8-31), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en forma de un sólido.

14. El método de la reivindicación 12 o 13, en donde (B) se ha preparado poniendo en contacto (C) con (D):

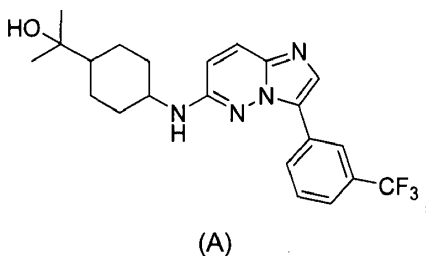


en presencia de un catalizador de paladio y una base.

15. El método de la reivindicación 12 o 13, que comprende adicionalmente tratar el sólido con un ácido para obtener la sal farmacéuticamente aceptable.

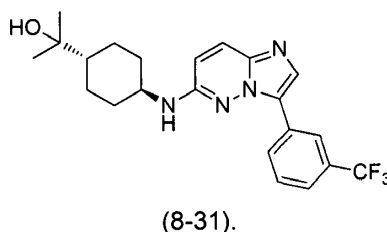
16. El método de la reivindicación 15, en donde el ácido es ácido clorhídrico, ácido maleico o ácido metanosulfónico.

17. Un método para preparar una sal de un compuesto que tiene la siguiente estructura (A):

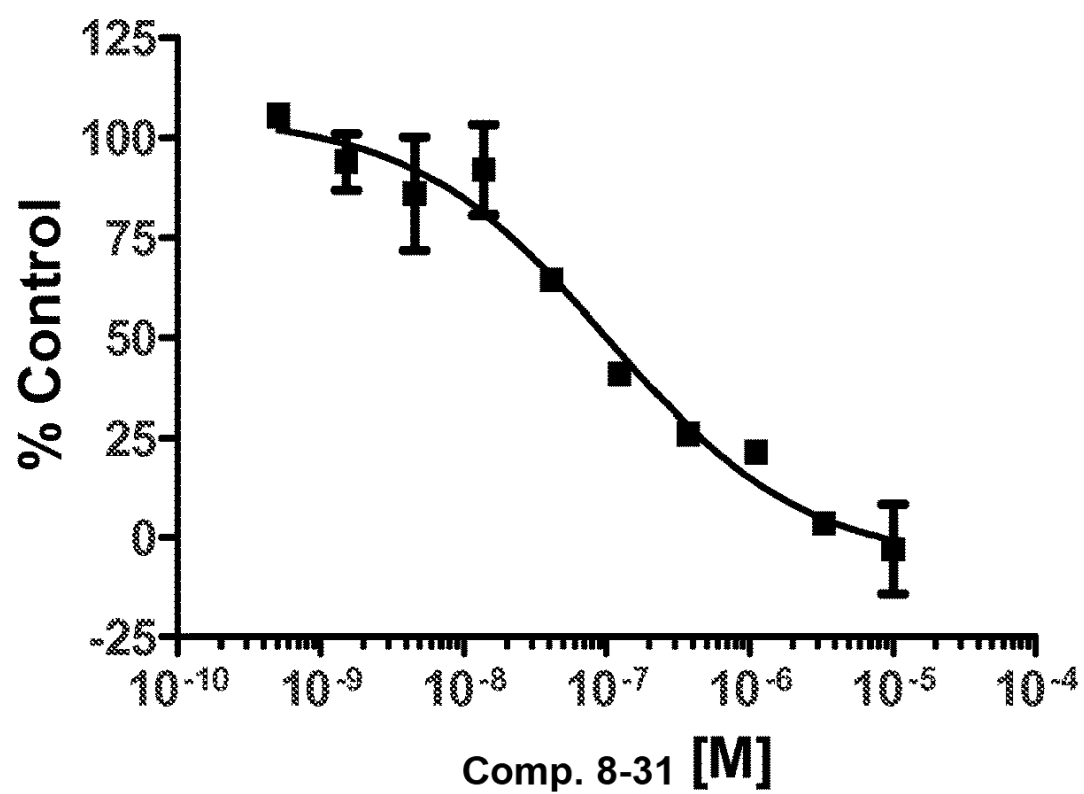


o un estereoisómero del mismo, comprendiendo el método tratar el compuesto con un ácido para obtener la sal.

18. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto de estructura (A) tiene la siguiente estructura (8-31):



19. El método de la reivindicación 17 o 18, en donde el ácido es ácido clorhídrico.

*FIG. 1*

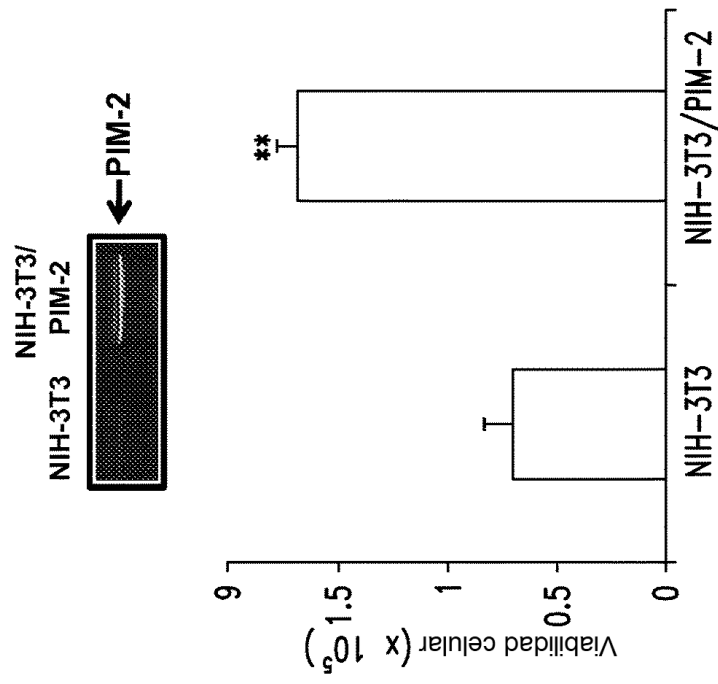


FIG. 2A

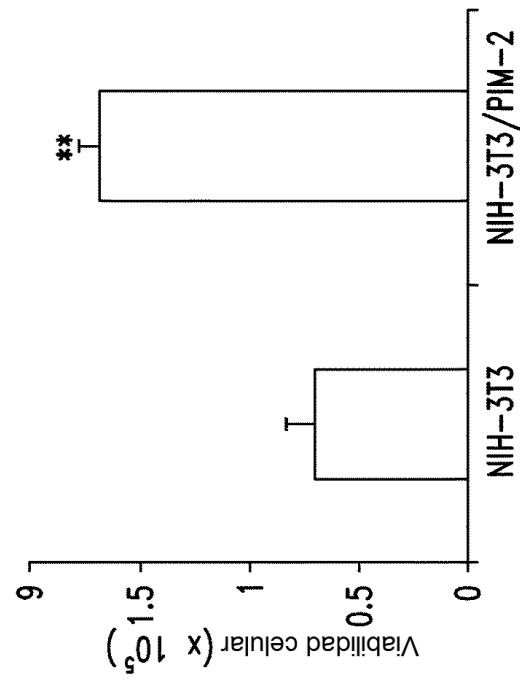


FIG. 2B

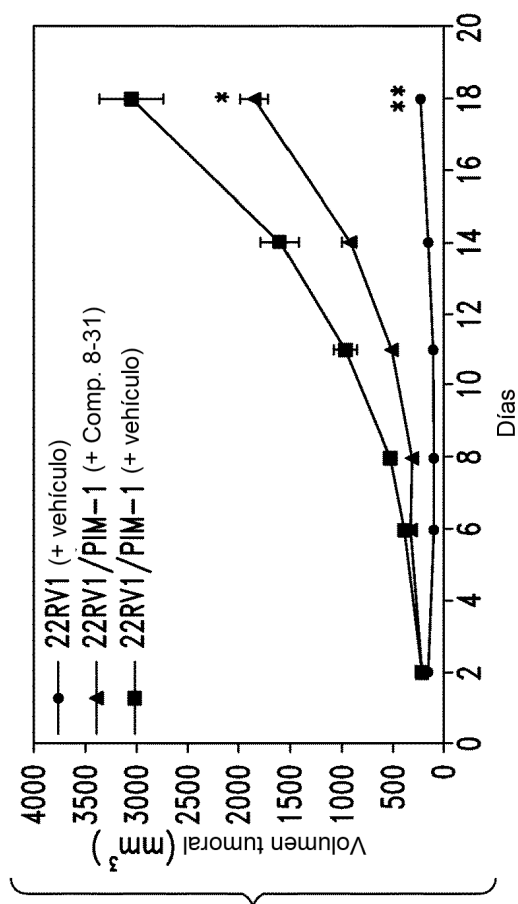
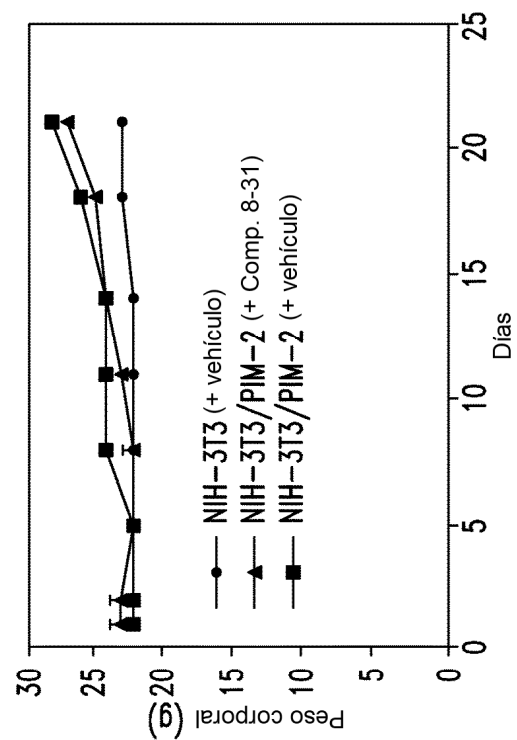
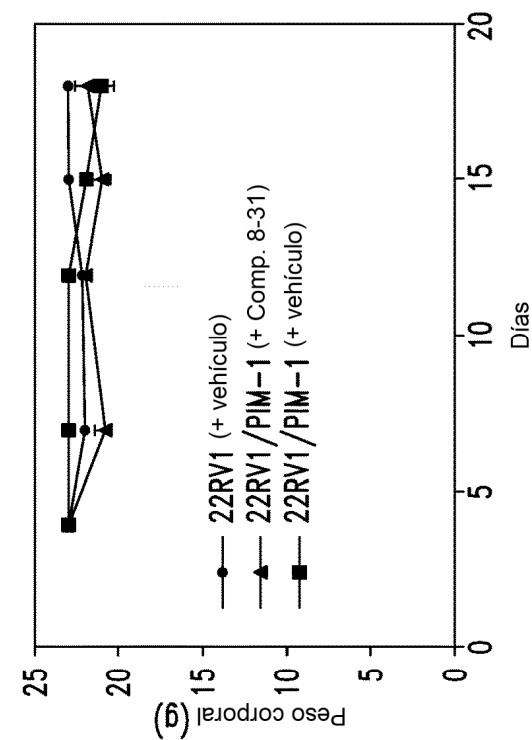


