

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 671 748**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/497** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.07.2012** **PCT/US2012/047685**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.01.2013** **WO13013188**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2012** **E 12815055 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018** **EP 2734205**

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

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:  
**08.06.2018**

73 Titular/es:

**TOLERO PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)**  
**2975 W. Executiv Parkway, Suite 320**  
**Lehi, UT 84043, US**

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 671 748 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 heterocíclicos de proteína quinasas

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

- 5 La presente invención se refiere, en general, a compuestos que inhiben la actividad de proteína quinasas, y a composiciones y métodos relacionados con la misma.

**Descripción de la técnica relacionada**

El cáncer (y otras enfermedades hiperproliferativas) se caracteriza por proliferación celular descontrolada. Esta pérdida del control normal de la proliferación celular a menudo parece ocurrir como resultado del daño genético a las vías celulares que controlan el progreso a lo largo del ciclo celular. El ciclo celular consiste en la síntesis de ADN (fase S), división celular o mitosis (fase M), y periodos no sintéticos denominados intervalo 1 (G1) e intervalo 2 (G2). La fase M se compone de 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 involucradas en la realización de estas etapas de fosforilación. Además, la actividad de muchas proteína quinasas aumenta en tumores humanos en comparación con el tejido normal y esta mayor actividad puede deberse a muchos factores, que incluyen mayores niveles de una quinasa o cambios en la expresión de proteínas coactivadoras o inhibidoras.

Las células tienen proteínas que regulan 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 ciclinas (CDKs) que fosforilan sustratos esenciales para la progresión a través del ciclo celular. La actividad de CDKs específicas en momentos específicos es esencial tanto para el inicio como para el progreso coordinado a lo largo del ciclo celular. Por ejemplo, CDK1 es el regulador del ciclo celular más destacado que coordina las actividades de fase M. Sin embargo, se han identificado algunas otras proteína quinasas mitóticas que participan en la fase M, que incluyen miembros de las familias polo, aurora, y NIMA (nunca en mitosis A) y quinasas implicadas en puntos de control mitótico, salida de mitosis, y citocinesis.

Las Pim quinasas (por ejemplo, Pim-1 quinasa, Pim-2 quinasa, Pim-3 quinasa) son una familia de serina/treonina quinasas oncogénicas. Se sabe que la Pim-1 quinasa está implicada en varias rutas de señalización por citoquinas como un efector aguas abajo. Una vez activada, la Pim-1 quinasa 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 Pim-1 quinasa 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 Pim-1 quinasa se observa en células de origen hematopoyético, tales como hígado fetal, timo, bazo y médula ósea. Además, se observa expresión en células epiteliales prostáticas y orales. Se cree que la Pim-1 quinasa está implicada en la iniciación o progresión de la transformación maligna que conduce a tumores malignos que incluyen el linfoma de Burkitt, cáncer de próstata, cáncer oral y linfomas difusos de células grandes, entre otros.

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

Sobre la base de su implicación en una serie de tumores malignos humanos, existe la necesidad del diseño racional de inhibidores específicos y selectivos para el tratamiento del cáncer y otras enfermedades que están mediadas y/o asociadas con proteínas Pim quinasas. La presente invención satisface estas necesidades y ofrece otras ventajas relacionadas.

**Compendio breve**

La presente invención se refiere generalmente a compuestos y composiciones farmacéuticas como se define en las reivindicaciones.

- 50 Estos compuestos de la presente invención tienen utilidad en una amplia gama de aplicaciones terapéuticas, y pueden usarse para tratar enfermedades tales como cáncer y diversas enfermedades inflamatorias, que están mediadas, al menos en parte, por la actividad proteína quinasa. En consecuencia, en un aspecto de la invención, los compuestos descritos en la presente memoria se formulan como composiciones farmacéuticamente aceptables para la administración a un sujeto en necesidad de ello.

En otro aspecto, la invención proporciona usos medicinales como se reivindican.

El documento WO2009/060197 describe inhibidores de proteína quinasa diferentes de la presente invención. El documento 2008/058126 describe inhibidores de Pim quinazinas diferentes de la presente invención. Bullock et al., Journal of Medicinal Chemistry, 2005, 7604-7614 y Kevin et al., Journal of Medicinal Chemistry 2009, 1814-1827 son artículos científicos de referencia en el campo de los inhibidores de Pim quinazinas.

Estos y otros aspectos de la invención resultarán evidentes por referencia a la siguiente descripción detallada y a las figuras adjuntas. Con ese fin, se citan en esta memoria ciertos documentos de patente y otros para exponer de forma más específica diversos aspectos de esta invención.

### Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra los resultados de un ensayo celular 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 la regresión tumoral y peso corporal.

La Figura 6 presenta datos de cribado de cáncer hematológico.

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

### Descripción detallada de la invención

De acuerdo con un aspecto general de la presente invención, se proporcionan compuestos útiles como inhibidores de proteína quinazinas y composiciones y métodos relacionados con los mismos. Los compuestos de la invención tienen estructuras descritas en las reivindicaciones.

A menos que se indique de otro modo, los siguientes términos usados en la memoria descriptiva y reivindicaciones tienen los significados que se describen a continuación:

“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 uno a cuatro átomos de carbono, por ejemplo metilo, etilo, propilo, 2-propilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo, ventilo, hexilo, y similares, preferiblemente metilo, etilo, propilo, o 2-propilo. Los alquilos saturados de cadena lineal representativos incluyen metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilo, y similares; mientras que los alquilos saturados ramificados incluyen isopropilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, isopentilo, y similares. Los alquilos cíclicos saturados representativos incluyen 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 se denominan también en esta memoria “cicloalquilo”. Los alquilos insaturados contienen al menos un doble o triple enlace entre átomos de carbono adyacentes (denominados “alqueno” o “alquino”, respectivamente). Los alquenos de cadena lineal y ramificados representativos incluyen etilenilo, propilenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2-metil-2-butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo, y similares; mientras que los alquinos de cadena lineal y ramificados representativos incluyen acetilenilo, propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-metil-1-butinilo, y similares.

“Alqueno” 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, por ejemplo metileno, etileno, 2,2-dimetiletileno, propileno, 2-metilpropileno, butileno, pentileno, y similares, preferiblemente metileno, etileno, o propileno.

“Cicloalquilo” se refiere a un radical hidrocarbonado cíclico saturado de tres a ocho átomos de carbono, por ejemplo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo.

“Alcoxilo” significa un radical -OR<sub>a</sub> en donde R<sub>a</sub> es un alquilo como se ha definido anteriormente, por ejemplo metoxilo, etoxilo, propoxilo, butoxilo, y similares.

“Halo” significa fluoro, cloro, bromo, o yodo, preferiblemente fluoro y cloro.

“Haloalquilo” significa alquilo sustituido con uno o más, preferiblemente uno, dos o tres, haloátomos iguales o diferentes, por ejemplo -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.

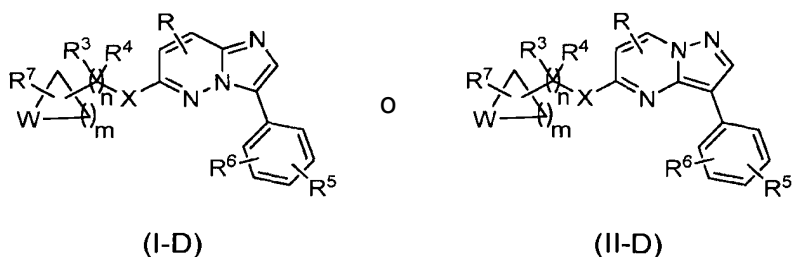
“Haloalcoxilo” significa un radical -OR<sub>b</sub> en donde R<sub>b</sub> es un haloalquilo como se ha definido anteriormente, por ejemplo trifluorometoxilo, tricloroetoxilo, 2,2-dicloropropoxilo, y similares.

“Acilo” significa un radical -C(O)R<sub>c</sub> en donde R<sub>c</sub> es hidrógeno, alquilo, o haloalquilo como se ha definido en la

presente memoria, por ejemplo, formilo, acetilo, trifluoroacetilo, butanoílo, y similares.

“Tautómero” se refiere a un compuesto que resulta de la migración formal de un átomo de hidrógeno acompañado por un intercambio de un enlace sencillo y un doble enlace adyacente. Por ejemplo, la forma enólica y cetónica de un compuesto son tautómeros entre sí.

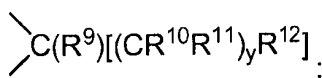
- 5 “Opcional” u “opcionalmente” significa que el evento o circunstancia descrita posteriormente puede ocurrir, pero no es necesario que ocurra, y que la descripción incluye casos en que el evento o circunstancia ocurre y casos en que no ocurre. Por ejemplo, “grupo heterocíclico opcionalmente sustituido con un grupo alquilo” significa que el alquilo puede no estar presente, y la descripción incluye situaciones en que el grupo heterocíclico está sustituido con un grupo alquilo y situaciones en que el grupo heterocíclico no está sustituido con el grupo alquilo.
- 10 La presente invención se dirige a un compuesto que tiene una estructura según la estructura (I-D) o la estructura (II-D) a continuación:



o a un estereoisómero, tautómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

$$X \text{ es } -N(R^8)- \text{ u } -O-;$$

- 15      W es



R es H, -OH, halo, alquilo, haloalquilo, alcoxilo, haloalcoxilo, -N(R<sup>8</sup>)<sub>2</sub>, o -CN;

$R^3, R^4, R^7, R^8, R^9, R^{10}$  y  $R^{11}$  son, en cada caso, independientemente H o alquilo;

R<sup>5</sup> es halo, haloalquilo o haloalcoxilo:

- 20  $R^6$  es H, -OH, alquilo o alcóxido;

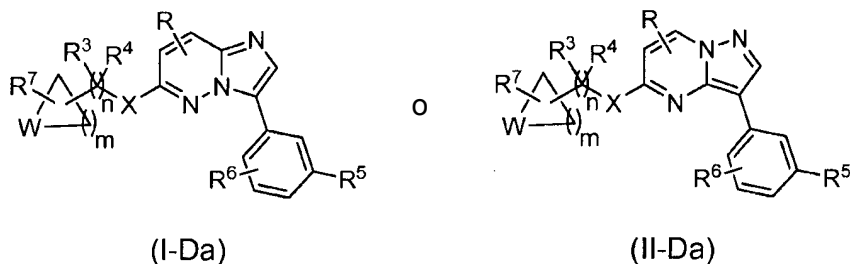
$$R^{12} \text{ es } -OH;$$

m es 1, 2, 3, 4, 5 ó 6;

$n$  es 0, 1, 2, 3 ó 4; e

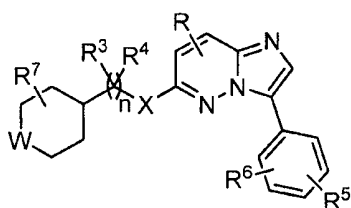
y es 1.

- 25 En ciertas realizaciones de los compuestos anteriores de estructura (I-D) o (II-D),  $R^6$  es H, y en otras realizaciones R es H o metilo. En otras realizaciones más,  $R^5$  está en la posición meta, y el compuesto tiene una de las estructuras siguientes (I-Da) o (II-Da):

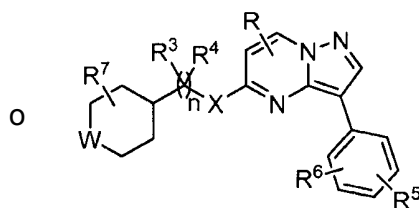


En algunas realizaciones de las estructuras (I-Da) o (II-Da), R<sup>6</sup> es H, y en otras realizaciones R es H o metilo.

- 30 En algunas otras realizaciones, m es 3 ó 4, por ejemplo en algunas realizaciones m es 4. En ciertas realizaciones en donde M es 4, el compuesto tiene una de las estructuras siguientes (IDb) o (IIDb):



(I-Db)



(II-Db)

En diversas realizaciones de los compuestos anteriores de estructura (I-D) o (II-D),  $R^7$  es H. En otras diversas realizaciones, n es 0 ó 1, por ejemplo en algunas realizaciones específicas de cualquiera de los anteriores, n es 0.

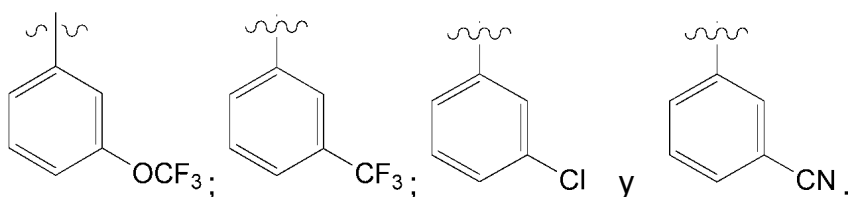
- 5 En otras diversas realizaciones más de los compuestos anteriores de estructura (I-D) o (II-D), al menos uno de  $R^3$  o  $R^4$  es H, por ejemplo en ciertas realizaciones cada uno de  $R^3$  y  $R^4$  es H.

En algunas realizaciones de los compuestos anteriores de estructura (I-D) o (II-D),  $R^5$  es  $-\text{OCF}_3$ ,  $-\text{CF}_3$ , Cl o F. Por ejemplo, en algunas de estas realizaciones  $R^5$  está en la posición meta y  $R^6$  es H.

- 10 En otras realizaciones más de los compuestos anteriores de estructura (I-D) o (II-D),  $R^{12}$  es  $-\text{OH}$ ,  $-\text{CN}$  o  $-\text{OCH}_3$ . En algunas realizaciones  $R^9$  es H y en otras realizaciones  $R^9$  es metilo. En otras realizaciones más, al menos uno de  $R^{10}$  o  $R^{11}$  es metilo, por ejemplo en algunas realizaciones cada uno de  $R^{10}$  y  $R^{11}$  es metilo. En algunas realizaciones y es 0 ó 1.

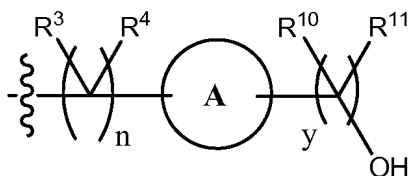
En algunas otras realizaciones de los compuestos anteriores de estructura (I-D) o (II-D), la W es  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{CH}(\text{OH})-$ ,  $-\text{CH}(\text{CN})-$ ,  $-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{OH})-$ ,  $-\text{CH}(\text{OCH}_3)-$  o  $-\text{CH}[\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}]$ . En otras realizaciones X es  $-\text{NH}-$ , y en algunas otras realizaciones X es  $-\text{O}-$ .

- 15 En otras realizaciones más de los compuestos anteriores de estructura (I-D) o (II-D),  $R_1$  se selecciona de una de las estructuras siguientes:



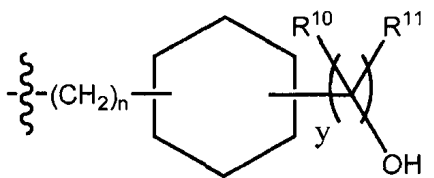
Otras realizaciones más incluyen compuestos de estructura (I-D) o (II-D) en donde el compuesto tiene una actividad  $\text{IC}_{50}$  de hERG de 10  $\mu\text{M}$  o más, por ejemplo 30  $\mu\text{M}$  o más.

- 20 En otras realizaciones más de las estructuras (I), (II), (I-A), (II-A), (I-B), (II-B), (I-C) o (II-C) anteriores,  $R_2$  es



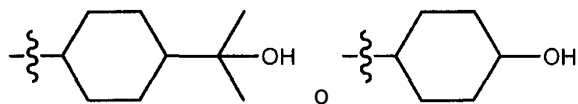
en donde A representa un anillo carbocíclico de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido y  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ , n e y son como se han definido anteriormente.

- 25 En otras realizaciones de lo anterior, n es 0, y en otras realizaciones y es 0 ó 1. En algunas otras realizaciones, al menos uno de  $R^3$  o  $R^4$  es H. En algunas otras realizaciones,  $R^3$  y  $R^4$  son cada uno H. En algunas otras realizaciones, al menos uno de  $R^{10}$  o  $R^{11}$  es metilo. En algunas otras realizaciones,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  son cada uno metilo. En otras realizaciones más, A es un anillo carbocíclico de 6 miembros opcionalmente sustituido y  $R^2$  tiene la estructura siguiente:

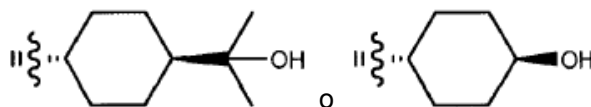


En algunas otras realizaciones de lo anterior, al menos uno de  $R^{10}$  o  $R^{11}$  es metilo. En algunas otras realizaciones,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  son cada uno metilo. En algunas realizaciones,  $y$  es 0 y en otras realizaciones  $y$  es 1.

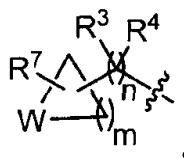
En realizaciones más específicas,  $R_2$  tiene una de las estructuras siguientes:



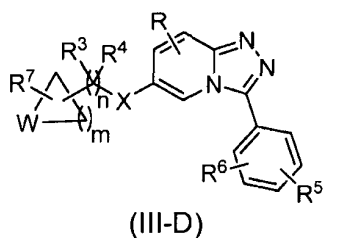
5 Incluso en otras realizaciones,  $R_2$  tiene una de las estructuras siguientes:



En otras realizaciones más del compuesto de estructura (III),  $R_2$  es



y la presente invención se dirige a un compuesto que tiene una estructura según la estructura (III-D) a continuación:

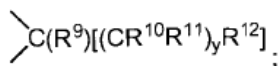


10

o un estereoisómero, tautómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

$X$  es  $-N(R^8)-$  u  $-O-$ ;

$W$  es



15

$R$  es H,  $-OH$ , halo, alquilo, haloalquilo, alcoxilo, haloalcoxilo,  $-N(R^8)_2$ , o  $-CN$ ;

$R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$ ,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  son, en cada caso, independientemente H o alquilo;

$R^5$  es halo, haloalquilo o haloalcoxilo;

$R^6$  es H,  $-OH$ , alquilo o alcoxilo;

$R^{12}$  es  $-OH$ ,

20

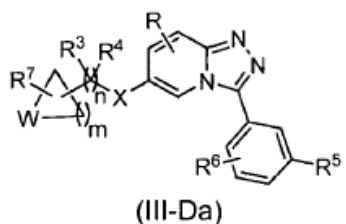
$m$  es 1, 2, 3, 4, 5 ó 6;

$n$  es 0, 1, 2, 3 ó 4; e

y es 1.

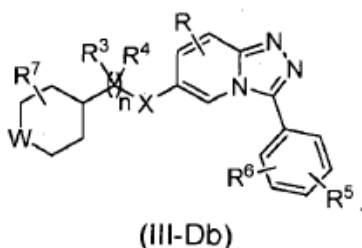
25

En ciertas realizaciones de los compuestos anteriores de estructura (III-D) o (II-D),  $R^6$  es H, y en otras realizaciones  $R$  es H o metilo. Aún en otras realizaciones,  $R^5$  está en la posición meta, y el compuesto tiene la estructura siguiente (III-Da):



En algunas realizaciones de la estructura (III-Da),  $R^6$  es H, y en otras realizaciones R es H o metilo.

En algunas otras realizaciones, m es 3 ó 4, por ejemplo en algunas realizaciones m es 4. En ciertas realizaciones en donde M es 4 el compuesto tiene la estructura siguiente (III-Db):



5

En diversas realizaciones de los compuestos anteriores de estructura (III-D),  $R^7$  es H. En otras diversas realizaciones n es 0 ó 1, por ejemplo en algunas realizaciones específicas de cualquiera de los anteriores n es 0.

En otras diversas realizaciones más de los compuestos anteriores de estructura (III-D), al menos uno de  $R^3$  o  $R^4$  es H, por ejemplo en ciertas realizaciones cada uno de  $R^3$  y  $R^4$  es H.

10 En algunas realizaciones de los compuestos anteriores de estructura (III-D),  $R^5$  es  $-\text{OCF}_3$ ,  $-\text{CF}_3$ , Cl o F. Por ejemplo, en algunas de estas realizaciones  $R^5$  está en la posición meta y  $R^6$  es H.

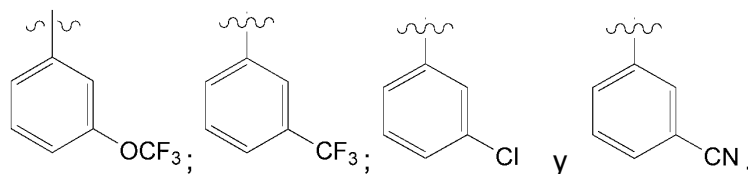
En otras realizaciones más de los compuestos anteriores de estructura (III-D),  $R^{12}$  es  $-\text{OH}$ ,  $-\text{CN}$  o  $-\text{OCH}_3$ . En algunas realizaciones  $R^9$  es H y en otras realizaciones  $R^9$  es metilo. En otras realizaciones más, al menos uno de  $R^{10}$  o  $R^{11}$  es metilo, por ejemplo en algunas realizaciones cada uno de  $R^{10}$  y  $R^{11}$  es metilo. En algunas realizaciones y es 0 ó 1.

15

En algunas otras realizaciones de los compuestos anteriores de estructura (III-D), la W es  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{CH}(\text{OH})-$ ,  $-\text{CH}(\text{CN})-$ ,  $-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{OH})-$ ,  $-\text{CH}(\text{OCH}_3)-$  o  $-\text{CH}[\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}]-$ . En otras realizaciones X es  $-\text{NH}-$ , y en algunas otras realizaciones X es  $-\text{O}-$ .

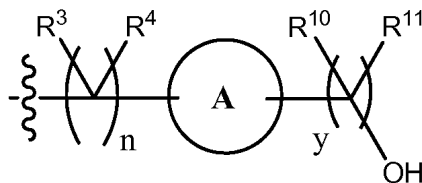
En otras realizaciones más de los compuestos anteriores de estructura (III-D),  $R_1$  se selecciona de una de las siguientes estructuras:

20



Otras realizaciones más incluyen compuestos de estructura (III-D) en donde el compuesto tiene una actividad  $\text{IC}_{50}$  de hERG de 10  $\mu\text{M}$  o más, por ejemplo 30  $\mu\text{M}$  o más.

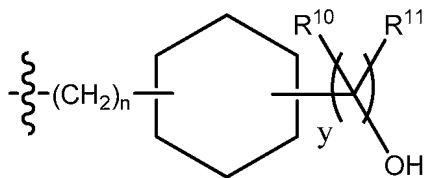
En otras realizaciones más de estructuras (III), (III-A), (III-B) o (III-C) anteriores,  $R_2$  es



25

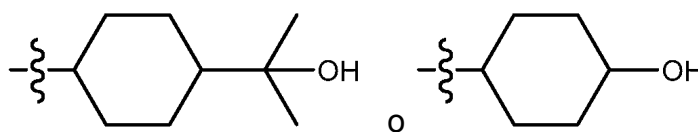
en donde A representa un anillo carbocíclico de 3 a 8 miembros opcionalmente sustituido y  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ , n e y son como se han definido anteriormente.

En otras realizaciones de lo anterior,  $n$  es 0, y en otras realizaciones  $y$  es 0 ó 1. En algunas otras realizaciones, al menos uno de  $R^3$  o  $R^4$  es H. En algunas otras realizaciones,  $R^3$  y  $R^4$  son cada uno H. En algunas otras realizaciones, al menos uno de  $R^{10}$  o  $R^{11}$  es metilo. En algunas otras realizaciones,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  son cada uno metilo. En otras realizaciones más, A es un anillo carbocíclico de 6 miembros opcionalmente sustituido y  $R^2$  tiene la estructura siguiente:

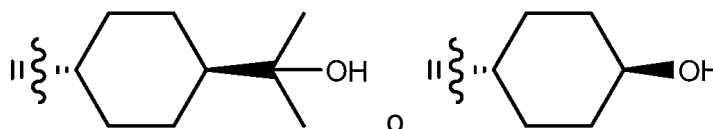


En algunas otras realizaciones de lo anterior, al menos uno de  $R^{10}$  o  $R^{11}$  es metilo. En algunas otras realizaciones,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  son cada uno metilo. En algunas realizaciones,  $y$  es 0 y en otras realizaciones  $y$  es 1.

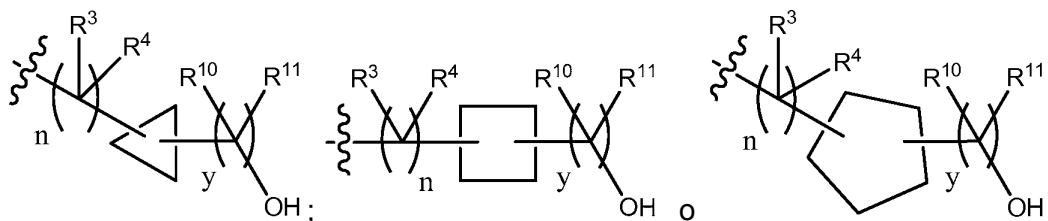
En realizaciones más específicas,  $R_2$  tiene una de las estructuras siguientes:



Incluso en otras realizaciones,  $R_2$  tiene una de las estructuras siguientes:



En otras realizaciones más de las estructuras (III), (III-A), (III-B) o (III-C) anteriores,  $R_2$  es un anillo carbocíclico de 3, 4 ó 5 miembros y tiene una de las estructuras siguientes:



en donde  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ,  $n$  e  $y$  son como se han definido anteriormente.