FIG. 3A

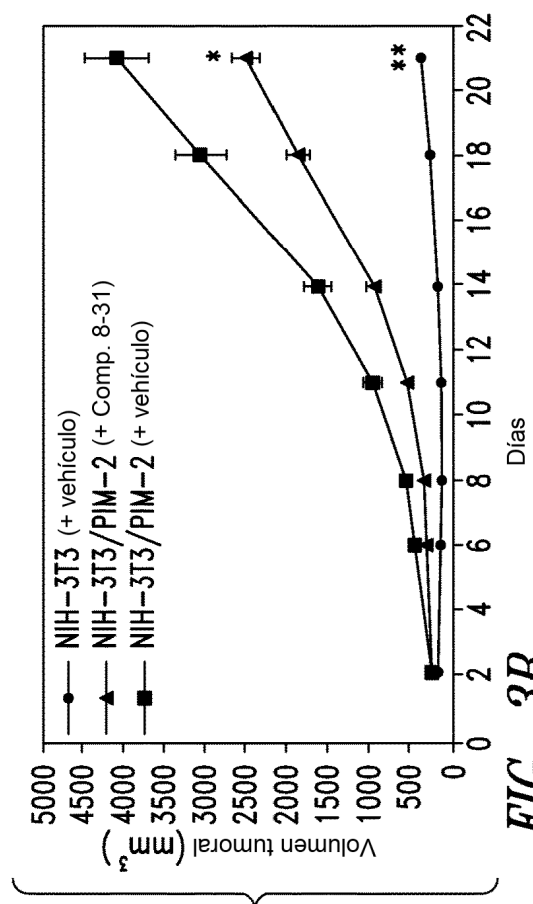


FIG. 3B

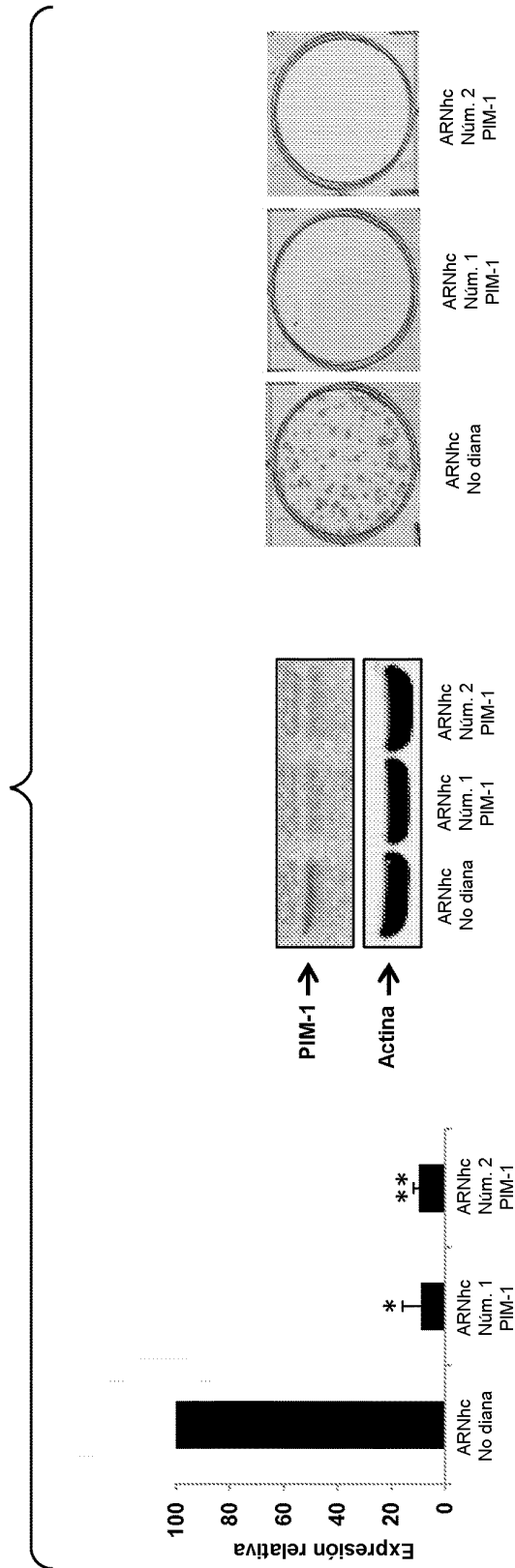


FIG. 4A

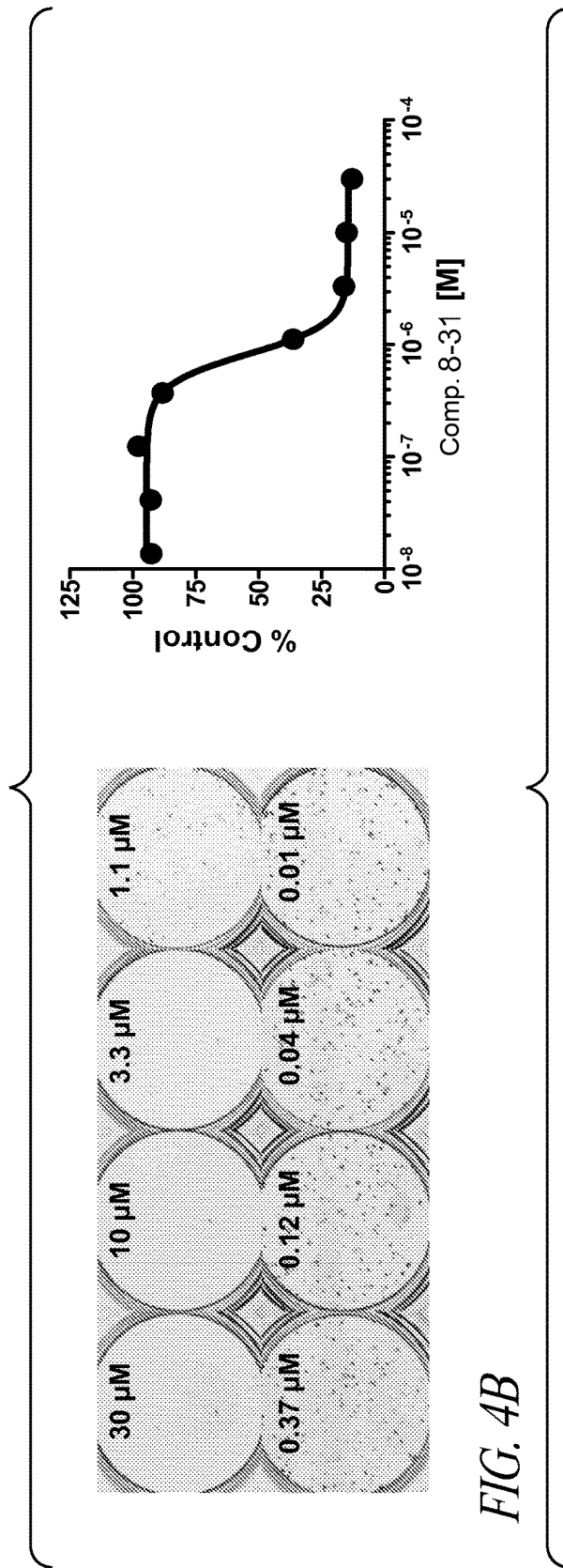


FIG. 4B

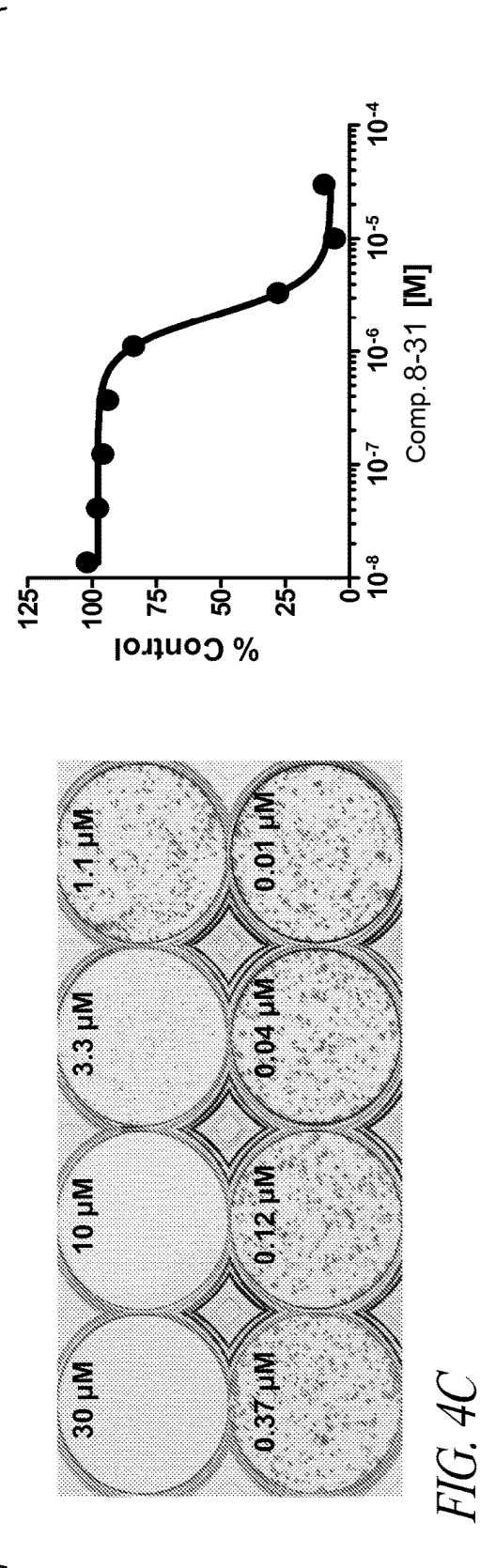