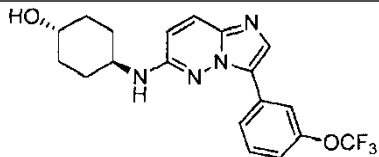
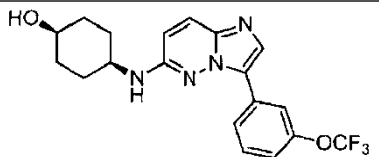
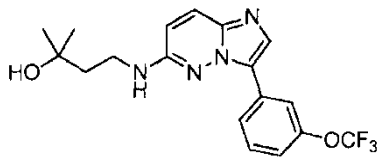
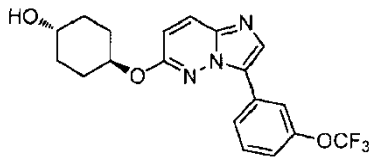
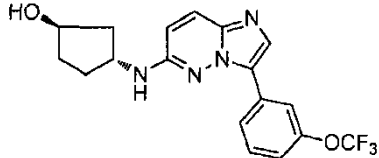
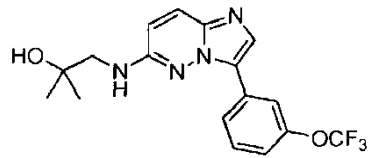
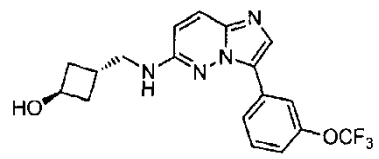
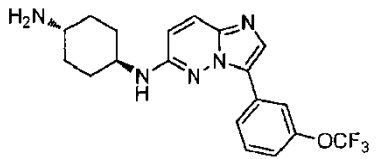
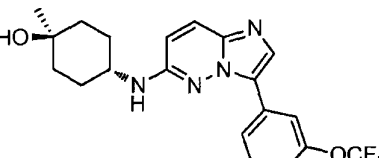
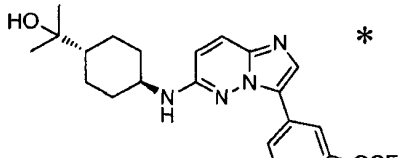
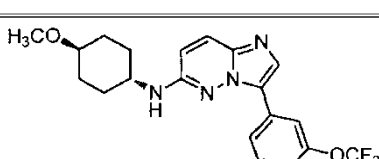
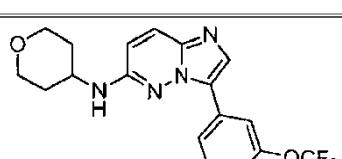
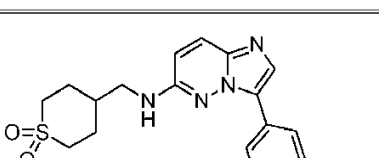
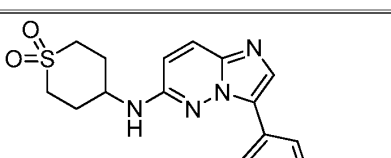
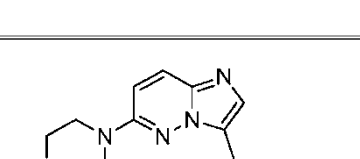
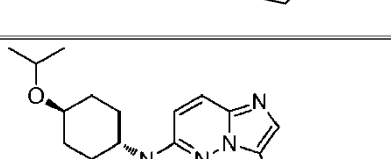
En otras realizaciones de lo anterior,  $n$  es 0, y en otras realizaciones  $y$  es 0 ó 1. En algunas otras realizaciones, al menos uno de  $R^3$  o  $R^4$  es H. En algunas otras realizaciones,  $R^3$  y  $R^4$  son cada uno H. En algunas otras realizaciones, al menos uno de  $R^{10}$  o  $R^{11}$  es metilo. En algunas otras realizaciones,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  son cada uno metilo. En aspectos más específicos de la estructura (I) anterior, se proporcionan compuestos que tienen las estructuras indicadas en la Tabla I a continuación (Compuestos 8-1 a 8-45 y 8-70 a 8-93).

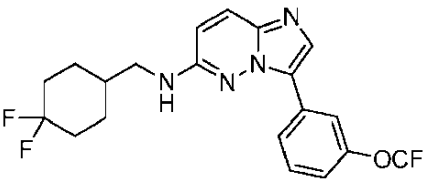
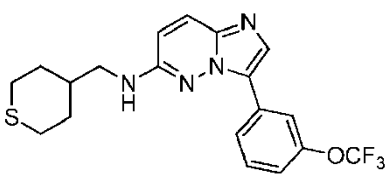
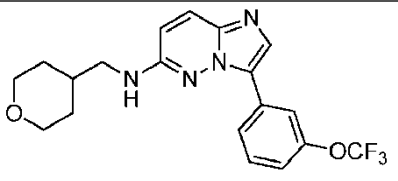
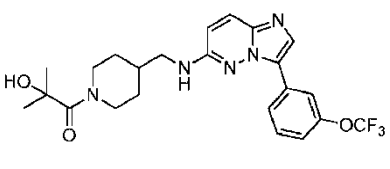
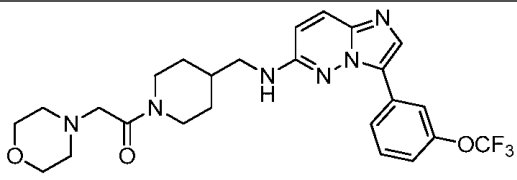
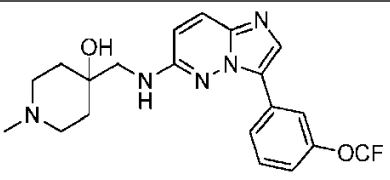
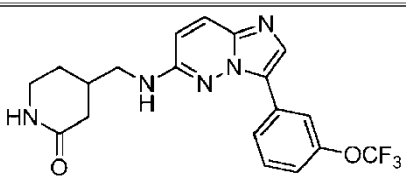
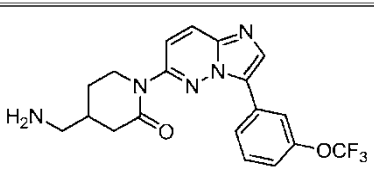
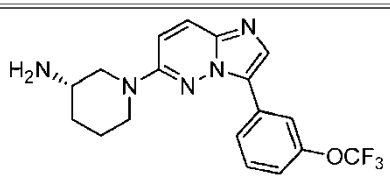
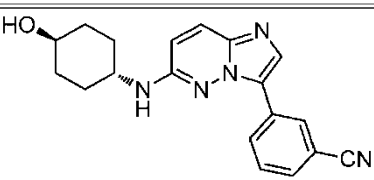
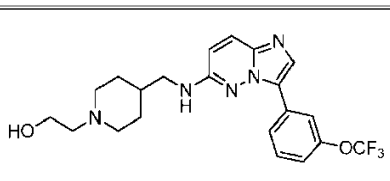
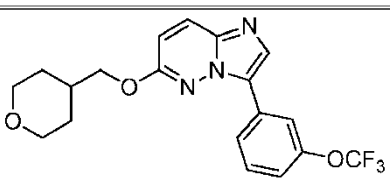
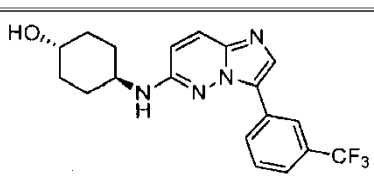
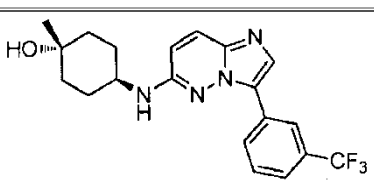
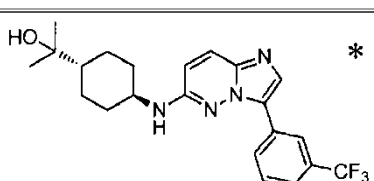
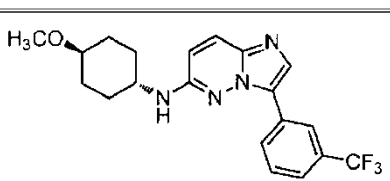
En aspectos más específicos de la estructura (II) anterior, se proporcionan compuestos que tienen las estructuras indicadas en la Tabla II a continuación (Compuestos 8-46 a 8-69 y 8-95 a 8-98).

En aspectos más específicos de la estructura (III) anterior, se proporcionan compuestos que tienen las estructuras indicadas en la Tabla III a continuación (Compuestos 8-99 a 8-113).



Tabla I. Inhibidores de Pim ilustrativos. \*dentro del alcance de las reivindicaciones

| 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 |   |

| EJ.  | Estructura                                                                          | EJ.  | Estructura                                                                           |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------|------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 8-17 |    | 8-18 |    |
| 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 |  |

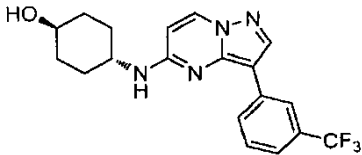
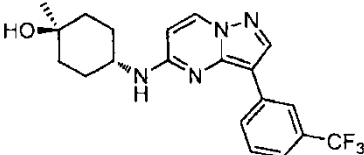
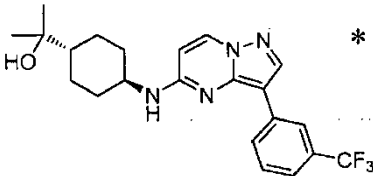
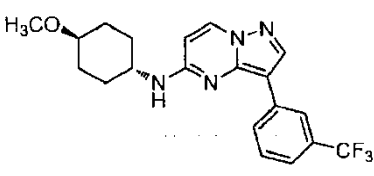
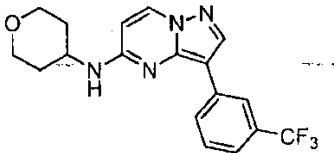
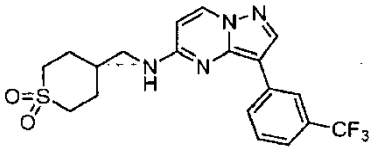
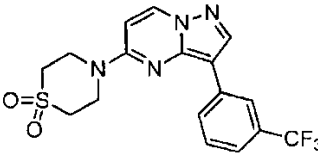
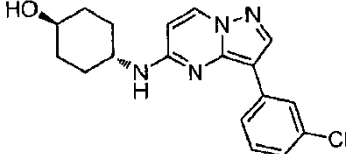
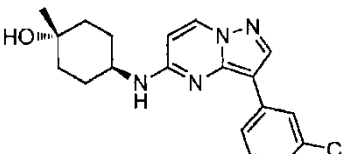
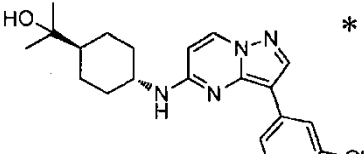
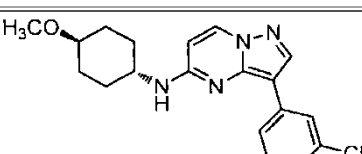
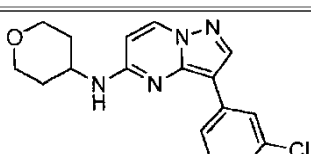
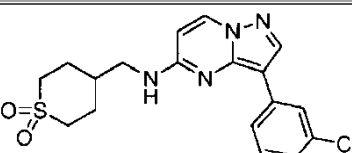
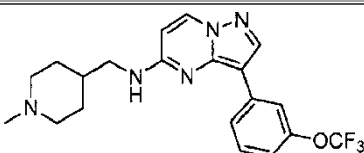
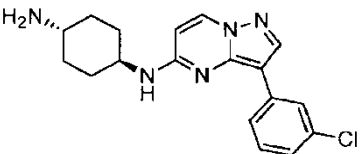
| EJ.  | Estructura | EJ.  | Estructura |
|------|------------|------|------------|
| 8-33 |            | 8-34 |            |
| 8-35 |            | 8-36 |            |
| 8-37 |            | 8-38 |            |
| 8-39 |            | 8-40 |            |
| 8-41 |            | 8-42 |            |
| 8-43 |            | 8-44 |            |
| 8-45 |            | 8-68 |            |
| 8-70 |            | 8-71 |            |

| EJ.  | Estructura | EJ.  | Estructura |
|------|------------|------|------------|
| 8-72 |            | 8-73 |            |
|      |            | 8-75 |            |
| 8-76 |            | 8-77 |            |
| 8-78 |            | 8-79 |            |
| 8-80 |            | 8-81 |            |
| 8-82 |            | 8-83 |            |
| 8-84 |            | 8-85 |            |
| 8-86 |            | 8-87 |            |

| EJ.  | Estructura | EJ.  | Estructura |
|------|------------|------|------------|
| 8-88 |            | 8-89 |            |
| 8-90 |            | 8-91 |            |
| 8-92 |            | 8-93 |            |

Tabla II. Inhibidores de Pim ilustrativos.\*dentro del alcance de las reivindicaciones

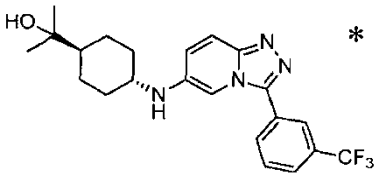
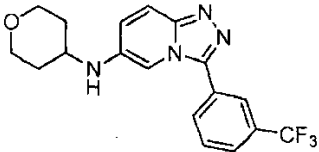
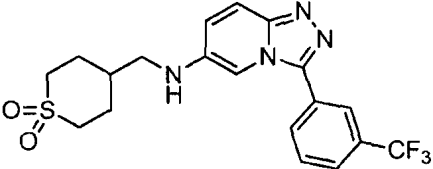
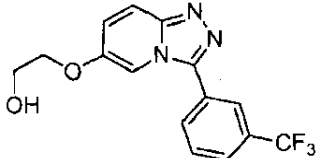
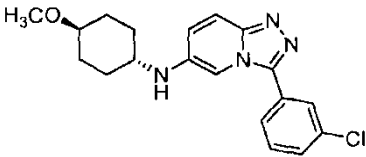
| EJ.  | Estructura | EJ.  | Estructura |
|------|------------|------|------------|
| 8-46 |            | 8-47 |            |
| 8-48 |            | 8-49 |            |
| 8-50 |            | 8-51 |            |
| 8-52 |            | 8-53 |            |

| EJ.  | Estructura                                                                          | EJ.  | Estructura                                                                            |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 8-54 |    | 8-55 |     |
| 8-56 |    | 8-57 |     |
| 8-58 |    | 8-59 |     |
| 8-60 |   | 8-61 |    |
| 8-62 |  | 8-63 |   |
| 8-64 |  | 8-65 |  |
| 8-66 |  | 8-67 |   |
|      |                                                                                     | 8-69 |   |

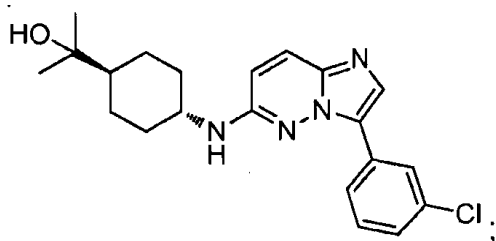
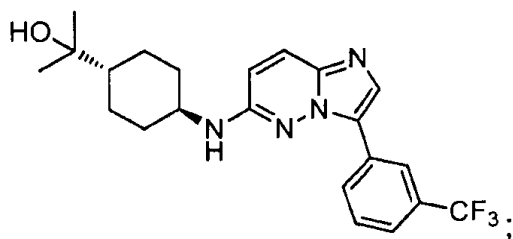
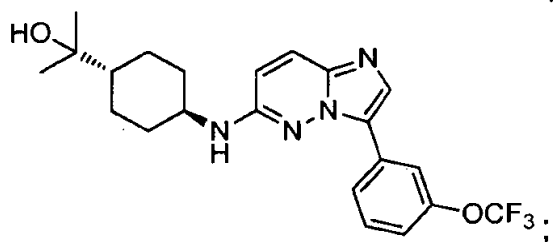
| EJ.  | Estructura | EJ.  | Estructura |
|------|------------|------|------------|
| 8-95 |            | 8-96 |            |
| 8-97 |            | 8-98 |            |

Tabla III. Inhibidores de Pim ilustrativos

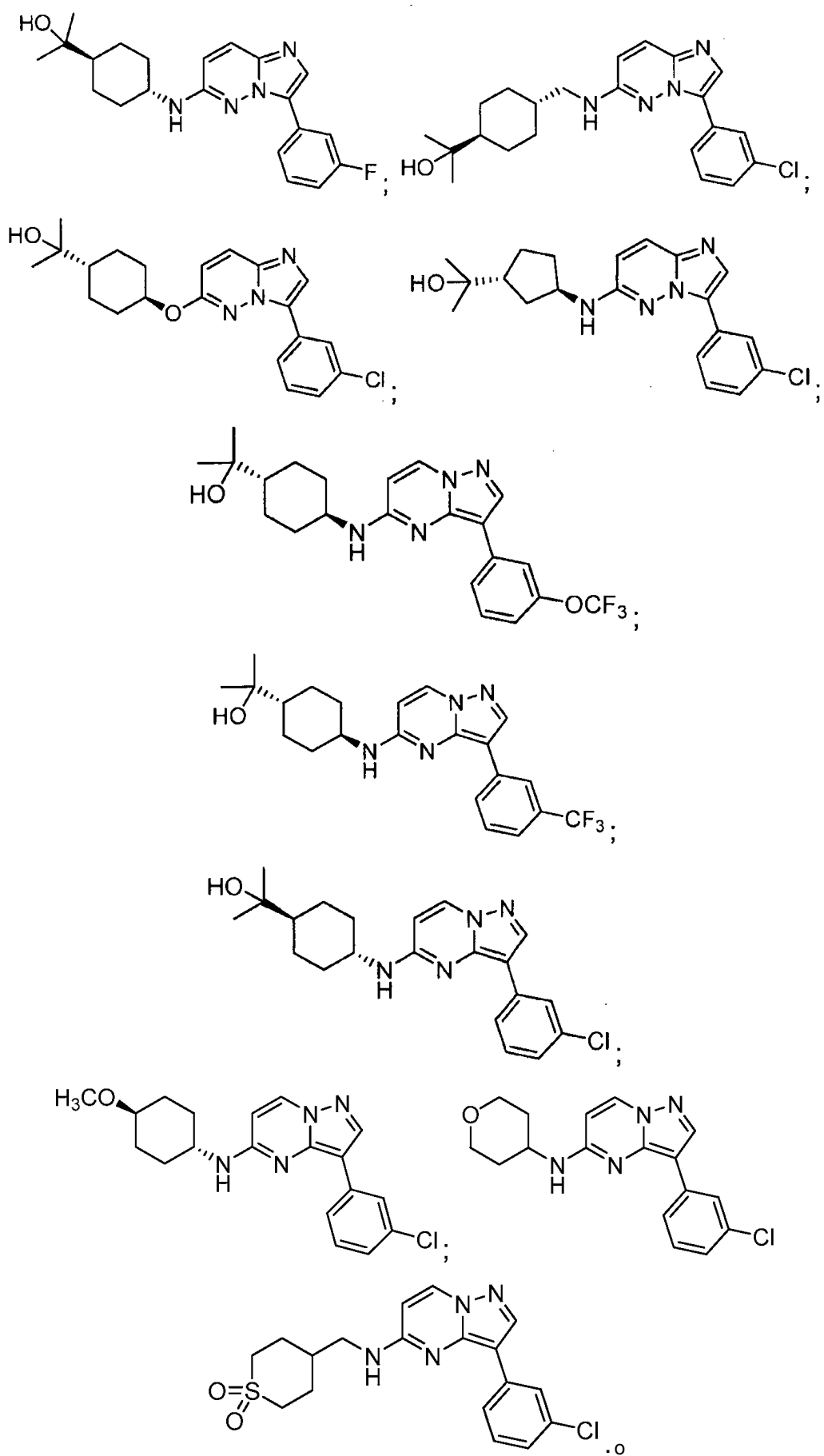
| EJ.   | Estructura | EJ.   | Estructura |
|-------|------------|-------|------------|
| 8-99  |            | 8-100 |            |
| 8-101 |            | 8-102 |            |
| 8-103 |            | 8-104 |            |
| 8-105 |            | 8-106 |            |
| 8-107 |            | 8-108 |            |

| EJ.   | Estructura                                                                        | EJ.   | Estructura                                                                          |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 8-109 |  | 8-110 |  |
| 8-111 |  | 8-112 |  |
| 8-113 |  |       |                                                                                     |

En ciertas realizaciones, el compuesto de estructura (I-D) o (II-D) tiene una de las estructuras siguientes:







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 "diastereoisómeros" y los que son imágenes especulares no superponibles entre sí se denominan "enantiómeros". Cuando un compuesto tiene un centro asimétrico, por ejemplo está enlazado 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 por las reglas de secuenciación R y S de Cahn y Prelog (Cahn, R., Ingold, C., and Prelog, V. *Angew. Chem.* 78:413-47, 1966; *Angew. Chem. Internat. Ed. Eng.* 5:385-415, 511, 1966), o por la forma en que la molécula gira el plano de luz polarizada y se designa como dextrógira o levógira (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 iguales proporciones de los enantiómeros se llama "mezcla racémica".

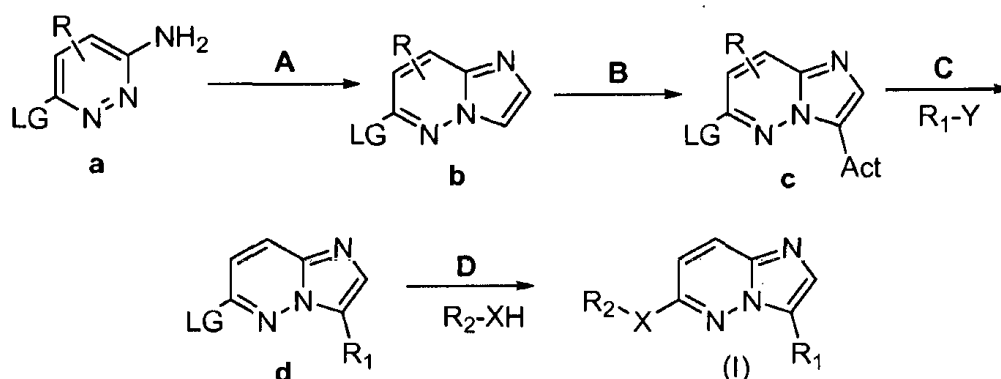
Los compuestos de esta invención pueden poseer uno o más centros asimétricos; por tanto tales compuestos pueden producirse como estereoisómeros individuales (R) o (S) o como mezclas de los mismos. A menos que se indique de otro modo, la descripción o denominación de un compuesto particular en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones pretende incluir 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 (ver la discusión en el Capítulo 4 de *ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY*, 4ª edición, March, J., John Wiley and Sons, New York City, 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 resto 2-indolinona al resto pirrólico o pueden ser una mezcla de E y Z. Esta invención abarca cualquier forma tautomérica o isomérica estructural y sus mezclas que poseen la capacidad de modular la actividad de la quinasa aurora-2 y no está limitada 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, como en seres humanos, para generar un metabolito que pueda modular la actividad de las proteínas quinasas.

Los compuestos de, o ilustrados por, la presente invención se pueden preparar según los métodos conocidos por los expertos en la técnica, que incluyen los métodos ejemplificados en los ejemplos. En un sentido general, los compuestos de estructura (I) pueden prepararse según el Esquema de Reacción General I

#### Esquema de Reacción General I

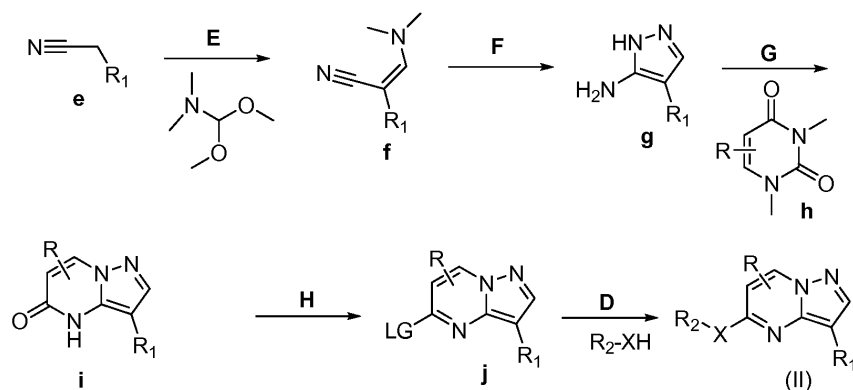


Con referencia al Esquema de Reacción General I, los compuestos de estructura (a) en donde R es como se ha definido anteriormente y LG representa grupos eliminables apropiados (por ejemplo, cloro, bromo y similares) se pueden comprar o preparar según métodos conocidos en la técnica. La reacción de (a) con un aldehído activado tal como 2-bromoacetaldehído, produce condensaciones mediante compuestos cíclicos de estructura (b). La activación de un carbono arílico de (b), por ejemplo mediante tratamiento con bromo, da como resultado (c), en donde "Act" es un grupo activante tal como bromo. La arilación de (c) con R<sub>1</sub>-Y, en donde Y es un grupo activante apropiado, en condiciones apropiadas (por ejemplo, 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 son como se han definido en la presente memoria, da como resultado compuestos de estructura (I). En ciertas realizaciones un catalizador, tal como paladio (por ejemplo, catalizadores de Buchwald y similares), puede ser útil para efectuar la copulación de R<sub>2</sub>-Z y (d). La oxidación opcional o alquilación usando métodos conocidos en la técnica se utilizan para producir compuestos que tienen diversos restos X.

Los compuestos de estructura (II) se pueden preparar según métodos conocidos por los expertos en la técnica, que incluyen los métodos ejemplificados en los ejemplos. Un método general de preparación para compuestos de

estructura (II) se representa en el Esquema de Reacción General II.

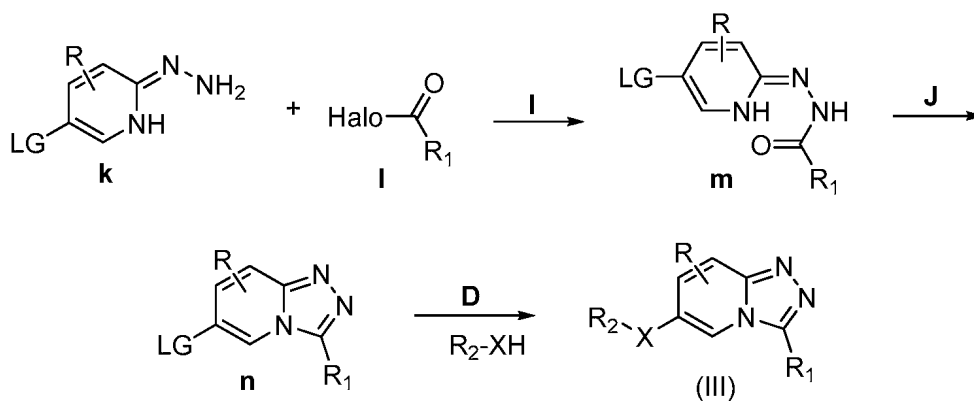
### Esquema de Reacción General II



Con referencia al Esquema de Reacción General II, los nitrilos de estructura (e) se pueden tratar con aminoacetales en condiciones básicas para dar (f). Los compuestos de estructura (f) se pueden hacer reaccionar después con hidrazina en condiciones ácidas (por ejemplo, ácido acético) para producir pirazoles de estructura (g). Después (g) se puede ciclar mediante tratamiento con h en presencia de una base (por ejemplo, etóxido sódico) para producir (i). La reducción de (i) con un reactivo apropiado (por ejemplo,  $\text{POCl}_3$ ) produce (j), en donde LG es un grupo eliminable apropiado (por ejemplo, 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).

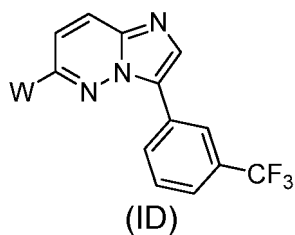
Los compuestos de estructura (III) se pueden preparar según el Esquema de Reacción General III. Los compuestos de estructura k, en donde LG representa un grupo eliminable apropiado tal como bromo, se pueden comprar de fuentes comerciales o prepararse según métodos conocidos en la técnica y/o descritos en la presente memoria. La reacción de k con un haloácido apropiado (por ejemplo, cloruro de ácido) da como resultado compuestos de estructura m. La ciclación de m por tratamiento en condiciones de deshidratación (por ejemplo, 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

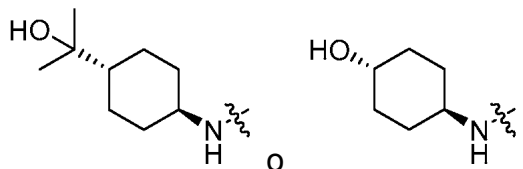


Un experto en la técnica reconocerá que los Esquemas de Reacción General I, II y III anteriores se pueden modificar en cualquier número de etapas y se puede cambiar el orden de las etapas. Además, se pueden utilizar grupos protectores y otras estrategias bien conocidas por los expertos en la técnica,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

Los presentes inventores han descubierto que los compuestos de la presente invención se pueden preparar a gran escala (por ejemplo, más de 50 g) según los procedimientos generales descritos anteriormente. Por consiguiente, en algunas realizaciones específicas la presente invención se dirige a un método para preparar un compuesto que tiene la estructura siguiente (ID):

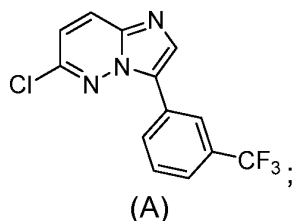


o una sal del mismo, en donde W es



comprendiendo el método:

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



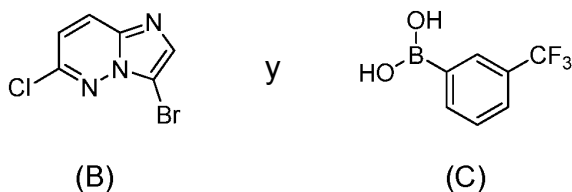
en presencia de CsF; y

- b) aislar (ID) como un sólido,

- 10 en donde W-H indica un radical W (como se ha definido anteriormente) que tiene un átomo de hidrógeno que completa su valencia.

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

En otras realizaciones, (A) se ha preparado por reacción de (B) y (C):

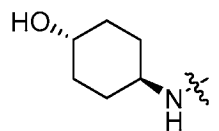


- 15 en presencia de un catalizador de paladio y una base. Por ejemplo, el catalizador de paladio puede ser Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> y/o la base puede ser carbonato potásico.

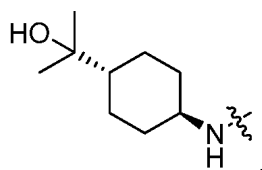
En algunas otras realizaciones, el método comprende además tratar el sólido con un ácido para obtener una sal de (ID). En algunas realizaciones, el ácido es HCl, ácido maleico o ácido metanosulfónico.

- 20 Algunas realizaciones del método anterior comprenden además recrystallizar el sólido en un disolvente, por ejemplo metanol.

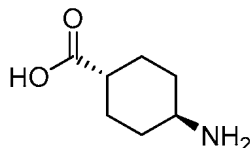
En ciertas realizaciones específicas, en donde W es



En otras realizaciones, W es



En otras realizaciones más, W-H se prepara mediante un método que comprende alquilación de



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

Incluso en otras realizaciones, (ID) se prepara a escalas de 50 gramos o más.

Un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede administrar como tal a un paciente humano o se puede administrar en composiciones farmacéuticas en las que los materiales anteriores se mezclan con vehículos o excipiente(s) adecuados. Técnicas para la formulación y administración de fármacos se pueden encontrar, por ejemplo, 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 sales o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos, con otros componentes químicos, tales como excipientes farmacéuticamente aceptables. La finalidad 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 además la administración de un compuesto. Los ejemplos, sin limitación, de excipientes incluyen carbonato cálcico, fosfato cálcico, 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 propiedades del compuesto original. Tales sales pueden incluir: (1) sal de adición ácida 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, 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 original es reemplazado por un ión metálico, por ejemplo un ión de metal alcalino, un ión alcalinotérreo, o un ión de aluminio; o se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina, y similares.

"Cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto que se administra, que aliviará en cierta medida uno o más de los síntomas del trastorno que se está tratando. Con referencia al tratamiento del cáncer, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a la 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.

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

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

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 la finalidad de prevenir o tratar un trastorno relacionado con proteína quinasas.

- 5 Las vías de administración adecuadas pueden incluir, sin limitación, administración oral, rectal, transmucosa o intestinal, o inyecciones intramusculares, subcutáneas, intramedulares, intratecales, intraventriculares directas, intravenosas, intravítreas, intraperitoneales, intranasales, o intraoculares. En ciertas realizaciones, las vías de administración son la oral e intravenosa.

- 10 Alternativamente, se puede administrar el compuesto de una 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 revestido con anticuerpo específico del tumor. De este modo, los liposomas se pueden dirigir y tomar selectivamente por el tumor.

- 15 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden fabricar por procedimientos bien conocidos en la técnica, por ejemplo por medio de procedimientos convencionales de mezcla, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización.

- 20 Las composiciones farmacéuticas para usar de acuerdo con la presente invención se pueden formular de cualquier modo convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y sustancias auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida.

- 25 Para inyección, los compuestos de la invención se pueden formular en disoluciones acuosas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como disolución de Hanks, disolución de Ringer, o tampón salino fisiológico. Para administración transmucosa, en la formulación se usan penetrantes apropiados a la barrera a permear. Tales penetrantes se conocen generalmente en la técnica.

- 30 Para administración oral, los compuestos se pueden formular combinando los compuestos activos con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Dichos vehículos permiten que los compuestos de la invención se formulen como comprimidos, píldoras, pastillas, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones acuosas espesas, suspensiones y similares, para la ingestión oral por un paciente. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden preparar usando un excipiente sólido, opcionalmente triturando la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir otros auxiliares adecuados si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Excipientes útiles son, en particular, rellenos tales como azúcares, que incluyen lactosa, sacarosa, manitol, o sorbitol, preparaciones de celulosa tales como por ejemplo almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz y almidón de patata y otros materiales tales como gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, y/o poli(vinilpirrolidona) (PVP). Si se desea, se pueden añadir agentes disgregantes, tales como poli(vinilpirrolidona) reticulada, agar, o ácido algínico. También se puede usar una sal tal como alginato sódico.

- 40 Se proporcionan núcleos de grageas con revestimientos adecuados. Con este fin, se pueden usar disoluciones concentradas de azúcar que opcionalmente pueden contener goma arábica, talco, poli(vinilpirrolidona), gel de carboxipol, poli(etilenglicol), y/o dióxido de titanio, disoluciones de laca, y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. Se pueden añadir colorantes o pigmentos a los comprimidos o revestimientos de grageas para identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

- 45 Las composiciones farmacéuticas que pueden usarse por vía oral incluyen cápsulas duras hechas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras pueden contener los principios activos mezclados con un relleno tal como lactosa, un aglutinante tal como almidón, y/o un lubricante tal como talco o estearato magnésico y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los compuestos activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida, o polietilenglicoles líquidos. También se pueden añadir estabilizantes en estas formulaciones. Las composiciones farmacéuticas que también se pueden usar incluyen cápsulas de gelatina dura. 50 Las cápsulas o píldoras se pueden envasar en botellas de vidrio o plástico marrones para proteger el compuesto activo de la luz. Los recipientes que contienen la formulación en cápsulas de compuesto activo se almacenan preferiblemente a temperatura ambiente controlada (15-30°C).

- 55 Para la administración por inhalación, los compuestos a usar según la presente invención se pueden suministrar convenientemente en forma de un pulverizador en aerosol usando un envase a presión o un nebulizador y un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetra-fluoroetano o dióxido de carbono. En el caso de un aerosol a presión, la unidad de dosificación puede controlarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para usar en un inhalador o insuflador, que contienen 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, por ejemplo mediante inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, por ejemplo en ampollas o en recipientes multidosis, con un agente de conservación añadido. Las composiciones

5 pueden tomar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener materiales de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de una forma soluble en agua tal como, sin limitación, una sal del compuesto activo. Además, las suspensiones de los compuestos activos se pueden preparar en un vehículo lipófilo. Los vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales

10 como aceite de sésamo, ésteres de ácidos grasos sintéticos tales como oleato de etilo y triglicéridos, o materiales tales como liposomas. Las suspensiones de inyección acuosa pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol, o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener también estabilizantes y/o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de disoluciones muy concentradas.

15 Alternativamente, el principio activo puede estar en forma de polvo para composición con un vehículo adecuado, por ejemplo agua estéril, libre de pirógenos, antes de usar.

Los compuestos también se pueden formular en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, usando, por ejemplo, bases de supositorios 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. Dichas formulaciones de acción prolongada se pueden administrar mediante implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Un compuesto de esta invención se puede formular para esta vía de administración con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, en una emulsión con un aceite farmacológicamente aceptable), con resinas de intercambio

25 iónico, o como un derivado moderadamente soluble tal como, sin limitación, una sal moderadamente soluble.

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

30 35

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

40

Además, los compuestos pueden administrarse usando un sistema de liberación sostenida, tal 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 utilizar estrategias adicionales para la estabilización de proteínas.

45

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

50

Muchos de los compuestos moduladores de proteína quinasas de la invención se pueden proporcionar como sales fisiológicamente aceptables en donde el compuesto reivindicado puede formar la especie negativa o positivamente cargada. Los ejemplos de sales en las que el compuesto forma el resto cargado positivamente incluyen, sin limitación, amonio cuaternario (definido en otra parte de esta memoria), sales tales como hidrocloreto, sulfato, carbonato, lactato, tartrato, malato, maleato, succinato en donde el átomo de nitrógeno del grupo de 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 especies negativamente cargadas incluyen,

55

sin limitación, las sales sódicas, potásicas, cálcicas y magnésicas formadas mediante la reacción de un grupo ácido carboxílico del compuesto con una base apropiada (por ejemplo hidróxido sódico (NaOH), hidróxido potásico (KOH), hidróxido cálcico (Ca(OH)<sub>2</sub>), etc.).

5 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para usar en la presente invención incluyen composiciones en las que los principios activos están contenidos en una cantidad suficiente para lograr el fin pretendido, por ejemplo, la modulación de la actividad proteína quinasa y/o el tratamiento o prevención de un trastorno relacionado con proteína quinasa.

10 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 se está tratando.

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.

15 Para cualquier compuesto usado en los métodos de la invención, la cantidad o dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Después, la dosificación puede formularse para usar en modelos animales para alcanzar un intervalo de concentración circulante que incluye la IC<sub>50</sub> determinada en cultivo celular (es decir, la concentración del compuesto de prueba que consigue una inhibición semi-máxima de la actividad proteína quinasa). Dicha información se puede usar entonces para determinar con mayor exactitud dosis útiles en seres humanos.

20 La toxicidad y eficacia terapéutica de los compuestos descritos en la presente memoria se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo determinando la IC<sub>50</sub> y la LD<sub>50</sub> (que se discuten en la presente memoria en otro lugar) para un compuesto sujeto de estudio. Los datos obtenidos a partir de estos ensayos de cultivo celular y estudios en animales se pueden usar al formular un intervalo de dosificación para usar en seres humanos. La dosificación puede variar dependiendo de la forma de dosificación utilizada y de la vía de administración utilizada. La formulación exacta, la vía de administración y la dosificación pueden ser elegidas por el médico individual a la vista del estado del paciente. (Ver, por ejemplo, GOODMAN & GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, Cap. 3, 9ª ed., Ed. por Hardman, J., y Limbard, L., McGraw-Hill, New York City, 1996, p. 46.).

25 La cantidad e intervalo de dosificación pueden ajustarse individualmente para proporcionar niveles en plasma de la especie activa que son suficientes para mantener los efectos moduladores de la quinasa. Estos niveles en plasma se denominan concentraciones mínimas efectivas (MECs). La MEC variará para cada compuesto, pero se puede estimar a partir de datos *in vitro*, por ejemplo la concentración necesaria para alcanzar 50-90% de inhibición de una quinasa puede determinarse usando los ensayos descritos en la presente memoria. Las dosis necesarias para lograr la MEC dependerán de las características individuales y vía de administración. Los ensayos de HPLC o bioensayos se pueden usar para determinar las concentraciones en plasma.

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

40 En la actualidad, las cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos de la presente invención pueden variar de aproximadamente 2,5 mg/m<sup>2</sup> a 1500 mg/m<sup>2</sup> por día. Las cantidades ilustrativas adicionales varían entre 0,2-1000 mg/qid (cuatro veces por día), 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 en plasma, y se pueden utilizar otros procedimientos conocidos en la técnica para determinar la cantidad e intervalo de dosificación correctos.

45 La cantidad de una composición administrada dependerá, por supuesto, del sujeto que se está tratando, la gravedad del padecimiento, la forma de administración, el juicio del médico que prescribe, etc.

Las composiciones pueden, si se desea, presentarse en un envase o dispositivo dispensador, tal como un estuche aprobado por la FDA, que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contienen el principio activo. El envase puede comprender, por ejemplo, lámina metálica o de plástico, tal como un envase burbuja (envase blister). El envase o dispositivo dispensador puede ir acompañado de instrucciones de administración. El envase o dispensador también puede ir acompañado de un aviso asociado con el recipiente en un impreso prescrito por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos, aviso que refleja la aprobación por parte de la agencia de la forma de las composiciones o de la administración humana o veterinaria. Tal aviso puede ser, por ejemplo, del etiquetado aprobado por la Administración de Fármacos y Alimentos (FDA) de los EE.UU. para fármacos recetados, o de un prospecto de producto aprobado. Las composiciones que comprenden un compuesto de la invención formulado en un vehículo 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 PIM quinasas de molécula pequeña que reducen el crecimiento de xenoinjertos de tumores sólidos en donde la tumorigenicidad está mediada por la sobre-expresión de PIM-1 ó PIM-2, así como tumores de carcinoma de vejiga humano, tumores de próstata andrógeno-independientes, y modelos de AML (leucemia mieloide aguda) que albergan FLT3 natural o la mutación FLT3-ITD. Aunque sin desear limitarse a la teoría, la combinación de inhibir los tres miembros de la familia PIM conjuntamente en un compuesto puede promover la actividad antitumoral observada.

El trabajo previo de evaluación de carcinoma de vejiga indicó que la PIM-1 se expresó en más del 80% de los tejidos malignos en comparación con epitelios normales, y la expresión se intensificó al comparar muestras derivadas de pacientes de cáncer de vejiga con tumores invasivos frente a no invasivos (Guo, S (2010) J Exp Clin Cancer Res 29: 161). Además, se demostró que la desactivación por shRNA (RNA horquillado corto) de PIM-1 en líneas celulares de carcinoma de vejiga redujo el crecimiento de las células *in vitro*, lo que indica un papel importante de PIM-1 en 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 efectiva por el compuesto en comparación con el silenciamiento mediado por shRNA. El compuesto redujo el crecimiento de xenoinjertos de UM-UC-3 establecidos, lo que sugiere que la sobre-expresión de PIM-1 en tumores de vejiga de pacientes puede ser sensible a la perturbación. Los ejemplos demuestran también que xenoinjertos de cáncer de próstata PC3 fueron inhibidos por un compuesto representativo. Aunque sin desear limitarse a la teoría, ciertas realizaciones de los presentes compuestos pueden inhibir convenientemente la función de PIM quinasa en el ámbito de tumores sólidos mediante la inhibición de las tres PIM quinasas para un efecto antitumoral.

La AML (leucemia mieloide aguda) representa también una importante indicación de interés para selección de dianas con inhibidores de PIM quinasas basados en la sobre-expresión 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, en donde aproximadamente el 25% de los pacientes con AML tienen células tumorales que expresan la mutación conductora FLT3-ITD (Kottaridis PD (2001) Blood 98:1752). En evaluaciones de modelos de líneas celulares de AML para los efectos de inhibidores de PIM quinasas, varios grupos describieron sensibilidad en 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 sobre-expresión de PIM-2 en muestras de pacientes con AML sugiere un vínculo entre malignidad y expresión (Tamburini, J (2009) Blood 114:1618).

Como se muestra en los ejemplos, un compuesto representativo demostró que un aumento, de 5 veces, de la citotoxicidad *in vitro* en las células mutantes FLT3-ITD en comparación con las células que expresan FLT3 de tipo natural se correlacionó con la regresión de xenoinjertos frente a un efecto antitumoral parcial. En consecuencia, se cree que ambas poblaciones de pacientes con AML, basándose en las clases de FLT3, pueden beneficiarse del tratamiento con un inhibidor de PIM quinasas según la presente invención.

Como se mencionó anteriormente, los compuestos y composiciones de la invención encontrarán utilidad en el tratamiento de una amplia gama de enfermedades y estados mediados por proteína quinasas, que incluyen enfermedades y estados mediados por PIM quinasa. Dichas enfermedades pueden incluir, a modo de ejemplo y sin limitación, cánceres tales como cáncer de pulmón, NSCLC (cáncer pulmonar de células no pequeñas), cáncer de células en avena, cáncer de huesos, cáncer de páncreas, cáncer de piel, dermatofibrosarcoma protuberans, cáncer de cabeza y cuello, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer colo-rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, tumores ginecológicos (por ejemplo, sarcomas uterinos, carcinoma de 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 (por ejemplo, cáncer de tiroides, páncreas, paratiroides o glándulas suprarrenales), sarcomas de tejidos blandos, cáncer de la uretra, cáncer de pene, cáncer de próstata (en particular hormonorrefractario), leucemia crónica o aguda, tumores sólidos de la infancia, hipereosinofilia, linfomas linfocíticos, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o uréter (por ejemplo, carcinoma de células renales, carcinoma de la pelvis renal), neoplasias pediátricas, neoplasias del sistema nervioso central (por ejemplo, linfoma primario del SNC, tumores del eje espinal, meduloblastoma, gliomas del tronco encefálico o adenomas pituitarios), esófago de Barret (síndrome premaligno), 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 tal como enfermedad autoinmune y enfermedad renal.

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

Los compuestos de la invención (es decir, los compuestos (I), (II) y (III)) se pueden usar en combinación con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos. La dosificación de los compuestos de la invención puede ajustarse 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 topoisomerasas tales como CAMPTOSAR (irinotecán), modificadores de la respuesta biológica, antihormonas, agentes antiangiogénicos tales como inhibidores de MMP-2, MMP-9 y COX-2, anti-andrógenos, complejos de coordinación de platino (cisplatino, etc.), ureas sustituidas tales como hidroxixiurea; derivados de metilhidrazina, por ejemplo procarbazona; supresores adrenocorticales, por ejemplo mitotano, aminoglutetimida, hormonas y antagonistas de hormonas tales como los adrenocorticosteroides (por ejemplo, prednisona), progestinas (por ejemplo, caproato de hidroxiprogesterona), estrógenos (por ejemplo, dietilestilbesterol), antiestrógenos tales como tamoxifeno, andrógenos, por ejemplo propionato de testosterona, e inhibidores de aromatasa, tales como anastrozol, y AROMASIN (exemestano).

Los ejemplos de agentes alquilantes que se pueden realizar en combinación con el método anterior incluyen, sin limitación, fluorouracilo (5-FU) solo o en combinación adicional con leucovorina; otros análogos pirimidínicos tales como UFT, capecitabina, gemcitabina y citarabina, los alquilsulfonatos, por ejemplo busulfán (usado en el tratamiento de leucemia granulocítica crónica), improsulfán y piposulfán; aziridinas, por ejemplo benzodepa, carboquona, meturedpa y uredepa; etileniminas y metilmelaminas, por ejemplo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilenfosforamida y trimetilolmelamina; y las mostazas nitrogenadas, por ejemplo clorambucilo (usado en el tratamiento de leucemia linfocítica crónica, macroglobulinemia primaria y linfoma no Hodgkin), ciclofosfamida (usada 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, novembriquina (novembrichin), prednimustina y mostaza de uracilo (usados en el tratamiento de trombocitosis primaria, linfoma no Hodgkin, enfermedad de Hodgkin y cáncer de ovario); y triazinas, por ejemplo dacarbazina (usada en el tratamiento de sarcoma de tejido blando).

Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos antimetabolitos que se pueden realizar en combinación con el método anterior incluyen, sin limitación, análogos de ácido fólico, por ejemplo metotrexato (usado en el tratamiento de leucemia linfocítica aguda, coriocarcinoma, micosis fungoide, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello y sarcoma osteogénico) y pteropterina; y los análogos de purinas, tales como mercaptopurina y tioguanina que encuentran uso en el tratamiento de leucemias granulocítica aguda, linfocítica aguda y granulocítica crónica.

Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos basados en productos naturales que se pueden realizar en combinación con el método anterior incluyen, sin limitación, alcaloides de vinca, por ejemplo vinblastina (usada en el tratamiento de cáncer de mama y testicular), vincristina y vindesina; epipodofilotoxinas, por ejemplo etopósido y tenipósido, que son útiles en el tratamiento de cáncer testicular y sarcoma de Kaposi; agentes quimioterapéuticos antibióticos, por ejemplo daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina, mitomicina (usados para tratar el cáncer de estómago, cuello uterino, colon, mama, vejiga y páncreas), dactinomicina, temozolomida, plicamicina, bleomicina (usados en el tratamiento del cáncer de piel, esófago y tracto genitourinario); y 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 útiles de metaloproteinasas de matriz se describen en el documento WO 96/33172 (publicado el 24 de Octubre de 1996), el documento WO 96/27583 (publicado el 7 de Marzo de 1996), la solicitud de patente europea No. 97304971.1 (presentada el 8 de Julio de 1997), la solicitud de patente europea No. 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 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), solicitud internacional PCT No. PCT/IB98/01113 (presentada el 21 de Julio de 1998), solicitud de patente europea No. 99302232.1 (presentada el 25 de Marzo de 1999), solicitud de patente de Gran Bretaña número 9912961.1 (presentada el 3 de Junio de 1999), la patente de EE.UU. No. 5.863.949 (expedida el 26 de Enero de 1999), la patente de EE.UU. No. 5.861.510 (expedida el 19 de Enero de 1999), y la publicación de patente europea 780.386 (publicada el 25 de Junio de 1997). Inhibidores preferidos de MMP-2 y MMP-9 son los que tienen poca o ninguna actividad inhibidora de MMP-1. Más preferidos son los que inhiben selectivamente MMP-2 y/o MMP-9 en relación con 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 de: ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil]-(1-hidroxycarbamoil-ciclopentil)-amino]-propiónico; hidroxiamida del ácido 3-exo-3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octano-3-carboxílico; hidroxiamida del ácido (2R,3R) 1-[4-(2-cloro-4-fluoro-benciloxi)-bencenosulfonil]-3-hidroxi-3-metil-piperidin-2-carboxílico; hidroxiamida del ácido 4-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-tetrahidro-piran-4-carboxílico; ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil]-(1-hidroxycarbamoil-ciclobutil)-amino]-propiónico;

hidroxiamida del ácido 4-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-tetrahidro-piran-4-carboxílico; hidroxiamida del ácido (R) 3-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-tetrahidro-piran-3-carboxílico; hidroxiamida del 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-hidroxycarbamoil-1-metil-etil)-amino]-propiónico; ácido 3-[[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonil]-(4-hidroxycarbamoil-tetrahidro-piran-4-il)-amino]-propiónico; hidroxiamida del ácido 3-exo-3-[4-(4-cloro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octano-3-carboxílico; hidroxiamida del ácido 3-endo-3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-8-oxa-biciclo[3.2.1]octano-3-carboxílico; e hidroxiamida del ácido (R) 3-[4-(4-fluoro-fenoxi)-bencenosulfonilamino]-tetrahidro-furan-3-carboxílico; y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de estos compuestos.

- 10 Otros agentes anti-angiogénesis, otros inhibidores de COX-II y otros inhibidores de MMPs se pueden usar también en la presente invención.

Un compuesto de la invención se puede usar también con otros inhibidores de transducción de señales, tales como agentes que pueden inhibir las respuestas del EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico), tales como anticuerpos EGFR, anticuerpos EGF, y moléculas que son inhibidores del EGFR; inhibidores del 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). 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 el 9 de Abril de 1998), el documento WO 98/02434 (publicado el 22 de Enero de 1998), y la patente de EE.UU. No. 5.747.498 (expedida el 5 de Mayo de 1998), y dichas sustancias se pueden usar en la presente invención como se describe en la presente memoria.

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

Estos y otros agentes inhibidores del EGFR se pueden usar en la presente invención. Inhibidores del VEGF, por ejemplo SU-5416 y SU-6668 (Sugen Inc., South San Francisco, CA), se pueden combinar también con un compuesto de la invención. Se describen inhibidores del VEGF en, por ejemplo, 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 EE.UU. No. 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 EE.UU. No. 5.883.113 (expedida el 16 de Marzo de 1999), la patente de EE.UU. No. 5.886.020 (expedida el 23 de Marzo de 1999), la patente de EE.UU. No. 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 98/02437 (publicado el 22 de Enero de 1998). Otros ejemplos de algunos inhibidores específicos del VEGF 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 del VEGF se pueden usar en la presente invención como se describe en la presente memoria. 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 EE.UU. No. 5.587.458 (expedida el 24 de Diciembre de 1996), y la patente de EE.UU. No. 5.877.305 (expedida el 2 de Marzo de 1999). Inhibidores del receptor ErbB2 útiles en la presente invención se describen también en la patente de EE.UU. No. 6.284.764 (expedida el 4 de Septiembre de 2001), incorporada en su integridad en la presente memoria por referencia. Los compuestos y sustancia inhibidores del receptor erbB2 descritos en las solicitudes PCT antes mencionadas, patentes de EE.UU., y solicitudes provisionales de EE.UU., así como otros compuestos y sustancias que inhiben el receptor erbB2, se pueden usar con un compuesto de la invención de acuerdo con la presente invención.

Un compuesto de la invención se puede usar también con otros agentes útiles en el tratamiento del cáncer, que incluyen, pero no se limitan a, agentes capaces de mejorar las respuestas inmunes antitumorales, tales como anticuerpos CTLA4 (antígeno 4 de linfocito citotóxico), y otros agentes capaces de bloquear CTLA4; y agentes anti-proliferativos tales como otros inhibidores de la farnesil-proteín transferasa, por ejemplo los inhibidores de farnesil-proteín transferasa descritos en las referencias citadas en la sección "Antecedentes", de la patente de EE.UU. No 6.258.824 B1.

El método anterior se puede realizar también en combinación con radioterapia, en donde la cantidad de un

compuesto de la invención en combinación con radioterapia es eficaz en el tratamiento de las enfermedades anteriores.

Se conocen en la técnica procedimientos para la administración de radioterapia, y estos procedimientos se pueden usar en la terapia de combinación descrita en la presente memoria. La administración del compuesto de la invención en esta terapia de combinación se puede determinar como se describe en la presente memoria.

Las Pim quinasas también juegan un papel en la regulación inmune y estados inflamatorios. En consecuencia, una realización de la invención se dirige a métodos para el tratamiento de un trastorno, enfermedad o afección autoinmune o inflamatoria mediada por Pim quinasa. Los métodos descritos comprenden administrar una cantidad eficaz de cualquiera de los compuestos descritos a un mamífero, por ejemplo un mamífero que necesita tratamiento para una enfermedad, trastorno o afección inflamatoria o autoinmune. Las enfermedades, trastornos o afecciones inflamatorias tratables según los métodos descritos incluyen, pero no se limitan a: osteoartritis, artritis reumatoide, dolor, enfermedades inflamatorias del intestino, trastornos respiratorios, trastornos de la piel o sus combinaciones.

En algunas realizaciones, las enfermedades inflamatorias del intestino se seleccionan de la enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, síndrome de intestino irritable y sus combinaciones.

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

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

Aunque los compuestos y composiciones de la invención encuentran utilidad en una amplia gama de enfermedades y afecciones, que incluyen las descritas anteriormente, algunas realizaciones incluyen compuestos que tienen efectos secundarios reducidos en comparación con otros agentes terapéuticos conocidos. Uno de tales efectos secundarios puede incluir la inhibición del hERG. hERG (gen humano relacionado con el *eter-a-go-go*) es un gen que codifica una proteína que contribuye a la actividad eléctrica del corazón. Algunos candidatos a fármacos con éxito clínico tienen la tendencia a inhibir el hERG, lo que puede comprometer la actividad eléctrica del corazón y puede dar como resultado un trastorno potencialmente mortal 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 inhibición sustancial concomitante del hERG, pueden ser ventajosos en ciertos métodos de tratamiento. En consecuencia, ciertas realizaciones de la presente invención incluyen compuestos que tienen una IC<sub>50</sub> de inhibición de hERG superior a 1  $\mu$ M, superior a 10  $\mu$ M, superior a 30  $\mu$ M o incluso superior a 50  $\mu$ M (según lo determina 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 quinasas descritas anteriormente.

La invención se entenderá mejor con la consideración de los siguientes ejemplos no limitantes.

### Ejemplos

Los compuestos ilustrativos y representativos de la presente invención se sintetizaron según los procedimientos de síntesis detallados en la presente memoria.

Todos los disolventes y reactivos estaban disponibles de los productos químicos Aldrich o VWR y se usaron como se suministraron o se purificaron por métodos de laboratorio estándar según era necesario. Los espectros de RMN se registraron en un Varian Unity a 400 MHz (<sup>1</sup>H) a 25°C. Los desplazamientos químicos se indican en ppm y se refieren internamente a CHCl<sub>3</sub> residual para (d 7,26) o CH<sub>3</sub>OH para (d 3,33). Se realizó espectrometría de masas de baja resolución mediante las instalaciones del Centro de Espectrometría de Masas y Proteómica en la Universidad de Utah. Se realizó cromatografía flash en Combiflash (Yamazen) con columna de gel de sílice de fase normal (RediSep) y sistema disolvente de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH. En TLC (cromatografía en capa fina) se usaron láminas de aluminio pre-revestidas con gel de sílice.

### Anticuerpos y reactivos

PIM-1, PIM-2 y anticuerpos actina se adquirieron de Cell Signaling Technology (Danvers, MA) (Cat #3247, 4730 y 3700). Anticuerpos secundarios anti-conejo de cabra IRDye 800CW y anti-ratón de cabra IRDye 680 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, Germany), y la línea celular 22RV1 de la sobre-expresión de PIM-1 se obtuvo con licencia del laboratorio de Anjali Jain, Ph.D. (Cedars Sinai, CA). Las líneas celulares NIH-3T3 de sobre-expresión de PIM-2 se generaron en Epoch Life Science (Missouri City, TX) mediante la transfección de la línea celular NIH-3T3 con un plásmido de sobre-expresión de PIM-2 que codifica un gen de resistencia a neomicina y seleccionando una

combinación estable resistente a G418. Los plásmidos de PIM-1, PIM-2 y BAD se obtuvieron de Origene (Rockville, MD). Se adquirieron partículas lentivirales de shRNA humano de la colección Sigma-Aldrich MISSION (St. Louis, MO). Para cultivo celular, los medios RPMI 1640 y EMEM con glutamina se complementaron con suero bovino fetal al 10% y penicilina-estreptomicina 1X (Life Technologies, Grand Island NY). Se adquirió ATPlite de Perkin Elmer (Shelton, CT).

#### Ensayos celulares

Se sembraron células HEK-293 ( $1 \times 10^4$ ) en una placa de 96 pocillos usando medios EMEM con suero y se incubaron durante la noche a 37°C en CO<sub>2</sub> al 5%. Se transfectaron células adherentes al día siguiente usando Effectene (Qiagen) con 0,1 µg de BAD + 300 pg de plásmidos de sobre-expresión de PIM-1 o PIM-1 KD (K67M) durante 18 horas. Las células se privaron de suero durante 18 horas adicionales, después se trataron 2 horas con diversas concentraciones de SGI-9481 o control de DMSO vehicular al 0,5%. Los medios se separaron y las células se lisaron usando 25 µl de tampón de lisis 1X del estuche AlphaScreen SureFire Phospho-BAD (Ser112) de Perkin Elmer. Los lisados (4 µl) se transfirieron a una proxiplaca de 384 pocillos, y se añadieron 5 µl de mezcla aceptora a cada pocillo y se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente. Se añadió mezcla donante (2 µl) a cada pocillo, y las muestras se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente y las reacciones se midieron en un lector de placas Envision (PerkinElmer) con capacidades AlphaScreen. Las fosforilación no específica de BAD se sustrajo usando valores de células transfectadas con PIM-1 KD, y los pocillos restantes se normalizaron a los pocillos control con DMSO. Los valores de EC<sub>50</sub> se calcularon usando el software GraphPad Prism (La Jolla, CA).

#### Análisis por transferencia western

Los lisados de proteínas se prepararon a partir de células usando 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 proteasas 1X, cóctel I y II inhibidor de fosfatasas 1X (Sigma)). Las células se incubaron con tampón de lisis durante 20 minutos en hielo, se centrifugaron a 13000 x g durante 5 min a 4°C, y el lisado aclarado se cuantificó usando el estuche de ensayo de proteínas BCA (Thermo Scientific, Rockford, IL). Proteína (10 µg) de células que sobre-expresan PIM-1 y PIM-2 y controles parentales coincidentes o 50 µg de proteína de células UM-UC-3 48 horas después de la transducción se cargaron en un gel Novex NuPAGE Bis-Tris al 4-12%, se transfirieron a membrana de nitrocelulosa usando un sistema de transferencia iBlot. Las membranas se probaron con anticuerpos contra PIM-1, PIM-2 o actina, después se probaron con anticuerpos secundarios IRDye de conejo o ratón y se formaron imágenes en un sistema de formación de imágenes de fluorescencia Odyssey (LI-COR).

#### Transducción de shRNA (RNA horquillado corto)

Se sembraron células UM-UC-3 ( $2,5 \times 10^5$ ) en una placa de 6 pocillos en medio RPMI 1640 completo, y se dejaron adherir durante la noche a 37°C en CO<sub>2</sub> al 5%. Las células se transdujeron con 8 µg/mL de polibreno (Sigma-Aldrich) y partículas lentivirales a una MOI (multiplicidad de infección) de 50 sobre la base de los valores de título predeterminados por Sigma-Aldrich usando un ELISA p24 para cada lote de shRNA. Después de la transducción durante la noche, se retiró el medio que contenía partículas virales y se reemplazó con medio completo de nueva aportación, y las células se cultivaron durante 48 horas adicionales a 37°C en CO<sub>2</sub> al 5%. Las células se tripsinizaron y las fracciones de las células transducidas se recogieron para los ensayos de crecimiento con formación de colonias, mientras que las células restantes se recogieron para aislamiento de RNA y proteínas.

#### RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa)

Se aisló RNA de  $0,5 \times 10^6$  células en un QIAcube (Qiagen, Santa Clarita, CA) usando el protocolo para la purificación de RNA total de células animales (homogeneización QIAshredder y digestión de DNasa en columna), y se cuantificó usando un espectrofotómetro Nanodrop 8000 (Thermo Electron, West Palm Beach, FL). El RNA total (1 µg) se convirtió en cDNA en una reacción de 20 µl usando el estuche iScript de síntesis de cDNA (Bio-Rad, Hercules, CA) incubando los componentes de la reacción durante 5 minutos a 25°C, 30 minutos a 42°C, seguido por 5 minutos a 85°C. La reacción de cDNA (2 µl) se usó en una reacción multiplex de PCR de 20 µl utilizando grupos de iniciadores Taqman de PIM-1 marcada con FAM, de actina marcada con VIC 1X y la mezcla maestra de expresión genética Taqman de Life Technologies en una máquina de PCR en tiempo real iQ5 (Bio-Rad). Se generó una curva estándar semi-logarítmica de 8 puntos para mensajes de PIM-1 y actina usando RNA de células no tratadas. Se generó una línea de tendencia lineal (con un valor de R al cuadrado >0,99) representando las concentraciones logarítmicas de los valores estándar frente a los valores de Ct generados a partir de las reacciones de PCR en tiempo real. Los niveles relativos de mensajes de muestras tratadas con shRNA se calcularon basados en la curva estándar, se normalizaron a la actina y se compararon con el control de shRNA no diana.

#### Ensayo de formación de colonias

Para los experimentos de crecimiento con shRNA, 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 disolución de violeta cristal (violeta cristal al 1%, etanol al 10% en agua). Las células teñidas se lavaron tres veces con agua, y se obtuvieron imágenes después del secado en un contador de colonias GelCount (Oxford Optronix Ltd., Oxford, UK).

La intensidad total de tinción 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 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 IC<sub>50</sub> se determinaron usando el software GraphPad Prism. Para PC-3 y UM-UC-3 tratados con compuesto, las células se sembraron y tiñeron como anteriormente, pero se incubaron con diversas concentraciones de compuesto de prueba o DMSO un día después de la siembra.

#### Ensayo de proliferación

Se sembraron líneas celulares de cáncer adheridas 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 fármaco el mismo día que la siembra, mientras que las células adherentes se incubaron durante la noche a 37°C en CO<sub>2</sub> al 5% antes del tratamiento con fármaco. Todas las células se trataron durante 72 horas, después se lisaron con ATPlite (Perkin Elmer) y se midieron en un lector de microplacas Envision. Los valores de IC<sub>50</sub> se determinaron usando el software GraphPad Prism.

#### Estudios de xenoinjertos tumorales

Se adquirieron ratones Nu/Nu machos y hembras de Harlan Sprague Dawley (Indianapolis, IN). Se usaron ratones hembra Nu/Nu para todas las evaluaciones de xenoinjertos, con la excepción de los xenoinjertos PC-3 en donde se usaron ratones machos. Las líneas celulares se expandieron *in vitro* en medio completo, y si eran adherentes se recogieron mediante tripsina-EDTA, se centrifugaron y se volvieron a suspender en PBS 1:1 con Matrigel (BD Biosciences). Las células se inoculaban por vía subcutánea en el flanco posterior derecho de los ratones. Cuando los tumores alcanzaron 100-200 mm<sup>3</sup> por medición con calibrador, los ratones se aleatorizaron y la dosificación de SGI-9481 o control vehicular comenzó y continuó todos los días durante 5 días (QDx5) con 2 días de descanso durante 18-21 días. Los volúmenes tumorales y pesos corporales se determinaron dos veces por semana, y los pesos tumorales se midieron al finalizar los estudios de xenoinjerto traslacional.

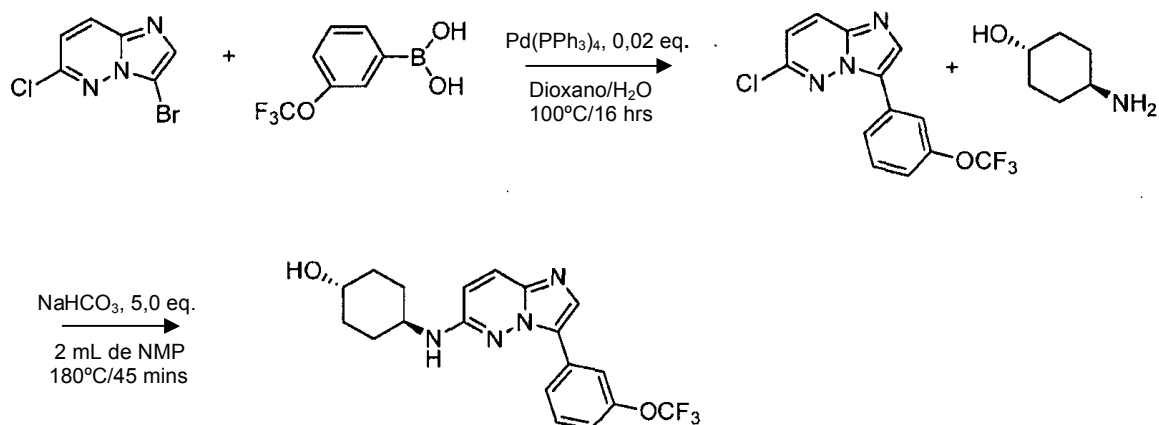
#### Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante prueba ANOVA paramétrica.

#### Ejemplo 1

SÍNTESIS DE INHIBIDORES ILUSTRATIVOS DE PIM-1 QUINASA. Los compuestos 8-10, 8-31, 8-37, 8-47, 8-56, 8-75 to 8-77, 8-82, 8-98, 8-101 y 8-109 están dentro del alcance de las reivindicaciones.

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



**EJ. 8-1**

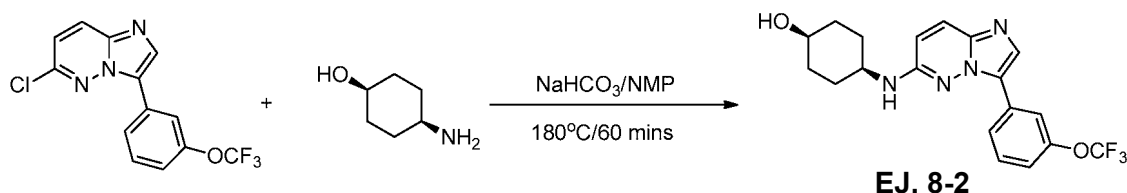
Se preparó 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina según los procedimientos descritos en la patente de EE.UU. No. 7.750.007, que se incorpora en esta memoria por referencia en su integridad. A una disolución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (5 g, 21,5 mmoles) y ácido 3-(trifluorometoxi)fenilborónico (4,43 g, 21,5 mmoles) en dioxano/H<sub>2</sub>O (100 mL, 4:1) se añadió 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 disolución 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 por cromatografía en columna para dar el compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (3,2 g, con pureza de 63%, rendimiento de 30%) como un sólido marrón.

A una disolución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,64 mmoles) e hidrocloruro

de trans-4-aminociclohexanol (184 mg, 1,59 mmoles) en NMP (2,0 mL) se añadió NaHCO<sub>3</sub> (161 mg, 1,91 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar 4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (50 mg, 0,127 mmoles, 16%) como un sólido amarillo pálido.

- 5 <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>/400 MHz): δ 8,49 (s, 1H), 8,34 (brs, 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, 4H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 393,4.

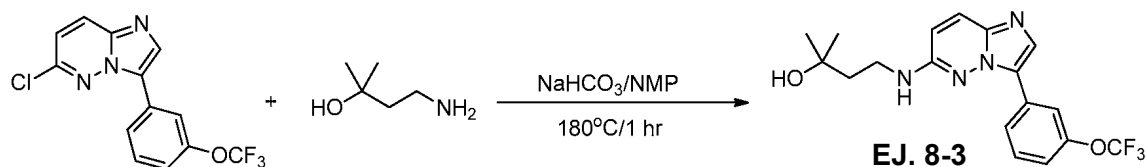
2. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino) - cis-ciclohexanol (EJ. 8-2).



- 10 A una disolución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,64 mmoles) e hidrocloreto de cis-4-aminociclohexanol (367 mg, 3,19 mmoles) en NMP (2,0 mL) se añadió NaHCO<sub>3</sub> (268 mg, 3,19 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar 4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (80 mg, 32%) como un sólido amarillo pálido.

- 15 <sup>1</sup>H-NMR (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 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,75 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,88 (m, 2H), 1,79 (m, 8H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 393,4.

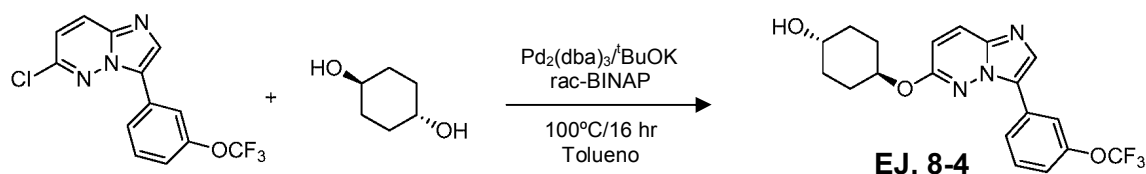
3. 2-Metil-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)butan-2-ol (EJ. 8-3).



- 20 A una disolución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (300 mg, 0,96 mmoles) e hidrocloreto de 4-amino-2-metilbutan-2-ol (493 mg, 4,78 mmoles) en NMP (2,0 mL) se añadió NaHCO<sub>3</sub> (516 mg, 4,78 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar 2-metil-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)butan-2-ol (175 mg, 48%) como un sólido amarillo pálido.

- 25 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 9,30 (s, 1H), 8,05 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,61 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 7,51 (t, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,20 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,71 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,88 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,89 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,26 (s, 6H). MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 381,5.

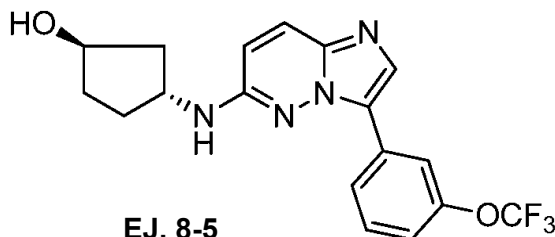
4. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)oxi)-trans-ciclohexanol (EJ. 8-4).



- 30 A una disolución 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 añadió *tert*-butóxido potásico (0,165 g, 1,72 mmoles), *rac*-BINAP (36 mg, 0,057 mmoles) y Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (26 mg, 0,029 mmoles) y la mezcla se calentó a 120°C durante 4 h bajo irradiación por microondas. La disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando 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%).

- 35 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 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 Hz, 1H), 7,25 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 6,85 (d, *J* = 9,6 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 (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 394,5.

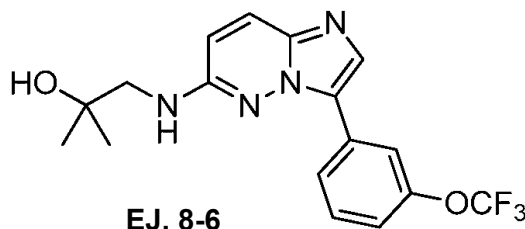
5. (1R,3R)3-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridan-6-il)amino)ciclopentanol (EJ. 8-5).



El EJ. 8-5 se preparó mediante procedimientos similares a los del EJ. 8-1 usando trans-3-aminociclopentanol.

5  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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, 3H), 1,58 (m, 1H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 379,5.

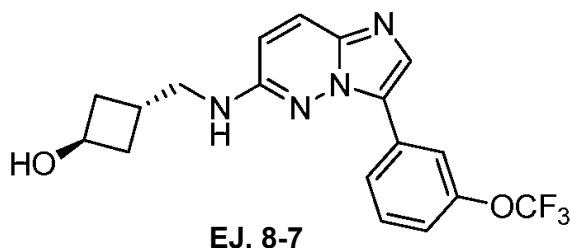
6. 2-Metil-1-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)propan-2-ol (EJ. 8-6).