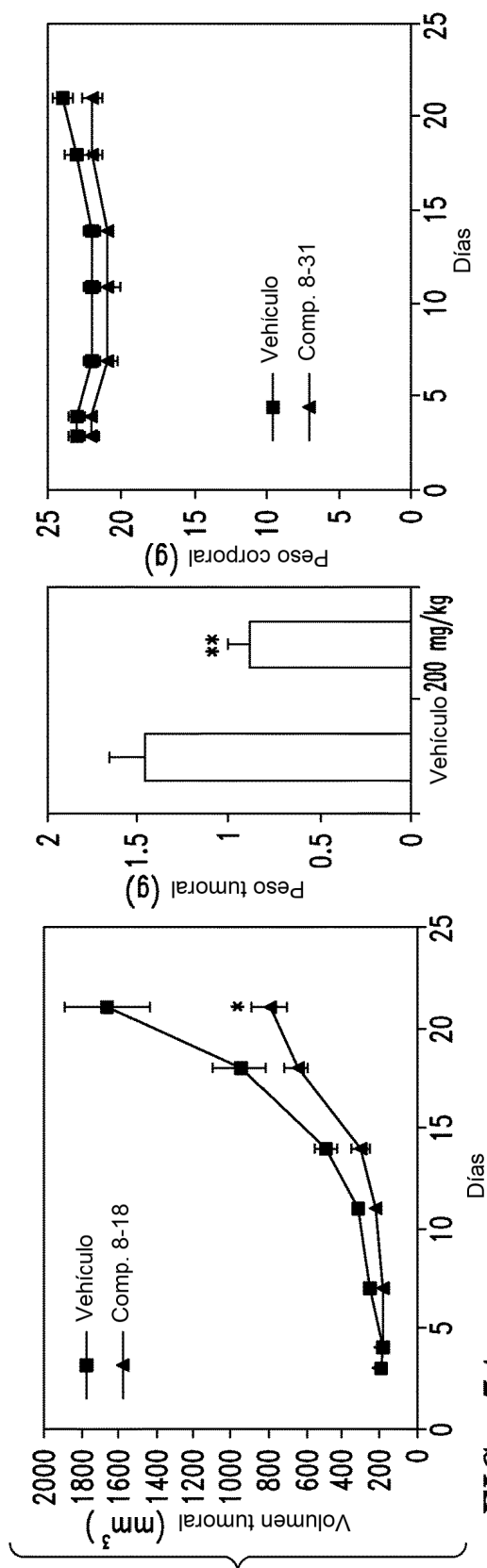
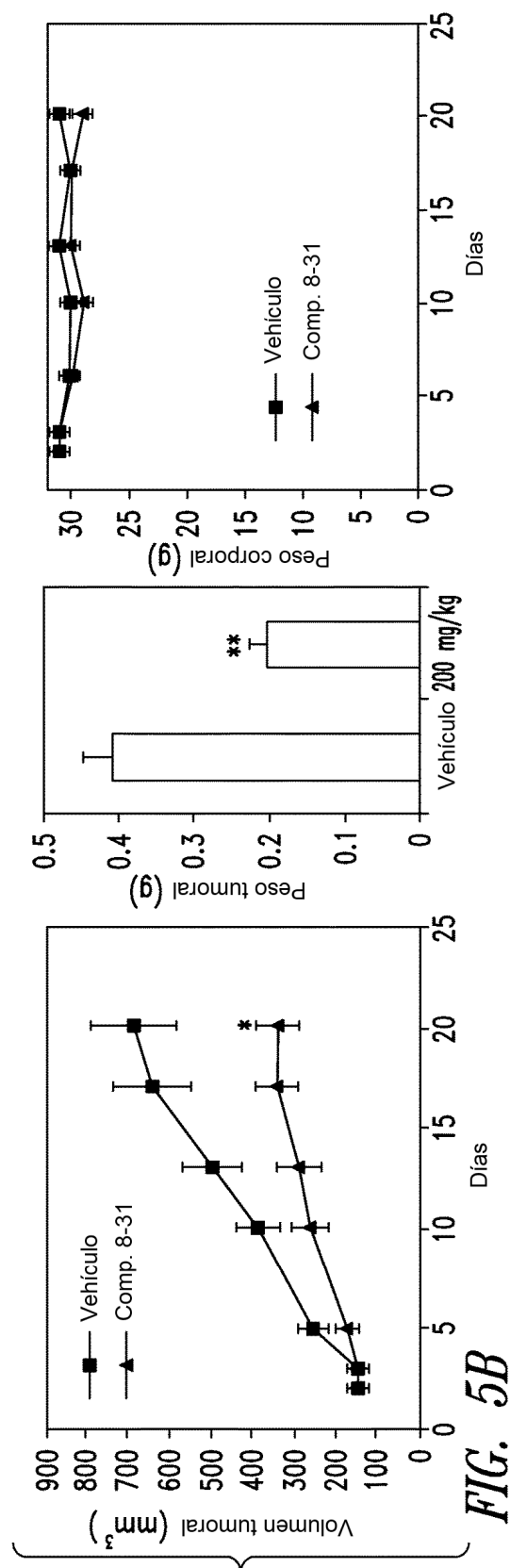