10 A la disolución del compuesto 1-amino-2-metilpropan-2-ol (55 mg, 0,57 mmoles) y del compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (150 mg, 0,48 mmoles) en 3 mL de DMSO se añadió DIEA (0,21 mL, 0,96 mmoles) y 10 mg de CsF, el disolvente se agitó durante 5 h a 120°C. Después la mezcla se purificó por HPLC para proporcionar el compuesto 2-metil-1-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)propan-2-ol (25 mg, 12%) como un sólido blanco.

15  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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,  $J = 6\text{ Hz}$ , 6H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 367,4.

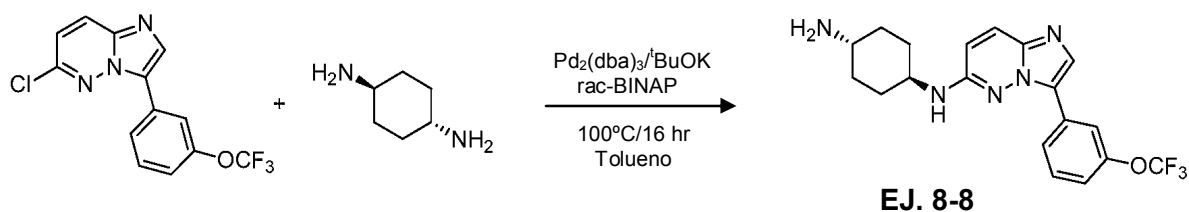
7. 3-(((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)-trans-ciclobutanol (EJ. 8-7).



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

20  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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, 5H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 379,5.

8. (3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-trans-1,4-diamina (EJ. 8-8).

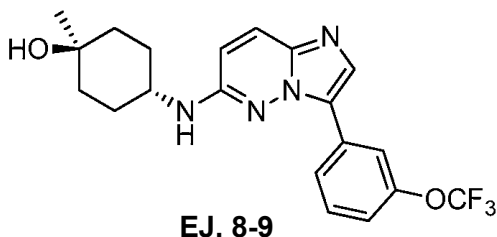




A una disolución de piridazina (0,3 g, 0,96 mmoles) y 1,4-trans-ciclohexanodiamina (0,11 g, 0,96 mmoles) en 5 mL de tolueno se añadió *tert*-butoxido potásico (0,165 g, 1,72 mmoles), *rac*-BINAP (36 mg, 0,057 mmoles) y Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (26 mg, 0,029 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante 16 h bajo irradiación por microondas. La disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando 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, rendimiento de 45%).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,30 (s, 1H), 8,00 (m, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,60 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,50 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,21 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 6,68 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,68 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,24 (m, 2H), 1,98 (m, 2H), 1,33 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 375,4.

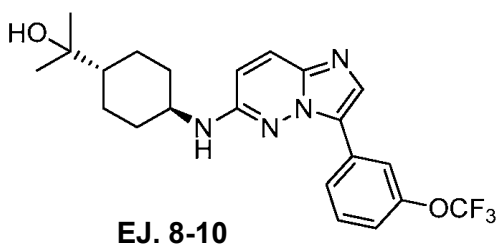
9. 1-Metil-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (EJ. 8-9).



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

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,23 (s, 1H), 7,93 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,42 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 6,60 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,77 (m, 1H), 2,09 (m, 2H), 1,72 (m, 2H), 1,45 (m, 4H), 1,30 (s, 3H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 407,5.

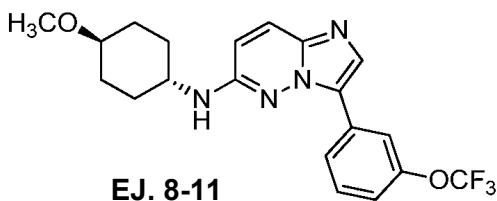
10. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (EJ. 8-10).



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

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,45 (s, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,59 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,50 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,21 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,68 (d, *J* = 10,0 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, 6H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 435,6.

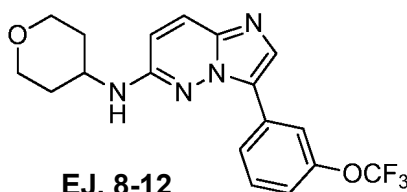
11. 4-(trans-Metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (EJ. 8-11).



El EJ. 8-11 se preparó mediante procedimientos similares a los del EJ. 8-1 usando trans-4-metoxiciclohexanamina.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,40 (s, 1H), 8,02 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,63 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,72 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,76 (m, 1H), 3,39 (s, 6H), 3,30 (m, 1H), 2,27 (m, 2H), 2,15 (m, 2H), 1,40 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 407,6.

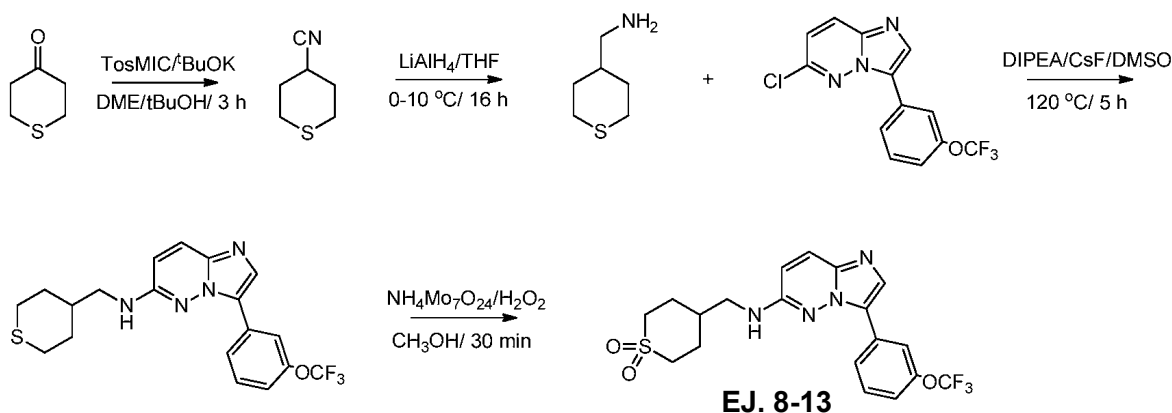
12. N-(Tetrahydro-2H-piran-4-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (EJ. 8-12).



El EJ. 8-12 se preparó mediante procedimientos similares a los del EJ. 8-1 usando tetrahidro-2H-piran-4-amina.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,37 (s, 1H), 7,95 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,63 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,52 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,23 (m, 1H), 6,72 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 3,98 (m, 5H), 2,11 (m, 2H), 1,59 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 379,5.

13. 4-(((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopiran 1,1-dióxido (EJ. 8-13).



Una mezcla del compuesto dihidro-2H-tiopiran-4(3H)-ona (0,75 g, 6,46 mmoles) y TosMIC (isocianuro de toluensulfonilmetilo) (0,138 g, 7,11 mmoles) en DME (25 mL) se enfrió a 0°C y se añadió gota a gota una disolución de *tert*-butóxido potásico (0,145 g, 12,9 mmoles) en *tert*-butanol (13 mL). La mezcla se dejó calentar después a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h antes de la dilución con DCM, se lavó con bicarbonato sódico saturado y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Separación del disolvente a vacío para proporcionar el compuesto tetrahidro-2H-tiopiran-4-carbonitrilo (1 g, sin purificar) como un aceite marrón pálido.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 7,98-7,94 (m, 1H), 7,44-7,43 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,37-7,34 (m, 1H).

Se enfrió bajo N<sub>2</sub> a 0°C LiAlH<sub>4</sub> (45 mg, 11,8 mmoles) en 15 mL de THF. El embudo de adición se cargó con 10 mL del compuesto tetrahidro-2H-tiopiran-4-carbonitrilo (1 g, 8 mmoles) en 5 mL de THF, la velocidad de adición se ajustó para mantener la temperatura por debajo de 10°C. La mezcla de reacción se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió después a aproximadamente 5°C y se añadió Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·10H<sub>2</sub>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 filtrado se combinó y se concentró para proporcionar el compuesto (tetrahidro-2H-tiopiran-4-il)metanamina (150 mg, sin purificar) como un aceite amarillo.

A la disolución del compuesto (tetrahidro-2H-tiopiran-4-il)metanamina (150 mg, 1,14 mmoles) y del 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. Después la mezcla se purificó por HPLC para proporcionar el compuesto N-((tetrahidro-2H-tiopiran-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (26 mg, 30%) como un aceite amarillo.

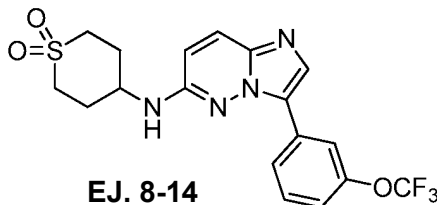
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,29 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,98-7,95 (m, 2H), 7,64-7,60 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,41-7,39 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,25-7,23 (d, J = 10 Hz, 1H), 3,24-3,22 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 2,68-2,55 (m, 4H), 2,14-2,10 (m, 2H), 1,80-1,78 (t, J = 3,2 Hz, 1H), 1,44-1,37 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 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 CH<sub>3</sub>OH (10 mL). Una disolución de (NH<sub>4</sub>)Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> (84 mg, 0,07 mmoles) en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (290 mg, 2,56 mmoles) se añadió a la mezcla gota a gota. Después de agitar durante 30 min, el disolvente se separó y se purificó por columna para proporcionar el compuesto 4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopiran 1,1-dióxido (23 mg, 30%) como un sólido amarillo.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,20 (s, 1H), 7,90-7,87 (m, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,56-7,53 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,44-7,40

(t,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,14-7,12 (m, 1H), 6,65-6,62 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 3,25-3,20 (m, 2H), 3,02-2,95 (m, 4H), 2,15-2,11 (d,  $J = 12,8$  Hz, 2H), 2,08-1,95 (m, 1H), 1,81-1,69 (m, 2H), MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 441,5.

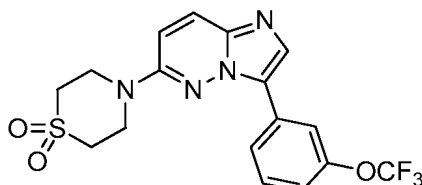
14. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)tetrahidro-2H-tiopiran 1,1-dióxido (EJ. 8-14).



5 El EJ. 8-14 se preparó mediante procedimientos similares a los del EJ. 8-1 usando 4-aminotetrahidro-2H-tiopiran 1,1-dióxido.

$^1H$ -NMR ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  8,20 (s, 1H), 8,01 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,67 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,55 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,23 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 6,75 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,20 (m, 4H), 2,48 (m, 2H), 2,24 (m, 2H), MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 441,5.

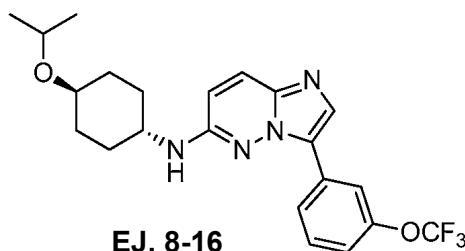
10 15. 4-(3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)tiomorfolina 1,1-dióxido (EJ. 8-15).



El EJ. 8-15 se preparó mediante procedimientos similares a los del EJ. 8-1 usando tiomorfolina 1,1-dióxido.

15  $^1H$ -NMR ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  8,10 (s, 1H), 7,98 (m, 2H), 7,89 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,57 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,31 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H), 7,26 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 4,18 (t,  $J = 6,4$  Hz, 4H), 3,21 (t,  $J = 6,4$  Hz, 4H), MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 413,4.

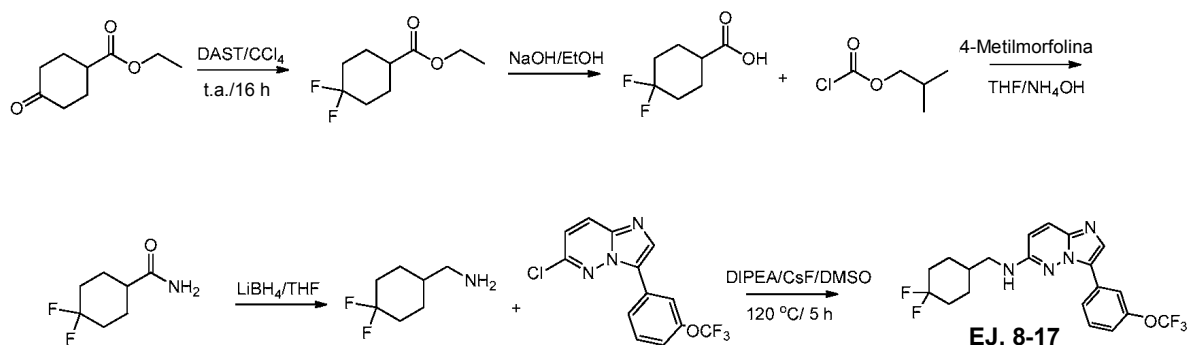
16. 4-(trans-Isopropoxiciclohexil)-3-(3 (trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (EJ. 8-16).



El EJ. 8-16 se preparó por procedimientos similares a los del EJ. 8-1 usando *trans*-4-isopropoxiciclohexanamina.

20  $^1H$ -NMR ( $CD_3OD/400$  MHz):  $\delta$  8,35 (s, 1H), 7,98 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,59 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 7,51 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,20 (d,  $J = 7,0$  Hz, 1H), 6,68 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 3,45 (m, 1H), 3,42 (m, 2H), 2,02 (m, 2H), 1,33 (m, 2H), 1,14 (d,  $J = 6,0$  Hz, 6H), MS ( $ES^+$ ,  $m/z$ ): ( $M+H$ ) $^+$ : 435,5.

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



A una disolución de DAST (7,7 mL) en 75 mL de CCl<sub>4</sub> se añadió el compuesto 4-oxociclohexanocarboxilato de etilo (5 g, 29 mmoles) gota a gota a 0°C, después la mezcla se agitó durante 16 h a t.a., se añadió agua lentamente y la fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se destiló para proporcionar el compuesto 4,4-difluorociclohexanocarboxilato de etilo (4,2 g, 71%) como un aceite incoloro.

Una disolución 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°C, y la mezcla se dejó calentar a t.a. y se agitó durante 18 h. La mezcla se diluyó con agua y el pH se ajustó a 3-4 con HCl 6 N. La mezcla se extrajo con tolueno, se secó y se concentró para dar el compuesto del título, ácido 4,4-difluorociclohexanocarboxílico (3,4 g, 94%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 2,28-2,27 (m, 1H), 2,22-2,20 (m, 1H), 2,08-2,02 (m, 3H), 1,99-1,94 (m, 3H), 1,19 (s, 1H).

A una disolución del compuesto ácido 4,4-difluorociclohexanocarboxílico (3,5 g, 21 mmoles) en 80 mL de THF, se añadió 4-metilmorfolina (2,51 g, 21 mmoles) a -70°C, seguido por clorocarbonato de isobutilo (2,85 g, 21 mmoles). 30 min más tarde, se añadieron 10 mL de hidróxido amónico. La mezcla resultante se dejó calentar hasta 0°C. Tras la separación de todos los disolventes, el residuo se lavó con agua, PE para proporcionar el compuesto 4,4-difluorociclohexanocarboxamida (1,82 g, 40%) como un sólido blanco.

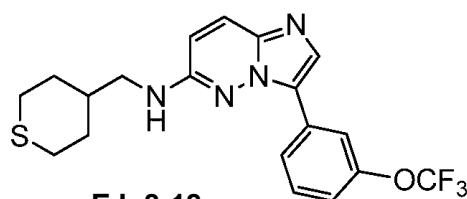
<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>/400 MHz): δ 7,26 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 2,25-2,15 (m, 1H), 2,05-1,95 (m, 2H), 1,80-1,75 (m, 4H), 1,57-1,53 (m, 2H).

A una disolución del compuesto 4,4-difluorociclohexanocarboxamida (1,8 g, 13 mmoles) en 100 mL de THF se añadió LiBH<sub>4</sub> (1,1 g, 50 mmoles) bajo N<sub>2</sub> agitada durante la noche. Después la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 4 h. Tras enfriar a t.a., se vertió lentamente en agua helada. Después de la filtración, el producto se extrajo del filtrado con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y condensaron para proporcionar el compuesto (4,4-difluorociclohexil)metanamina (0,8 g, sin purificar) como un aceite incoloro.

A la disolución del compuesto (4,4-difluorociclohexil)metanamina (100 mg, 6 mmoles) y del compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (190 mg, 6 mmoles) en 3 mL de DMSO se añadió DIEA (0,21 mL, 12 mmoles) y 10 mg de CsF, el disolvente se agitó durante 5 h a 120°C. Después la mezcla se purificó mediante HPLC para proporcionar el compuesto N-((4,4-difluorociclohexil)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (21 mg, 10%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,35 (s, 1H), 7,94-7,91 (t, J = 13,2 Hz, 1H), 7,93-7,82 (d, J = 4 Hz, 1H), 7,62-7,60 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 7,49-7,46 (m, 1H), 7,20-7,18 (t, J = 2,8 Hz, 1H), 7,73-7,69 (d, 1H), 3,26-3,22 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,05 (s, 1H), 2,02 (s, 2H), 1,93-1,65 (m, 4H), 1,38-1,22 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 427,4.

18. N-((tetrahydro-2H-tioplan-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (EJ. 8-18).

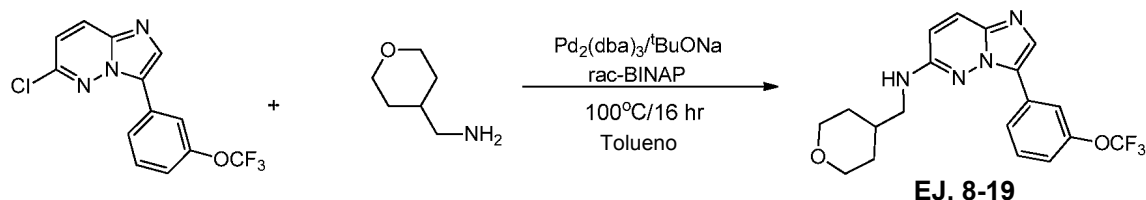


A la disolución del compuesto (tetrahydro-2H-tioplan-4-il)metanamina (150 mg, 1,14 mmoles) y del compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (358 mg, 1,14 mmoles) en 3 mL de DMSO se añadió DIEA (0,22 mL, 2,28 mmoles) y 10 mg de CsF, el disolvente se agitó durante 5 h a 120°C. Después la mezcla se purificó

mediante HPLC para proporcionar el compuesto *N*-((tetrahydro-2H-tiopian-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (26 mg, 30%) como un aceite amarillo.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,29 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,98-7,95 (m, 2H), 7,64-7,60 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,41-7,39 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,25-7,23 (d, J = 10 Hz, 1H), 3,24-3,22 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 2,68-2,55 (m, 4H), 2,14-2,10 (m, 2H), 1,80-1,78 (t, J = 3,2 Hz, 1H), 1,44-1,37 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 409,5.

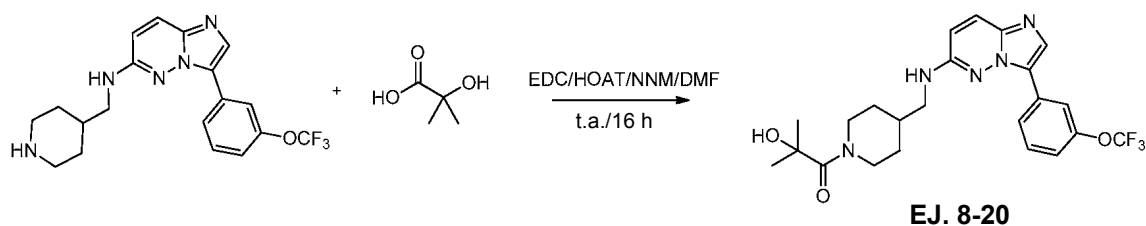
19. *N*-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (EJ. 8-19).



En un vial de 20 ml se combinaron 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), *tert*-butóxido sódico (0,172 g, 1,785 mmoles), rac-BINAP (0,024 g, 0,038 mmoles) y Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (0,018 g, 0,019 mmoles). Se añadió tolueno (5 mL) y se burbujeó nitrógeno a través de la mezcla durante 5 minutos. La mezcla de reacción se calentó después a 100°C durante la noche. Se añadió gel de sílice a la mezcla de reacción y el disolvente se eliminó. 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 con EtOAc al 100%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,50 (s, 1H), 8,07 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,77 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,58 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,24 (bs, 1H), 6,76 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 3,87 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 3,30 (m, 3H), 3,20 (m, 2H), 1,97 (bs, 1H), 1,69 (d, J = 12,8 Hz, 2H), 1,26 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 393,3.

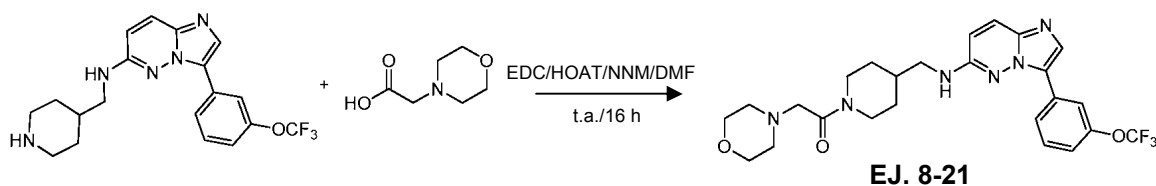
20. 2-Hidroxi-2-metil-1-(4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-il)propan-1-ona (EJ. 8-20).



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). La mezcla se recogió después en DMF (2 mL) y se añadió NMM (257 uL, 2,34 mmoles). La mezcla se agitó después durante la noche a temperatura ambiente. La disolución de DMF se vertió después en un exceso de agua (20 mL) provocando la formación de un precipitado. El precipitado se recogió por filtración y se purificó mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH al 0-15%) para dar 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.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,46 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 8,08 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,83 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,60 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,42 (bs, 1H), 7,32 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,85 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 4,62 (m, 1H), 3,19 (s, 2H), 2,99 (m, 1H), 2,76 (d, J = 15,6 Hz, 2H), 2,66 (d, J = 15,6 Hz, 2H), 1,99 (m, 1H), 1,80 (d, J = 13,2 Hz, 2H), 1,30 (s, 6H), 1,14 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 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).

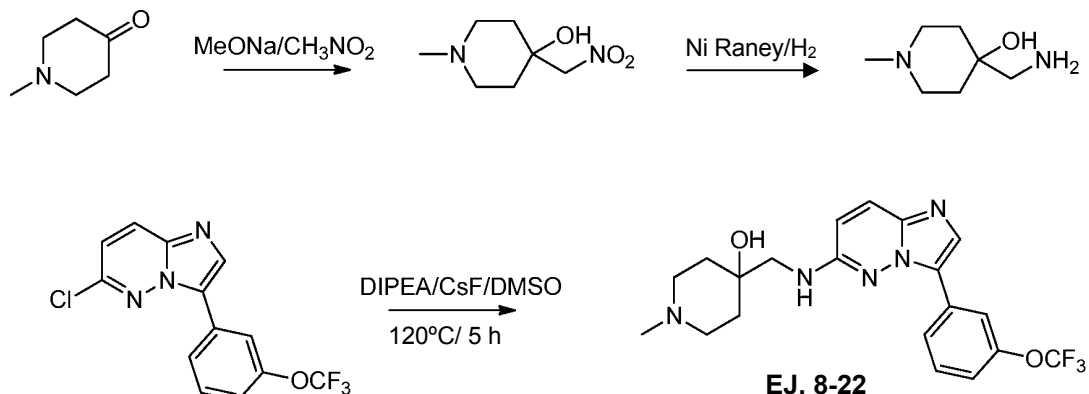


El compuesto *N*-(piperidin-4-ilmetil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (200 mg, 0,47 mmoles) se combinó con ácido 2-morfolinoacético (68 mg, 0,47 mmoles), EDC (99 mg, 0,51 mmoles) y HOAT (64 mg, 0,47 mmoles). La mezcla se recogió después en DMF (2 mL) y se añadió NMM (257 uL, 2,34 mmoles). La mezcla se

agitó después durante la noche a temperatura ambiente. La disolución de DMF se vertió después en un exceso de agua (20 mL) provocando la formación de un precipitado. El precipitado se recogió por filtración y se purificó mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH al 0-15%). El producto sin purificar se disolvió después en HCl metanólico y se precipitó con éter dietílico para dar 2-morfolino-1-(4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-il)etanona como sal de HCl.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 10,26 (bs, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,38 (m, 2H), 8,09 (m, 2H), 7,69 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,48 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 4,62 (m, 4H), 3,90 (m, 5H), 3,68 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 3,38 (m, 3H), 3,05 (t, J = 12,0 Hz, 1H), 2,68 (t, J = 12,0 Hz, 1H), 2,03 (m, 1H), 1,86 (d, J = 11,6 Hz, 2H), 1,26 (m, 1H), 1,09 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 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).



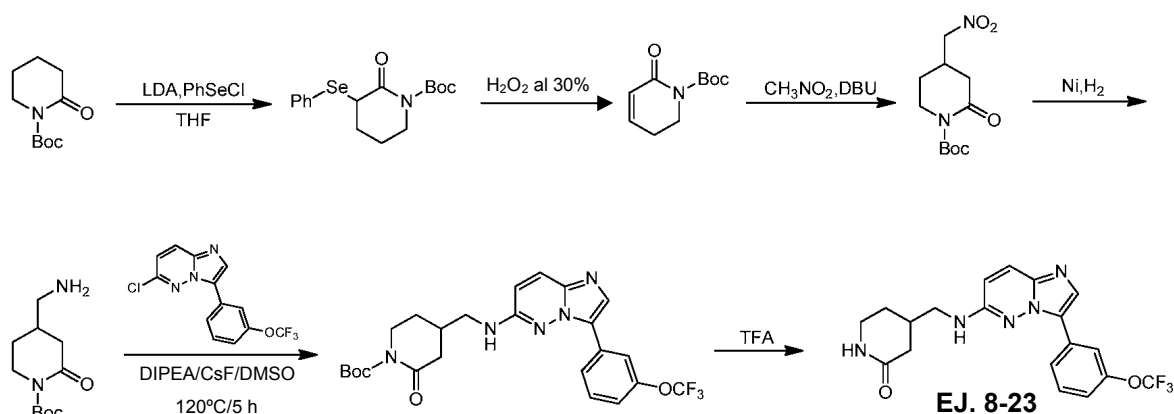
Se añadió CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> (6,6 mL, 122 mmoles) y MeONa (221 mg, 4,1 mmoles) a una disolución del compuesto 1-metilpiperidin-4-ona (10 mL, 81,3 mmoles) en EtOH (10 mL). Después de 30 min se añadió más etanol (15 mL) para facilitar la agitación. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días y después se filtró a través de Celite. El sólido aislado se lavó con éter para dar el producto 1-metil-4-(nitrometil)piperidin-4-ol (5,7 g, rendimiento de 40,4%). <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>/400 MHz): δ 5,01 (s, 1H), 4,47 (s, 2H), 2,41-2,40 (m, 2H), 2,21-2,15 (m, 2H), 2,12 (s, 3H), 1,64-1,53 (m, 4H).

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

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°C durante la noche y se repartió con EtOAc (10 mL) y agua (10 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (8 mL x 3), se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por pre-HPLC (HPLC preparativa) para dar el producto 1-metil-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-4-ol (22 mg, 10%).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,28 (s, 1H), 8,02 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,64 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 7,55 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,22 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 3,47 (s, 2H), 2,58-2,60 (brs, 2H), 2,48-2,47 (brs, 2H), 2,25 (s, 3H), 1,79-1,69 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 422,0.

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



A una disolución de 2-oxopiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (5,4 g, 27 mmoles) en THF (100 mL) se añadió LDA (16,2 mL, 32,4 mmoles) a  $-78^{\circ}\text{C}$ . Tras 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 hrs y después se inactivó con  $\text{H}_2\text{O}$  (30 mL), se diluyó 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, se filtró y se condensó. El residuo se purificó mediante cromatografía flash (100% de éter de petróleo a éter de petróleo/EtOAc = 5:1) para dar el compuesto 2-oxo-3-(fenilselanil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (4,27 g, 45%) como un sólido de color naranja.

Una disolución de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% (2,2 mL, 36 mmoles) se añadió a una disolución, en agitación, de 2-oxo-3-(fenilselanil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (4,27 g, 12 mmol) 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 hasta temperatura ambiente y se mantuvo durante 30 min. La mezcla de reacción se disolvió después 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 formar el compuesto 2-oxo-5,6-dihidropiridin-1(2H)-carboxilato de *tert*-butilo (2,1 g, 88,6%).

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

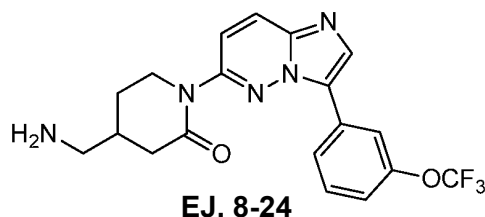
Una disolución del compuesto 4-(nitrometil)-2-oxopiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (0,3 g, 1,2 mmoles), Ni (0,1 g) y amoníaco (2 mL) en MeOH (30 mL) se agitó bajo  $\text{H}_2$  a temperatura ambiente durante 7 hrs. La mezcla se filtró y se condensó para formar el compuesto 4-(aminometil)-2-oxopiperidin-1-carboxilato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

Una mezcla del compuesto 4-(aminometil)-2-oxopiperidin-1-carboxilato de *tert*-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 dar el compuesto 2-oxo-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo sin purificar (60 mg).

A una disolución de 2-oxo-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-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 por prep-HPLC (cromatografía HPLC preparativa) para dar 4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-2-ona (6 mg, 6,6%) como un sólido blanco.

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  9,06 (d,  $J = 10\text{ Hz}$ , 2H), 8,59 (s, 1H), 8,45 (d,  $J = 10\text{ Hz}$ , 1H), 8,19 (s, 1H), 8,03-8,01 (m, 1H), 7,69 (t,  $J = 8\text{ Hz}$ , 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.

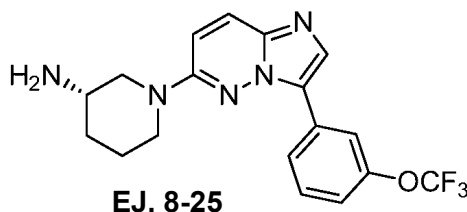
24. 4-(Aminometil)-1-(3-(3-trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)piperidin-2-ona (EJ. 8-24).



A una disolución de 2-oxo-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (114 mg, 0,23 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) se añadió TFA (2 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y se condensó. El residuo se purificó por prep-HPLC para dar 4-(aminometil)-1-(3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)piperidin-2-ona como un sólido blanco.

- 5 <sup>1</sup>H-NMR (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.

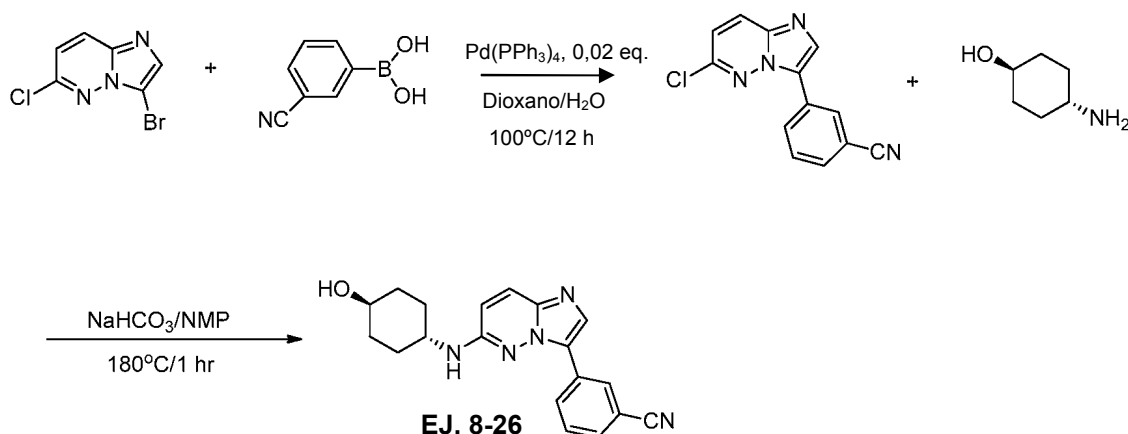
25. (S)-1-(3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)piperidin-3-amina (EJ. 8-25).



- 10 El EJ. 8-25 se preparó mediante procedimientos similares a los del EJ. 8-1 usando (S)-piperidin-3-ilcarbamato de *tert*-butilo, y después se desprotegió con HCl en dioxano.

<sup>1</sup>H-NMR (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.

- 15 26. 4-(trans-Hidroxiciclohexil)amino)imidazo[1,2-b]piridazin-3-il)benzonitrilo (EJ. 8-26).



A una disolución 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 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 disolución 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 por cromatografía en columna para dar el compuesto 3-(6-cloroimidazo[1,2-b]piridazin-3-il)benzonitrilo (1,2 g, 4,71 mmoles, rendimiento de 55%) como un sólido marrón.

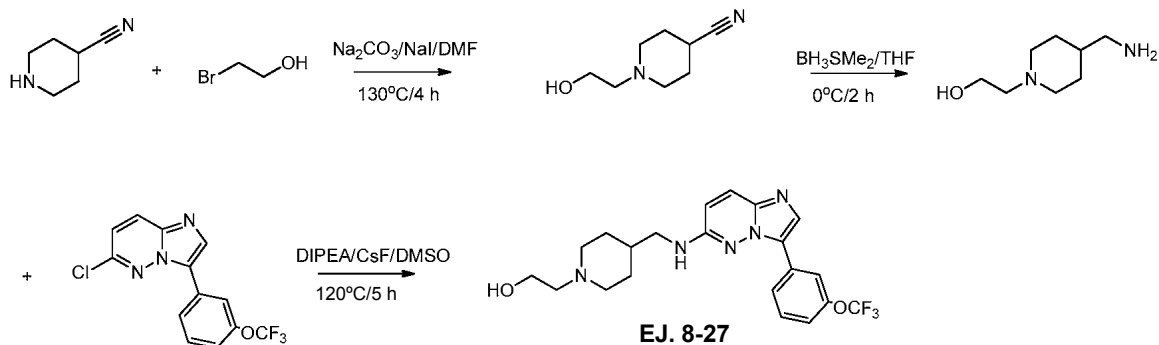
- 20 <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,39 (s, 1H), 8,24 (m, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,99 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,65 (m, 2H), 7,15 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 264,3.

- 25 A una disolución de 3-(6-cloroimidazo[1,2-b]piridazin-3-il)benzonitrilo (300 mg, 1,18 mmoles) e hidrocloreuro de trans-4-aminociclohexanol (678 mg, 5,89 mmoles) en NMP (2,0 mL) se añadió NaHCO<sub>3</sub> (496 mg, 5,89 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar 4-(((3-(3-(ciano)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (110 mg, 28%) como un sólido amarillo pálido.

- 30 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,72 (s, 1H), 8,33 (m, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,64 (m, 3H), 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)meil)piperidin-1-il)etanol (EJ. 8-27).





Bromoetanol (1,36 g, 11 mmoles) y piperidin-4-carbonitrilo (1,0 g, 9,1 mmoles) en 5 mL de dimetilformamida. Después de esto, a la disolución resultante se añadieron 4,0 g de carbonato sódico anhidro y 0,08 g de yoduro sódico, y la mezcla se agitó durante 4 horas a 130°C. Después 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 para dar 1-(2-hidroxiethyl)piperidin-4-carbonitrilo (300 mg, 18%).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 3,58 (t, *J* = 4,6 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).

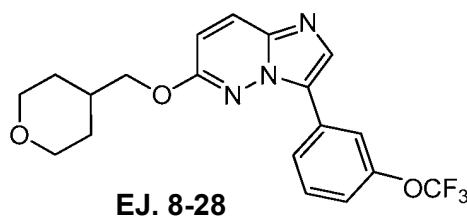
A la disolución del compuesto 1-(2-hidroxiethyl)piperidin-4-carbonitrilo (300 mg, 2 mmoles) en THF seco (5 mL) a 0°C, se añadió gota a gota BH<sub>3</sub>·SMe<sub>2</sub> (220 mg, 2,4 mmoles). La mezcla se agitó a 0°C durante 2 hrs. Se añadió agua y después K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. La mezcla se filtró y se concentró para dar el compuesto 2-(4-(aminometil)piperidin-1-il)etanol (150 mg, 47%).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 3,61 - 3,70 (m, 1 H), 3,59 (t, *J* = 5,6 Hz, 2 H), 2,91 (d, *J* = 11,6 Hz, 2 H), 2,57 (d, *J* = 6,4 Hz, 2 H), 2,50 (t, *J* = 5,6 Hz, 2 H), 1,97 - 2,10 (m, 2 H), 1,63 - 1,70 (m, 2 H), 1,15 - 1,35 (m, 2 H).

A la disolución del compuesto 2-(4-(aminometil)piperidin-1-il)etanol (150 mg, 0,95 mmoles) y del compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,64 mmoles) en 3 mL de DMSO se añadió DIEA (0,3 mL, 1,37 mmoles) y 10 mg de CsF, el disolvente se agitó durante 5 h a 120°C. La mezcla se purificó después por HPLC para proporcionar el compuesto 2-4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)ciclohexil)etanol (34 mg, 8,2%) como un sólido marrón.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,61 (s, 1 H), 8,20 - 8,25 (m, 1 H), 7,95 - 8,05 (m, 2 H), 7,66 (t, *J* = 4,4 Hz, 1 H), 7,21 - 7,28 (m, 1 H), 3,80 - 3,90 (m, 2 H), 3,62 - 3,75 (m, 2 H), 3,37 (d, *J* = 6,4 Hz, 2 H), 3,21 (t, *J* = 5,2 Hz, 2 H), 2,91 - 3,09 (m, 2 H), 2,10 (d, *J* = 14,0 Hz, 2 H), 1,51 - 1,69 (m, 2 H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 435,5.

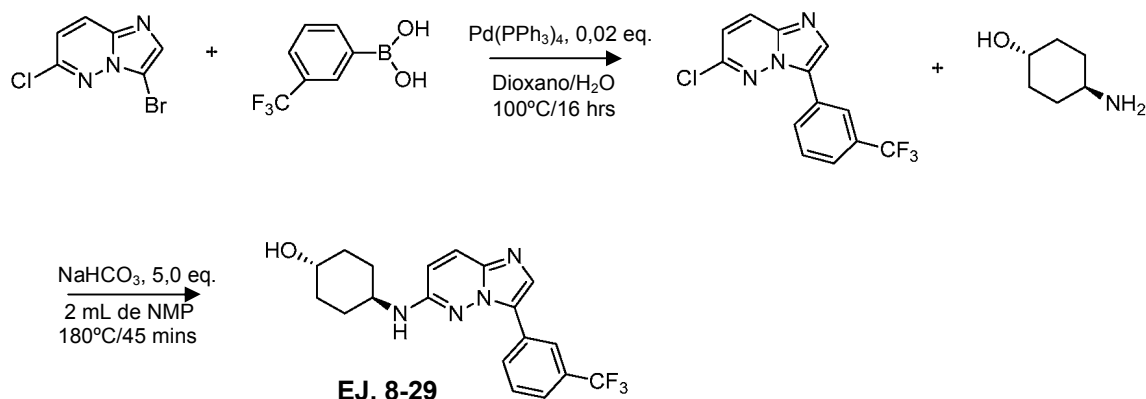
28. 6-((Tetrahydro-2H-piran-4-il)metoxi)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (EJ. 8-28).



A la disolución del compuesto (tetrahydro-2H-piran-4-il)metanol (100 mg, 0,86 mmoles) y del compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (270 mg, 0,86 mmoles) en 10 mL de dioxano se añadió t-BuOK (200 mg, 1,78 mmoles). La mezcla se agitó a 70°C durante 4 hrs. Después la mezcla se purificó por Pre-HPLC para proporcionar el compuesto 6-((tetrahydro-2H-piran-4-il)metoxi)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (25 mg, 12%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,18 (s, 1 H), 7,89 (s, 1 H), 7,82 (d, *J* = 9,2 Hz, 1 H), 7,71-7,79 (m, 1 H), 7,42 (d, *J* = 8,0 Hz, 1 H), 7,10-7,19 (m, 1 H), 6,69 (d, *J* = 9,6 Hz, 1 H), 4,16 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 3,90 - 4,04 (m, 2 H), 3,30 - 3,45 (m, 2 H), 2,01 - 2,15 (m, 1 H), 1,63 - 1,75 (m, 2), 1,37 - 1,45 (m, 2 H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 334,5.

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

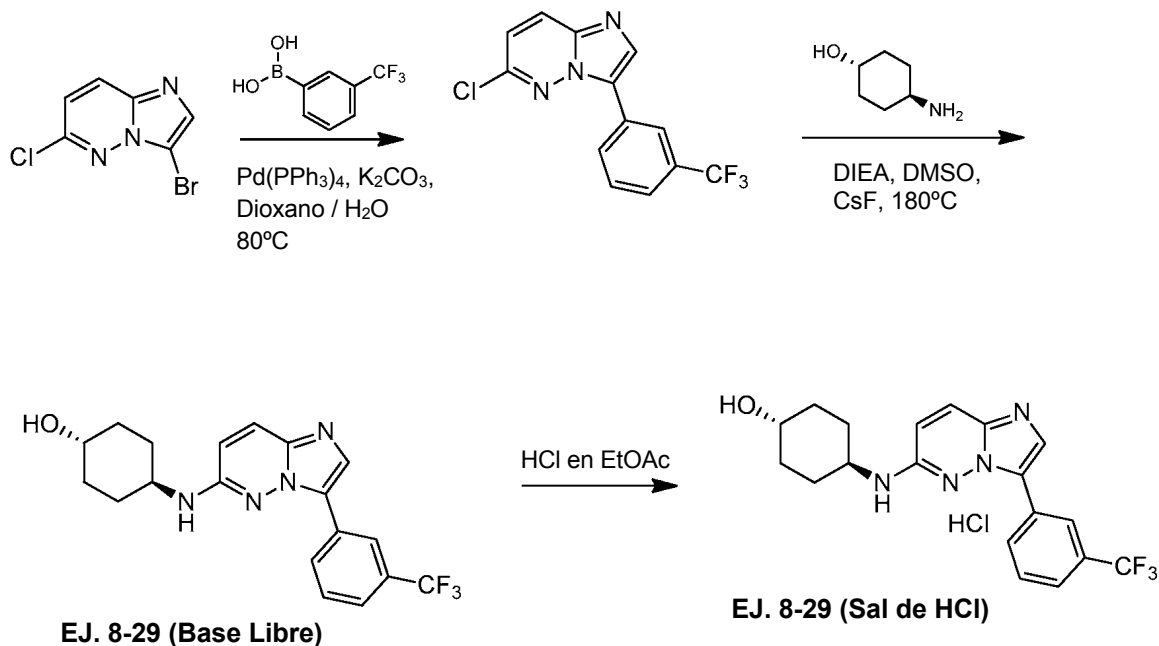


- 5 A una disolución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (2 g, 8,6 mmoles) y ácido 3-(trifluorometil)fenilborónico (1,63 g, 8,6 mmoles) en dioxano/H<sub>2</sub>O (100 mL, 4:1) se añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,4 g, 17,2 mmoles) y Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,497 g, 0,430 mmoles), la mezcla se agitó a 110°C durante 3 h. La disolución 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 por cromatografía en columna para dar el compuesto 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (0,22 g, 0,739 mmoles, rendimiento de 9%) como un sólido marrón.

<sup>1</sup>H-NMR (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).

- 10 A una disolución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (220 mg, 0,739 mmoles) e hidrocloreto de trans-4-aminociclohexanol (85 mg, 0,739 mmoles) en NMP (2,0 mL) se añadió NaHCO<sub>3</sub> (79 mg, 0,739 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar 4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (40 mg, 0,106 mmoles, 14%) como un sólido amarillo pálido.
- 15 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,71 (s, 1H), 8,21 (m, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,60 (m, 3H), 6,67 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 3,59 (m, 1H), 2,18 (m, 2H), 1,96 (m, 2H), 1,38 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 377,4.

La base libre y sal hidrocloreto del EJ. 8-29 se prepararon en escala de 50 g según los procedimientos siguientes:



- 20 A una disolución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (150 g, 0,65 moles) y 3-(trifluorometil)fenilborónico (143 g, 0,65 moles) en dioxano/H<sub>2</sub>O (2,5 L: 4:1) se añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (180 g, 1,3 moles) y Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (10 g, 10 mmoles). La mezcla se agitó a 80°C durante 24 h. La disolución 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 por cromatografía en columna (PE:EA, 3:1 a 2:1) para dar 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-

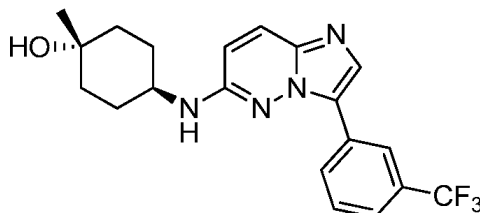
b]piridazina (135,15 g, 70.3%) como un sólido amarillo.

A una disolución 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 añadió DIEA (90 g, 900 mmoles) y CsF (45 g, 30 mmoles). La mezcla se agitó a 180°C durante 4 horas. Tras 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 dar el EJ. 8-29 (Base Libre) (68,3 g, 63,06%) como un sólido blanco. El producto precipitado de MeOH contiene generalmente 1 eq de MeOH. Para separar el MeOH residual, el producto se disolvió en EA, y después se volvió a evaporar.

A una disolución 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 dar el EJ. 8-29 (Sal HCl) (53 g, 98,13%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD / 400 MHz): δ 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, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 377,2.

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



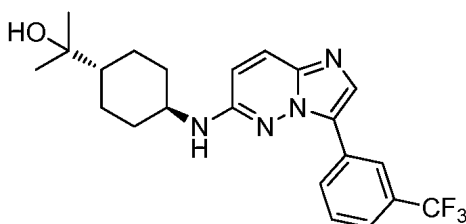
**EJ. 8-30**

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

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,72 (s, 1H), 8,23 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,62 (m, 3H), 6,74 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,84 (m, 1H), 2,08 (m, 2H), 1,74 (m, 2H), 1,60 (m, 4H), 1,55 (s, 3H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 391,5.

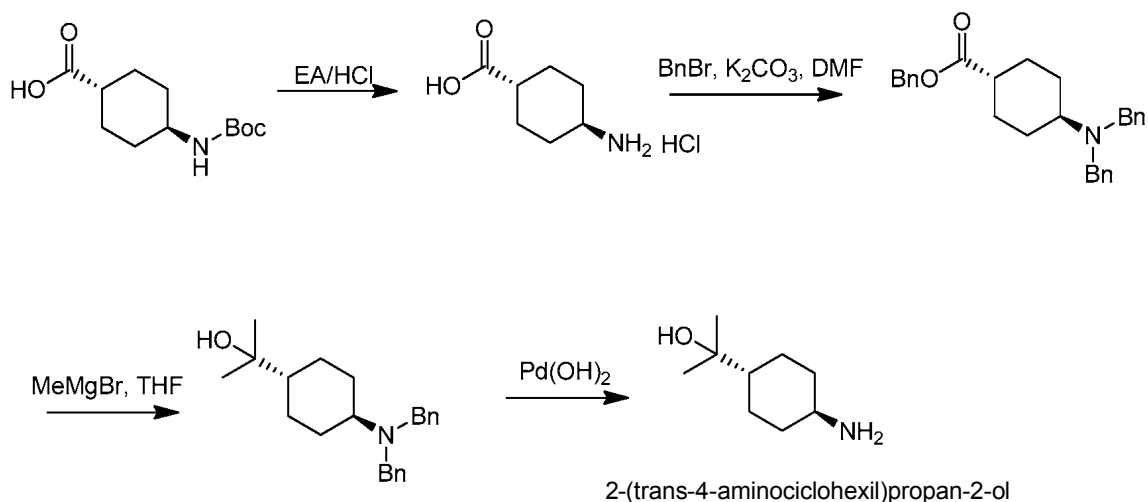
31. 4-((3-(3-(Trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-*trans*-ciclohexil)propan-2-ol (EJ. 8-31).

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



<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,82 (s, 1H), 8,19 (m, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,62 (m, 3H), 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, 4H), 1,21 (s, 6H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 419,6.

Alternativamente, el EJ. 8-31 se preparó en escala de 50 g utilizando los procedimientos siguientes.