FIG. 4C



**FIG. 5A**



**FIG. 5B**

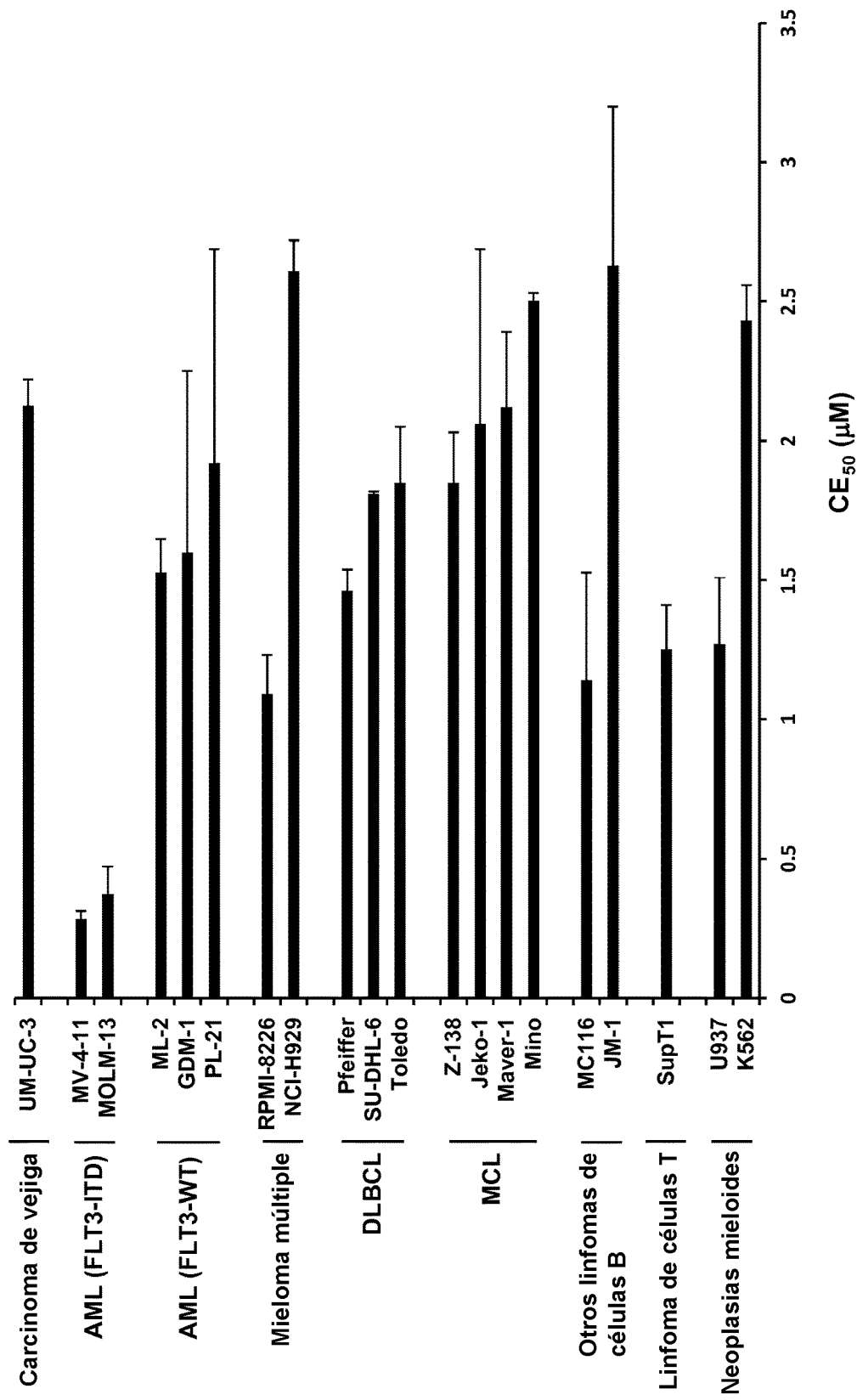


FIG. 6