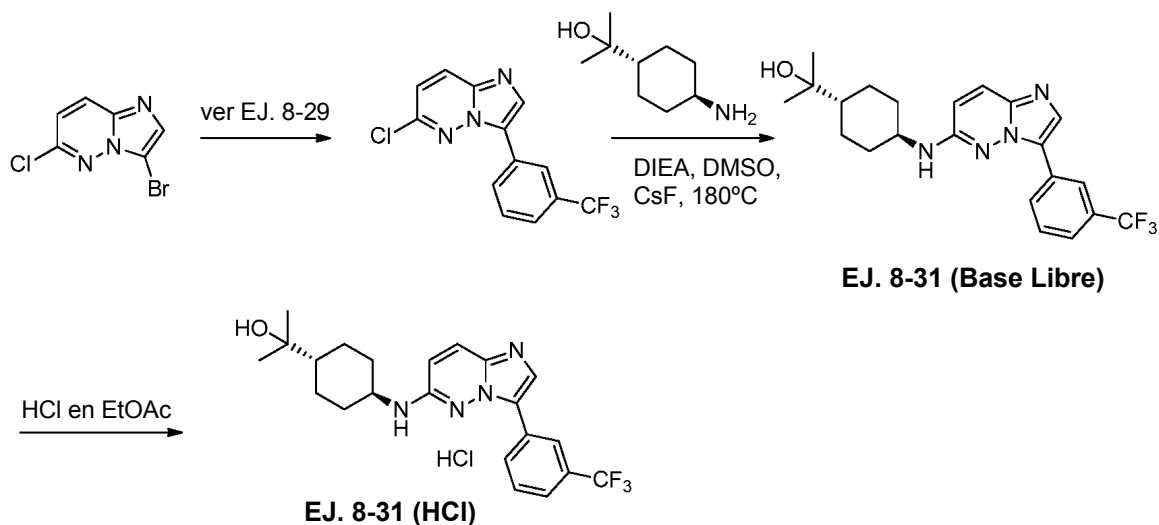


A una disolución de ácido *trans*-4-((terc-butoxicarbonil)amino)ciclohexanocarboxílico (823 g, 3,38 moles) en EtOAc (4000 mL) se añadió EA/HCl (2500 mL). La mezcla se agitó a 0°C durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y se secó a vacío para dar un producto de sal hidrocloreto de ácido *trans*-4-aminociclohexanocarboxílico como un sólido 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 hrs. La mezcla de reacción se vertió después en agua y se extrajo con EtOAc y la fase orgánica combinada se lavó con salmuera y se concentró a vacío para dar *trans*-4-(dibencilamino)ciclohexanocarboxilato de bencilo sin purificar como un sólido blanco (1495 g, rendimiento de 93,9%).

A una disolución de *trans*-4-(dibencilamino)ciclohexanocarboxilato de bencilo (290 g X 5, 3,6 moles) en 2 L de THF bajo N<sub>2</sub> a 0°C, se añadió MeMgBr (800 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y después se inactivó 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 a la fase acuosa, que después se lavó con EtOAc. La fase acuosa se neutralizó después con NaOH, se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a vacío para dar el 2-(*trans*-4-(dibencilamino)ciclohexil)propan-2-ol como un sólido blanco (950 g, rendimiento de 78,3%).

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> (50 psi, 344,74 kPa) a 50°C durante 72 hrs, después se separó el catalizador y el filtrado se concentró a vacío y el producto sin purificar se cromatografió sobre gel de sílice (DCM /MeOH 20 :1 - DCM /MeOH/NH<sub>3</sub> 5 :4 :1) para dar el 2-(*trans*-4-aminociclohexil)propan-2-ol como un sólido amarillo pálido (210 g, rendimiento de 47,5%).



Se preparó 6-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina según el procedimiento del EJ. 8-29.

A una disolución 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 se añadió 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 filtrado se vertió en una disolución agitada de agua (4 L) y EA (1 L). El sólido formado se recogió y se recrystalizó en EA para dar el EJ. 8-31 (Base Libre) como sólido blanquecino (70,58 g, 48,34%). A partir de las aguas madres y del filtrado, se obtuvo un segundo lote de producto después de la cromatografía en columna (EA).

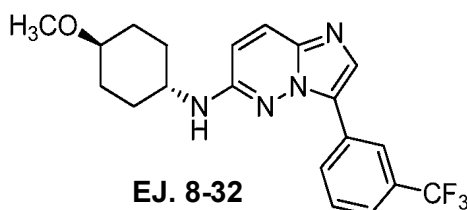
<sup>1</sup>H NMR (MeOD/400 MHz): δ 8,80 (s, 1H), 8,17 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,62-7,58 (m, 3H), 6,68 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,72-3,65 (m, 1H), 2,30-2,24 (m, 2H), 1,95-1,90 (m, 2H), 1,37-1,22 (m, 5H), 1,16 (s, 6H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 419,3, punto de fusión: 216,7°C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

Para una producción del EJ. 8-31 (Base Libre) (57 g, 136 mmoles) en EA (10 L) se 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 dar el EJ. 8-31 (HCl) (52,06 g, 91,33%) como sólido blanquecino.

<sup>1</sup>H NMR (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, 5H), 1,16 (s, 6H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 419,2, punto de fusión: 200,4°C-201,6°C

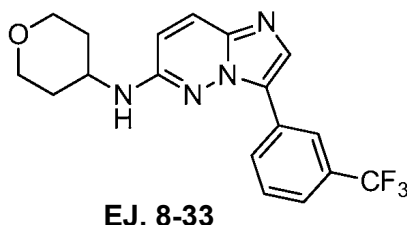
Los EJ. 8-32 a EJ. 8-34 se prepararon mediante procedimientos similares a los del EJ. 8-1.

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



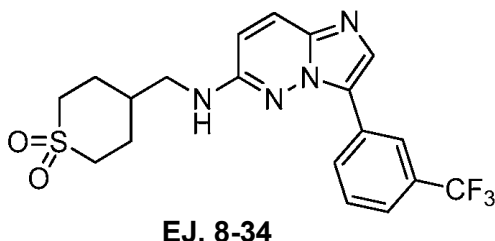
<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,73 (s, 1H), 8,21 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,60 (m, 3H), 6,69 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,73 (m, 1H), 3,34 (s, 3H), 3,24 (m, 1H), 2,21 (m, 2H), 1,36 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 391,5,

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



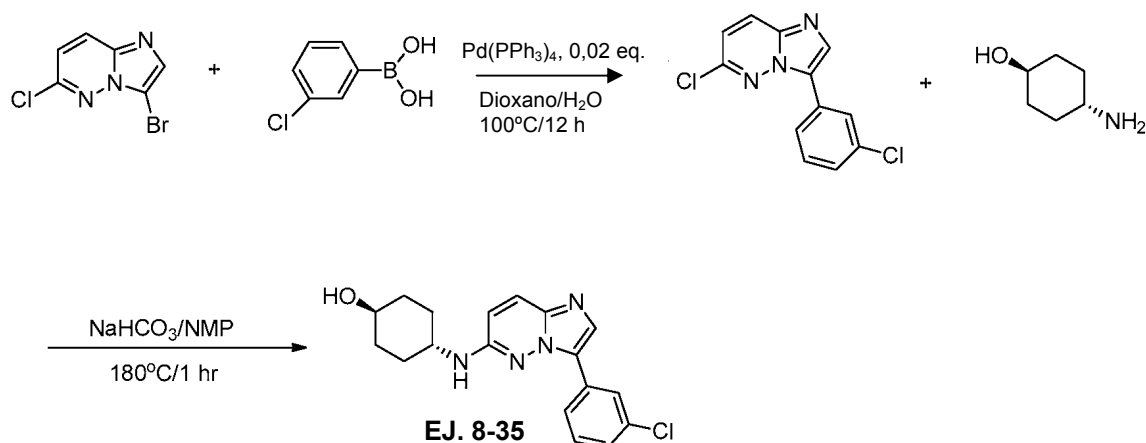
<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,74 (s, 1H), 8,16 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,62 (m, 3H), 6,71 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,98 (m, 3H), 3,53 (m, 2H), 2,08 (m, 2H), 1,57 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 363,5.

34. 4-(((3-(3-(Trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)tetrahydro-2H-tiopiran 1,1-dióxido (EJ. 8-34).



<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,73 (s, 1H), 8,25 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,64 (m, 3H), 6,76 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,98 (m, 2H), 3,06 (m, 4H), 2,23 (m, 2H), 2,11 (m, 1H), 1,86 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 425,4.

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



A una disolución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (2 g, 8,6 mmoles) y ácido 3-(cloro)fenilbórico (1,35 g, 8,6 mmoles) en dioxano/H<sub>2</sub>O (100 mL, 4:1) se añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,4 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 disolución 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 por cromatografía en columna para dar el compuesto 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (1,2 g, 4,54 mmoles, rendimiento de 53%) como un sólido marrón.

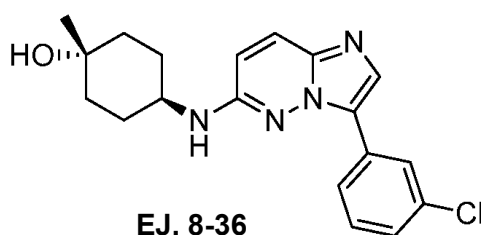
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,04 (d, J = 13,2 Hz, 2H), 7,94 (m, 2H), 7,42 (m, 2H), 7,10 (d, J = 9,2 Hz, 1H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 264,3.

A una disolución de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (300 mg, 1,14 mmoles) e hidrocloreto de trans-4-aminociclohexanol (327 mg, 2,84 mmoles) en NMP (2,0 mL) se añadió NaHCO<sub>3</sub> (286 mg, 3,41 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 45 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanol (120 mg, 0,350 mmoles, 31%) como un sólido amarillo pálido.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,47 (s, 1H), 7,90 (m, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,58 (d, J = 10,0 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 (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 343,5.

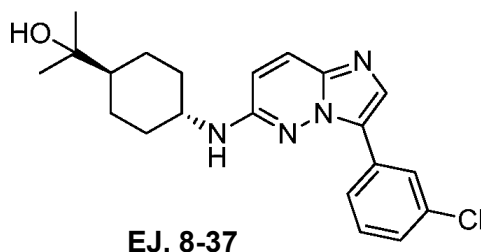
Los EJ. 8-36 a EJ. 8-40 se prepararon mediante procedimientos similares a los del EJ. 8-35.

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



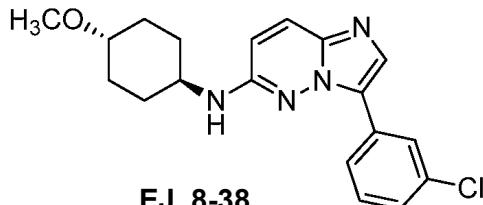
<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,43 (s, 1H), 7,91 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,57 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,36 (m, 1H), 7,27 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,79 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 3,80 (m, 1H), 2,14 (m, 2H), 1,73 (m, 4H), 1,52 (m, 2H), 1,26 (s, 3H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 357,5.

37. 4-((3-(3-Clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (EJ. 8-37).



<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,56 (s, 1H), 7,88 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,58 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,41 (m, 1H), 7,29 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 6,65 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,68 (m, 1H), 2,30 (m, 2H), 1,94 (m, 4H), 1,30 (m, 5H), 1,15 (s, 6H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 385,5.

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

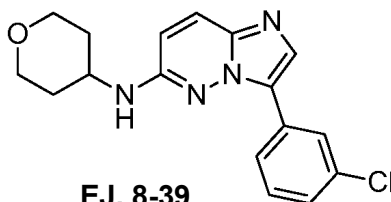


**EJ. 8-38**

5

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,44 (s, 1H), 7,84 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,55 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,35 (m, 1H), 7,26 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 6,63 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,23 (m, 1H), 2,22 (m, 2H), 2,09 (m, 2H), 1,32 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 357,5.

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

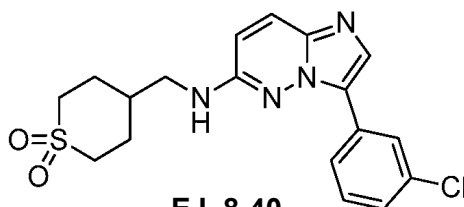


**EJ. 8-39**

10

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,35 (s, 1H), 7,81 (m, 2H), 7,74 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,38 (m, 1H), 6,63 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,04 (m, 3H), 3,60 (m, 2H), 2,17 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 329,5.

40. 4-(((3-(3-Clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopiran 1,1-dióxido (EJ. 8-40).

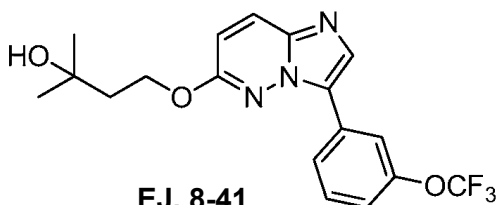


**EJ. 8-40**

15 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,41 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,63 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,40 (m, 1H), 7,30 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,68 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,34 (m, 2H), 3,07 (m, 4H), 2,28 (m, 2H), 2,19 (m, 1H), 1,85 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 391,4.

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

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

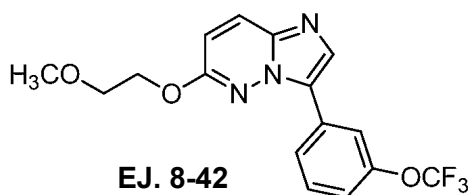


**EJ. 8-41**

20

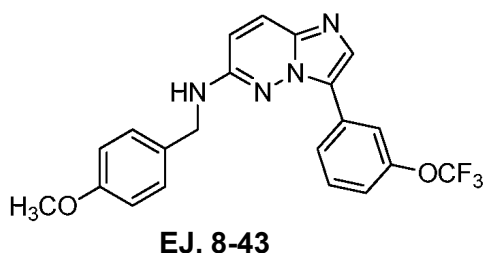
<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,41 (s, 1H), 7,94 (m, 2H), 7,82 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,48 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,21 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,56 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 2,05 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 1,32 (s, 6H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 382,5.

42. 6-(2-Metoxietoxi)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (EJ. 8-42).



<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,11 (s, 1H), 7,98 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,81 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,49 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,22 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,53 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,80 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,45 (s, 3H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 354,4.

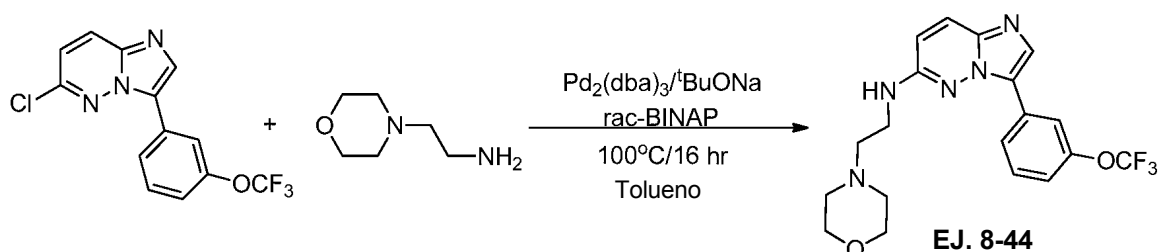
5 43. N-(4-Metoxibencil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (EJ. 8-43).



El EJ. 8-43 se preparó mediante procedimientos similares a los del EX. 8-1.

10 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,21 (s, 1H), 7,92 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,64 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 7,48 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,32 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 7,20 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,87 (m, 2H), 6,78 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,48 (s, 2H), 3,75 (s, 3H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 415,5.

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

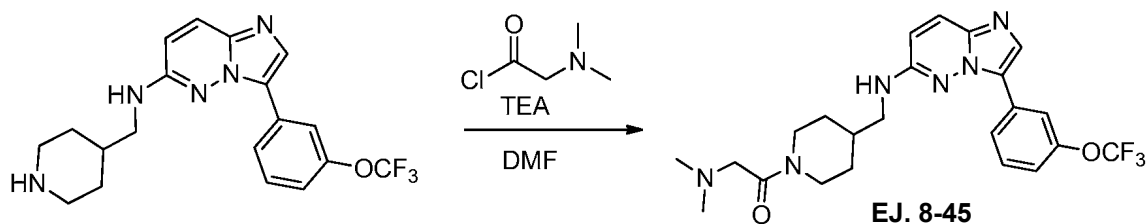


15 A una disolución de 6-cloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazina (200 mg, 0,638 mmoles) y 2-morfolinoetanamina (83 mg, 0,638 mmoles) en tolueno (5 mL, 0,638 mmoles) se añadió *tert*-butóxido sódico (110 mg, 1,148 mmoles), *rac*-BINAP (23,81 mg, 0,038 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante la noche. Después de 16 h, la disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando cromatografía combiflash (12 g, DCM a MeOH al 10%/DCM) y dio 252 mg del sólido amarillo N-(2-morfolinoetil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina. <sup>1</sup>HNMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 8,28 (s, 1H), 8,00(d, *J*=7,6Hz, 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*=9,6Hz, 1H), 3,67(m, 4H), 3,53(m, 2H), 2,68(m, 2H), 2,52(m, 4H) ESI: 408,4(M+H)<sup>+</sup>

20 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 uL, 12 M) y la disolución se añadió gota a gota en 30 mL de éter, se filtró y se secó para dar 247 mg de polvo blanquecino como sal de HCl. <sup>1</sup>HNMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>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, 4H), 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).



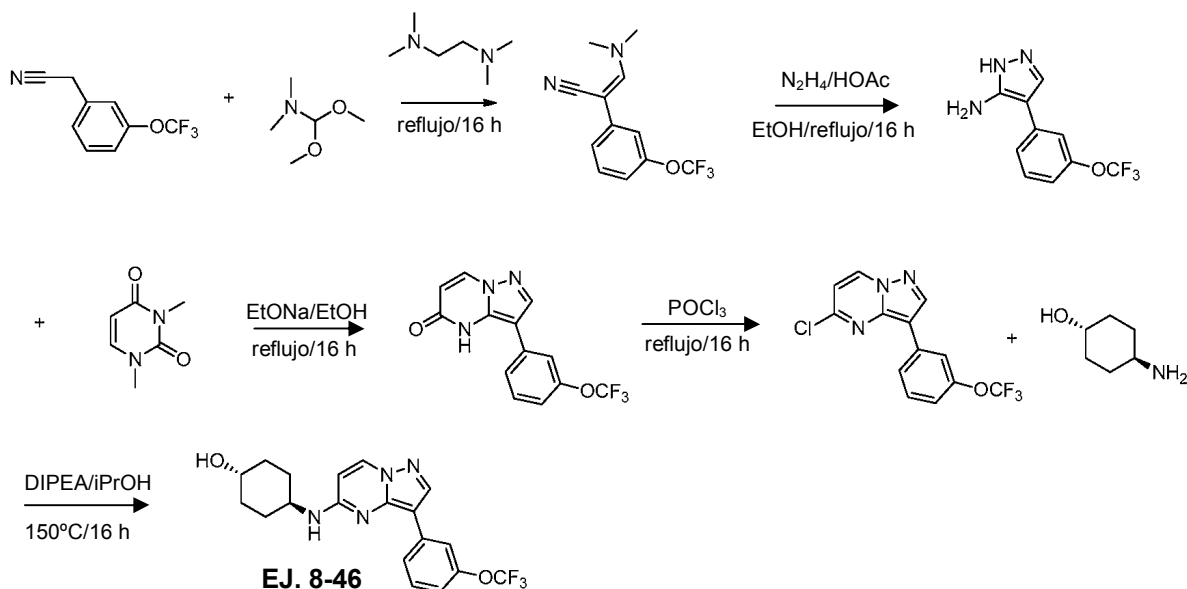


La mezcla de reacción de N-(piperidin-4-ilmetil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (100 mg 0,234 mmoles), cloruro de 2-(dimetilamino)acetilo (43,5mg, 0,234 mmoles), TEA(81 uL, 2,5 eq) en DMF (1 mL) se agitó durante la noche. El residuo se vertió en agua (20 mL). El precipitado se recogió por filtración y purificado por cromatografía combiflash (12 g, DCM a MeOH al 10%/DCM) dio 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.

<sup>1</sup>HNMR(400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 8,28(m, 2H), 7,97(m, 2H), 7,64(t, J=8,02Hz, 1H), 7,41 (d, J=8,21 Hz, 1H), 7,22(d, J=9,0Hz, 1H), 4,53(d, J=13,5 Hz, 1H), 4,25(m, 2H), 3,68(d, J=13,5Hz, 1H), 3,11 (m, 2H), 3,06(s, 3H), 2,90(s, 3H), 2,71 (t, J=12,5Hz, 2H), 2,08(m, 1H), 1,90(d, J=12,5 Hz, 2H), ESI: 477,5(M+H)<sup>+</sup>

La base libre 2-(dimetilamino)-1-4-(((3-(3-(trifluorometox)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)metil)piperidin-1-il)etanona (247 mg, 0,517 mmoles) se suspendió en metanol (2mL). Se añadió HCl concentrado (108 uL, 2,5 eq). La disolución se añadió gota a gota en 30 mL de éter, se filtró y se secó para dar of 205 mg de polvo blanquecino como sal de HCl. <sup>1</sup>HNMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 8,29 (s, 1H), 8,25(s, 1H), 7,96(m, 2H), 7,64(t, J=8,02Hz, 1H), 7,41 (d, J=8,41 Hz, 1H), 7,24(d, J=9,8Hz, 1H), 2,02(m, 1H), 1,87(d, J=8,32Hz, 2H), 1,39(s, 6H).

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.

Una mezcla de 3-trifluorometoxifenilacetonitrilo (2,5 gramos, 12,43 mmoles), DIPEA (0,321 gramos, 2,48 mmoles), y dimetilacetato de dimetilformamida (20 mL) se calentó a reflujo durante 4 h. Al enfriar, la reacción se repartió entre EtOAc y disolución acuosa saturada de NH<sub>4</sub>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 no purificado se purificó por cromatografía (acetato de etilo/hexano, 0-10%) en gel de sílice (24 gramos) para dar el producto puro (2,3 gramos, 8,98 mmoles, rendimiento de 72%).

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

Una mezcla de acrilonitrilo (2,0 g, 7,81 mmoles), hidrazina hidratada (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%).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 7,64 (m, 1H), 7,42 (m, 4H), 7,06 (d, J = 7,6 Hz, 1H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 244,3.

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

- 5 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 sódico (0,29 gramos, 4,28 mmoles) y al completar 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 dar el producto (0,4 gramos, 1,36 mmoles, rendimiento de 41%). No se necesitó cromatografía para esta etapa.

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

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

- 10 Una mezcla de pirazolopirimidinona (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 separar el disolvente en el evaporador rotatorio, la reacción se vertió sobre hielo, se alcalinizó cuidadosamente con disolución 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 dar el producto (0,3 gramos, 0,96 mmoles, rendimiento de 56%).
- 15  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,56 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 8,39 (s, 1H), 7,92 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,85 (m, 2H), 7,45 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,12 (d,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 6,85 (d,  $J = 7,2\text{ Hz}$ , 1H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 314,3.

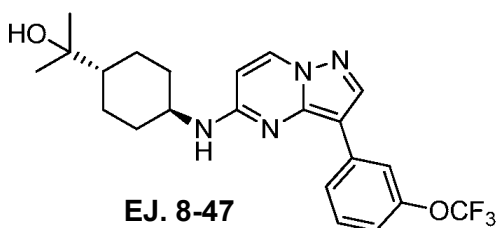
## Síntesis de 4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexanol.

- 20 A una disolución 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 iso-propanol (5 mL) se añadió DIPEA (0,025 gramos, 0,191 mmoles) y la mezcla se calentó a  $150^\circ\text{C}$  durante 12 h bajo irradiación por microondas. La disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando cromatografía combiflash (columna de 12 g), eluyente:  $\text{CH}_3\text{OH}$  al 0-6%/DCM y se obtuvo el producto (0,020 gramos, 0,051 mmoles, rendimiento de 53%).

- 25  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,22 (s, 1H), 8,18 (m, 2H), 7,80 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,34 (t,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 6,96 (m, 1H), 6,17 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,90 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 2,18 (m, 2H), 2,00 (m, 2H), 1,38 (m, 4H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 393,5.

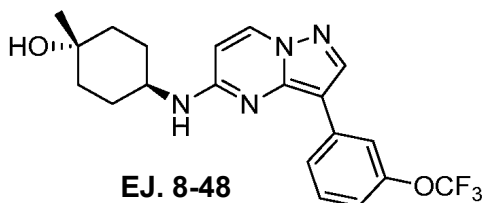
Los EJ. 8-47 a EX. 8-53 se prepararon usando procedimientos similares a los del EJ. 8-46.

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



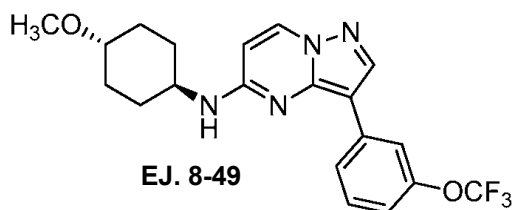
- 30  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,38 (s, 1H), 8,22 (m, 2H), 7,78 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,38 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,97 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 6,22 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,90 (m, 1H), 2,25 (m, 2H), 1,97 (m, 2H), 2,00 (m, 2H), 1,37 (m, 1H), 1,30 (m, 4H), 1,16 (s, 6H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 435,5.

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



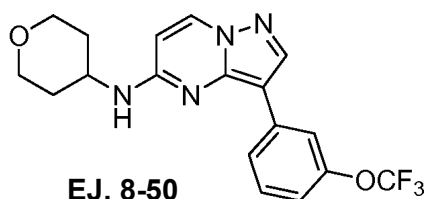
- 35  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,25 (m, 3H), 7,95 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,40 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,99 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 6,29 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,10 (m, 1H), 2,11 (m, 2H), 1,74 (m, 2H), 1,62 (m, 4H), 1,28 (s, 3H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 407,5.

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



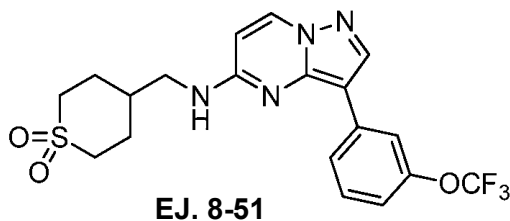
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,30 (m, 1H), 8,22 (m, 2H), 7,82 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,38 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,38 (m, 1H), 6,22 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,95 (m, 1H), 3,26 (m, 1H), 2,22 (m, 2H), 2,14 (m, 2H), 1,38 (m, 4H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 407,5.

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



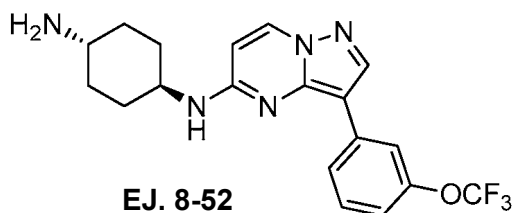
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,32 (s, 1H), 8,29 (m, 2H), 7,83 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,41 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,02 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,29 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 4,24 (m, 1H), 4,02 (m, 2H), 3,60 (t,  $J = 12,0\text{ Hz}$ , 2H), 2,12 (m, 2H), 1,62 (m, 2H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 379,4.

- 10 51. 4-(((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopiran 1,1-dióxido (EJ. 8-51).



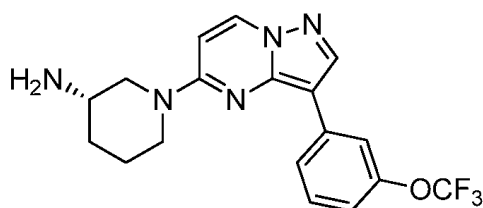
- 15  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,24 (m, 2H), 8,21 (s, 1H), 7,70 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,38 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,23 (m, 1H), 6,07 (d,  $J = 7,2\text{ Hz}$ , 1H), 3,51 (t,  $J = 6,4\text{ Hz}$ , 2H), 3,06 (m, 2H), 3,00 (m, 2H), 2,22 (m, 3H), 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).



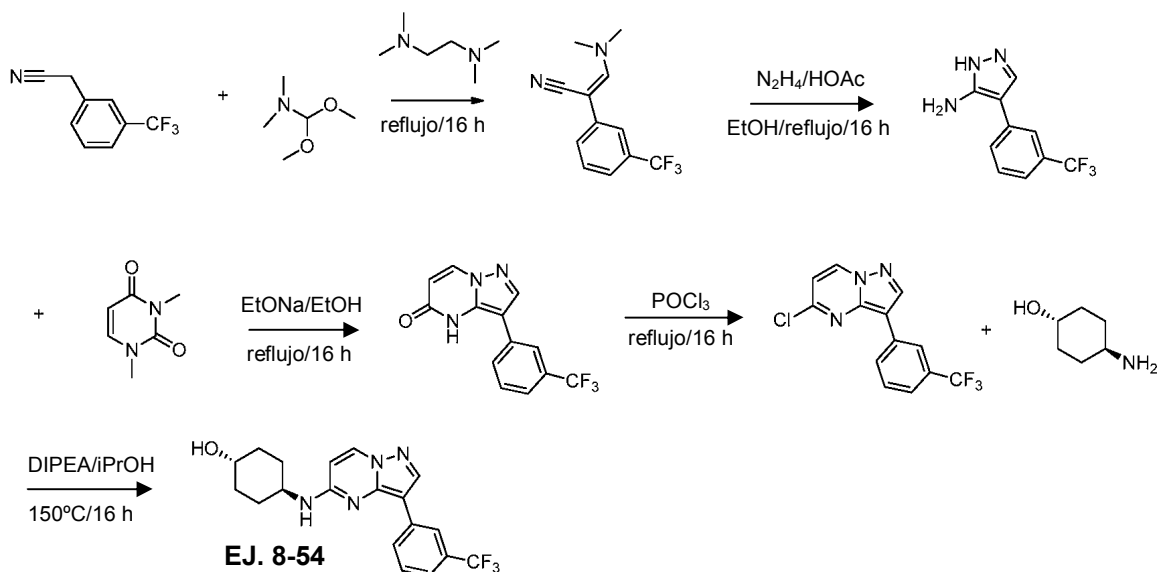
- 20  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,24 (m, 3H), 7,87 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,39 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,99 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,24 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 3,95 (m, 1H), 2,86 (m, 1H), 2,24 (m, 2H), 1,8 (m, 2H), 1,37 (t,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 4H), 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).

**EJ. 8-53**

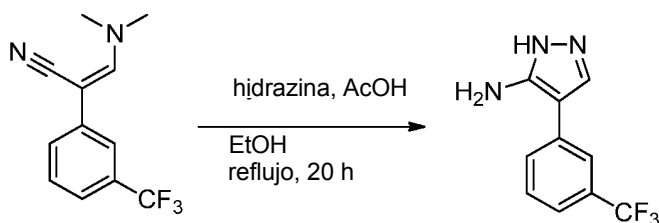
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,32 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 8,24 (m, 1H), 8,07 (m, 1H), 7,85 (d,  $J = 5,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,38 (t,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 6,95 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 6,61 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 4,22 (m, 2H), 3,17 (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.

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

**EJ. 8-54**

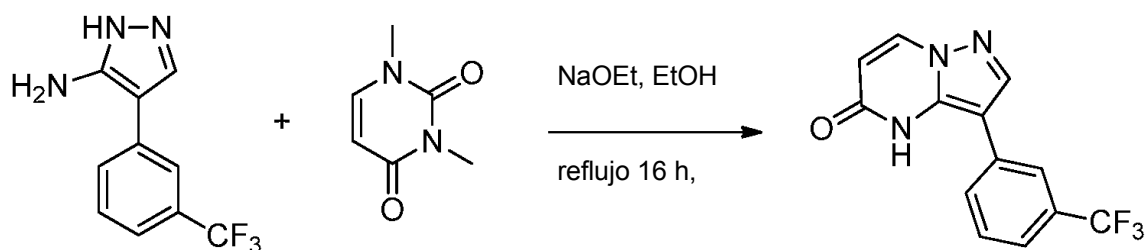
Una mezcla de 2-(3-(trifluorometil)fenil)acetronitrilo (4,55 g, 24,58 mmoles), 1,1-dimetoxi-*N,N*-dimetilmetanamina (13,10 ml, 98 mmoles), y *N*<sup>1</sup>,*N*<sup>1</sup>,*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>2</sup>-tetrametilethano-1,2-diamina (0,737 ml, 4,92 mmoles) se calentó a reflujo durante 5 h. Tras calentar 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 extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , y se concentraron a vacío. Tras la absorción en Celite, el compuesto se purificó mediante Isco (40g de sílice, 10% a 70% de EtOAc/hexanos) para dar 3-(dimetilamino)-2-(3-(trifluorometil)fenil)acrilonitrilo puro (2,93 g, rendimiento de 50%).

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



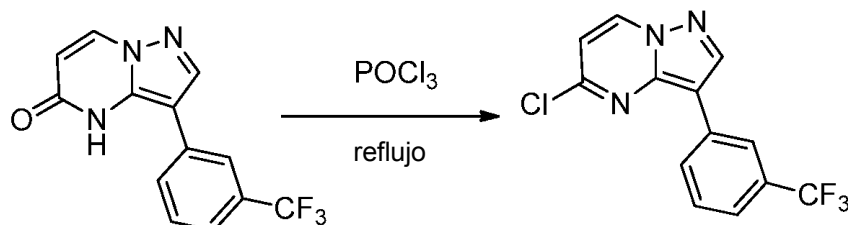
A una mezcla de 3-(dimetilamino)-2-(3-(trifluorometil)fenil)acrilonitrilo (2,93 g, 12,20 mmoles) en etanol (35 ml) se añadió hidrazina hidratada (3,80 ml, 122 mmoles) y ácido acético (6,98 ml, 122 mmoles). Tras el reflujo, se formó una disolución. Después de 5 horas se añadieron 0,25 mL de hidrazina hidratada y la reacción se calentó a reflujo durante 15 horas adicionales. Las sustancias volátiles se separaron 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 dar de forma pura 4-(3-(trifluorometil)fenil)-1H-pirazol-5-amina (2,7 g, rendimiento de 97%) como un aceite amarillo claro.

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



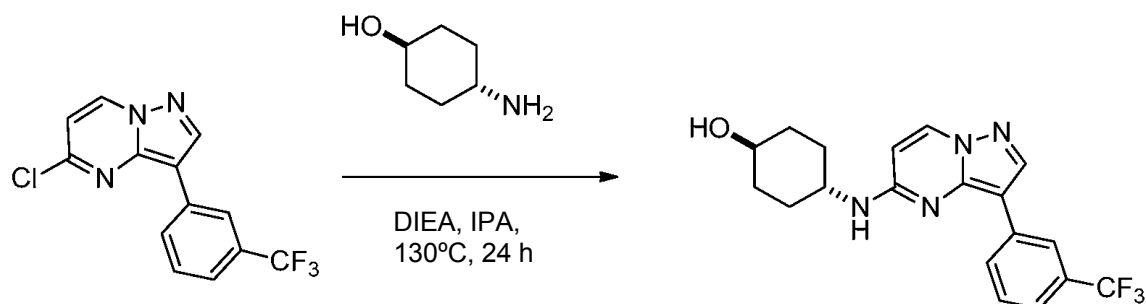
A una una mezcla de 4-(3-(trifluorometil)fenil)-1H-pirazol-5-amina (2,7 g, 11,88 mmoles) y 1,3-dimetilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona (1,999 g, 14,26 mmoles) en etanol (35 ml) se añadió etóxido sódico (1,132 g, 16,64 mmoles). Tras calentar a reflujo 16 horas bajo Agonr, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y las sustancias volátiles se separaron a vacío. La mezcla se diluyó con 30 mL de H<sub>2</sub>O y se acidificó a pH=4 con AcOH. El sólido resultante se recogió mediante filtración a vacío. El sólido se recogió en una disolución de DCM/2-propanol 4:1, se lavó con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se sometió a evaporación rotatoria para dar 3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5(4H)-ona pura (2,07 g, 7,41 mmoles, rendimiento de 62,4%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 12,38 (br s, 1H), 8,62 (d, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,05 (m, 2H), 7,60 (m, 2H), 6,20 (m, 1H).



Una mezcla de 3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5(4H)-ona (2,07 g, 7,41 mmoles) y POCl<sub>3</sub> (6,91 ml, 74,1 mmoles) se calentó a 107°C. El calentamiento se continuó durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el POCl<sub>3</sub> se separó a vacío para dar un sólido ceroso. El sólido se trituró múltiples veces con Et<sub>2</sub>O y las capas de Et<sub>2</sub>O se combinaron y se sometieron a evaporación rotatoria. El residuo resultante se recogió en DCM y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a vacío para dar 5-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina (1,47 g, rendimiento de 67%) como un sólido marrón.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,60 (d, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,24 (d, 1H), 8,19 (s, 1H), 7,55 (m, 2H), 6,87 (d, 1H).

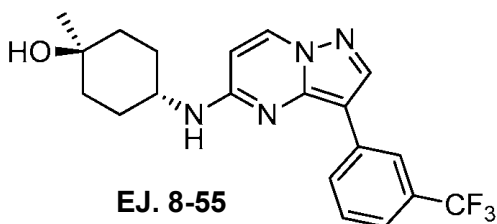


Una mezcla de 5-cloro-3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina (100 mg, 0,336 mmoles), 4-aminociclohexanol (58,0 mg, 0,504 mmoles), y DIEA (0,117 ml, 0,672 mmoles) en 2-propanol (3 ml) se irradió a 135°C durante 14 h en un microondas Biotage. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado, 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> y se concentraron a vacío. Tras la absorción en Celite, el compuesto se purificó mediante Isco (12 g de sílice, MeOH/EtOAc/hex 1/5/4) para dar trans-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexanol (101 mg, rendimiento de 80%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H NMR (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, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 377,5.

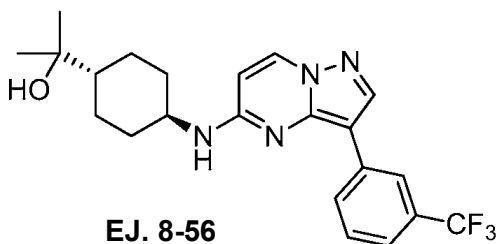
Los EJ. 8-55 a EJ. 8-60 se prepararon usando procedimientos similares a los del EJ. 8-54.

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



$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 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, 6H), 1,30 (s, 3H), MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 391,5.

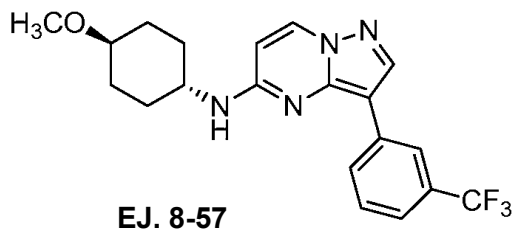
56. 4-((3-(3-(Trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (EJ. 8-56).



5

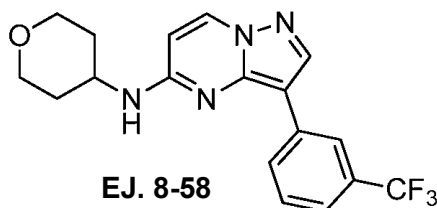
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 8,78 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,24 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 7,49 (t, 1H), 7,38 (d, 1H), 6,25 (d, 1H), 3,95 (m, 1H), 2,28 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,32 (m, 5H), 1,20 (s, 6H), MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 419,5.

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



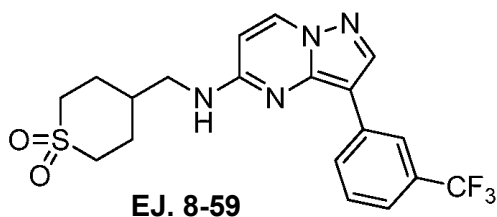
10  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 8,76 (s, 1H), 8,49 (d, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,13 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,56 (t, 1H), 7,42 (d, 1H), 6,30 (d, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,27 (s, 3H), 3,19 (m, 1H), 2,10 (m, 4H), 1,30 (m, 4H), MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 391,5.

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



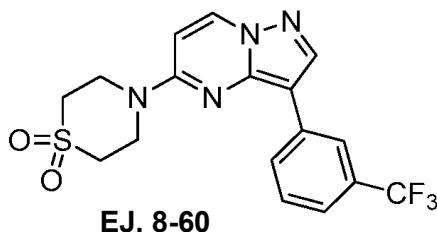
15  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 8,73 (s, 1H), 8,52 (d, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,15 (d, 1H), 7,77 (d, 1H), 7,55 (t, 1H), 7,43 (d, 1H), 6,33 (d, 1H), 4,08 (m, 1H), 3,93 (m, 2H), 3,43 (m, 2H), 2,05 (m, 2H), 1,53 (m, 2H), MS ( $\text{ES}^+$ , m/z): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 363,5.

59. 4-(((3-(3-(Trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopiran 1,1-dióxido (EJ. 8-59).



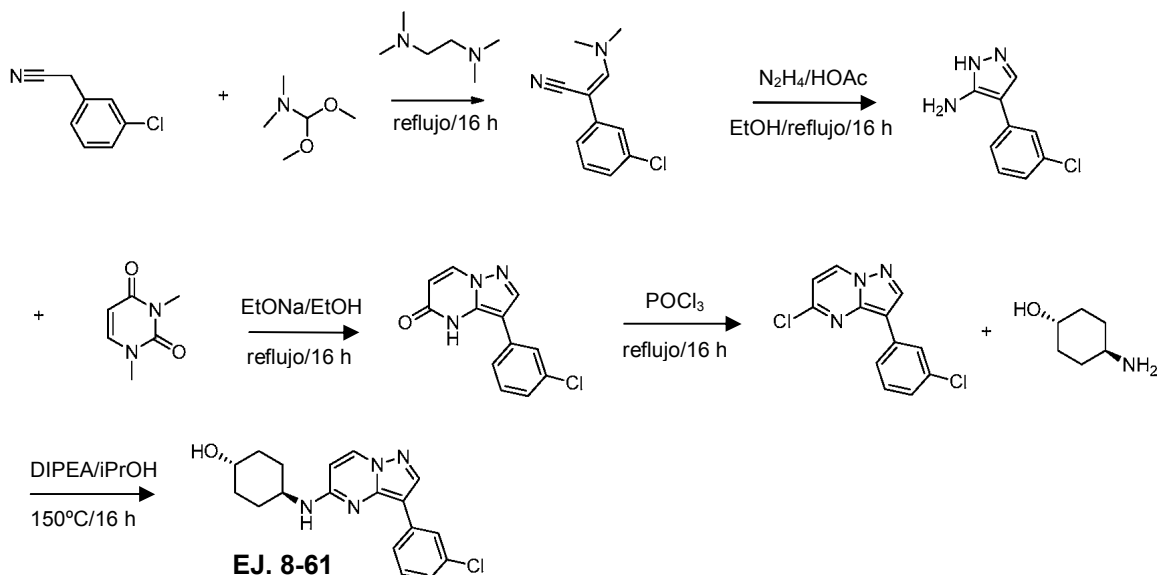
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 8,66 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,12 (d, 1H), 7,52 (t, 1H), 7,40 (d, 1H), 6,31 (d, 1H), 3,50 (d, 2H), 3,18 (m, 4H), 2,21 (m, 3H), 1,88 (m, 2H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 425,5.

60. 4-(3-(3-(Trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)tiomorfolina 1,1-dióxido (EJ. 8-60).



5  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 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, 4H), 3,28 (m, 4H), 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 of 3-(dimetilamino)-2-(3-clorofenil)acrilonitrilo.

10 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 dimetilacetal de dimetilformamida (20 mL) se calentó a reflujo durante 4 h. Al enfriar, la reacción se repartió entre EtOAc y disolución 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 no purificado se purificó por cromatografía (acetato de etilo/hexano, 0-10%) en gel de sílice (24 gramos) para dar el producto puro (6,8 gramos, 33,0 mmoles, rendimiento de 100%).

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

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

20 Una mezcla de acrilonitrilo (5,0 g, 24,19 mmoles), hidrazina hidratada (7,75 gramos, 242 mmoles), y ácido acético glacial (14,53 gramos, 242 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 (4,0 gramos, 20,66 mmoles, rendimiento de 85%).

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ /400 MHz):  $\delta$  7,63 (m, 1H), 7,52 (m, 1H), 7,42 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 1H), 7,33 (t,  $J$  = 8,0 Hz, 1H), 7,17 (d,  $J$  = 8,0 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

25 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 sódico (1,97 gramos, 28,9 mmoles) y al completar 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 dar el producto (4,0 gramos, 16,28 mmoles, rendimiento de 79%). No se necesitó cromatografía para esta etapa.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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.

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

Una mezcla de pirazolopirimidinona (4,0 gramos, 16,28 mmoles) se trató con 10 mL de  $\text{POCl}_3$  y la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. Al enfriar, después de separar el disolvente en el evaporador rotatorio, la reacción se vertió sobre hielo, se alcalinizó cuidadosamente con disolución 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 dar el producto (0,65 gramos, 2,46 mmoles, rendimiento de 15%).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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.

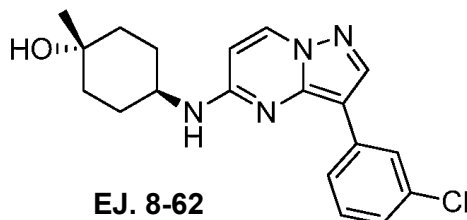
#### Síntesis de 4-((3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexanol

A una disolución de 3-cloro-5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina (0,150 gramos, 0,568 mmoles) y trans-1,4-diaminociclohexano (0,131 gramos, 1,14 mmoles) en iso-propanol (5 mL) se añadió DIPEA (0,177 gramos, 2,272 mmoles) y la mezcla se calentó a  $150^\circ\text{C}$  durante 12 h bajo irradiación por microondas. La disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando 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%).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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.

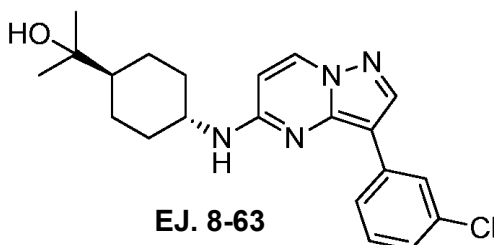
Los EJ. 8-62 a EJ. 8-67 y EJ. 8-69 se prepararon usando procedimientos similares a los del EJ. 8-61.

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



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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, 4H), 1,50 (m, 2H), 1,29 (s, 6H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 357,5.

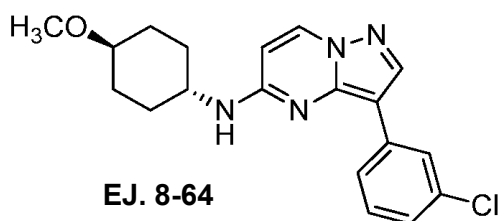
#### 63. 4-((3-(3-Clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (EJ. 8-63).



$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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, 4H), 1,50 (s, 6H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 385,5.

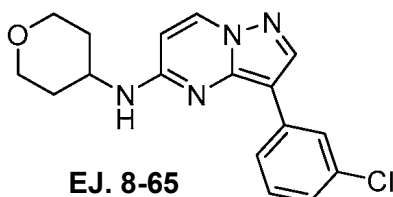
#### 64. 3-((3-(3-Clorofenil)-N-4-metoxi-trans-ciclohexil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina (EJ. 8-64).





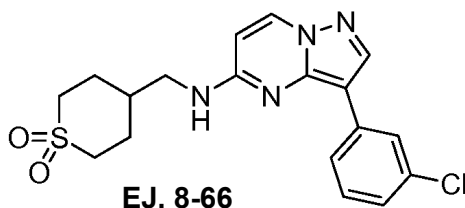
<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,40 (s, 1H), 8,23 (m, 2H), 7,80 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,29 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,05 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,22 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,30 (m, 1H), 2,25 (m, 2H), 2,15 (m, 2H), 1,45 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 357,5.

- 5 65. 3-((3-Clorofenil)-N-(tetrahidro-2H-piran-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina (EJ. 8-65).



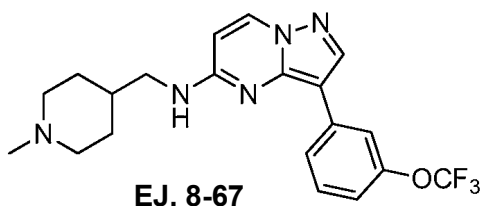
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 8,32 (s, 1H), 8,15 (m, 2H), 7,72 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,26 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,23 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,00 (m, 2H), 3,62 (t, *J* = 12,0 Hz, 2H), 2,17 (m, 2H), 1,62 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 329,5.

- 10 66. 4-(((3-(3-Clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopiran1,1-dióxido (EJ. 8-66).



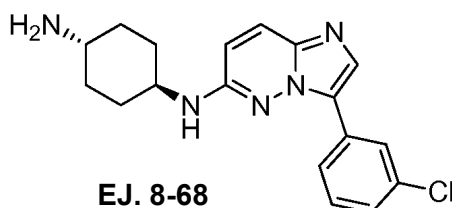
<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,35 (s, 1H), 8,28 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,81 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,31 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,29 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 3,46 (m, 2H), 3,10 (m, 4H), 2,27 (m, 3H), 1,89 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 391,4.

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



<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,26 (m, 3H), 7,86 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,37 (m, 1H), 6,99 (d, *J* = 8,0 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, 3H), 2,11 (t, *J* = 12,0 Hz, 1H), 1,89 (m, 3H), 1,44 (m, 2H), 1,29 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 391,4.

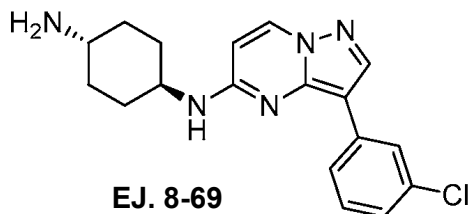
- 20 68. N1-(3-(3-Clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-trans-diamina (EJ. 8-68).



El EJ. 8-68 se preparó usando procedimientos similares a los del EJ. 8-8.

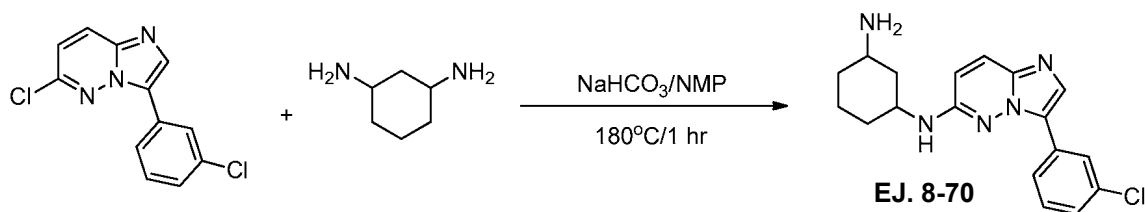
<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,42 (s, 1H), 7,84 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,59 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,37 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,27 (m, 1H), 6,66 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,01 (m, 1H), 2,33 (m, 2H), 2,08 (m, 2H), 1,56 (m, 2H), 1,38 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 325,5.

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



<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 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, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 325,5.

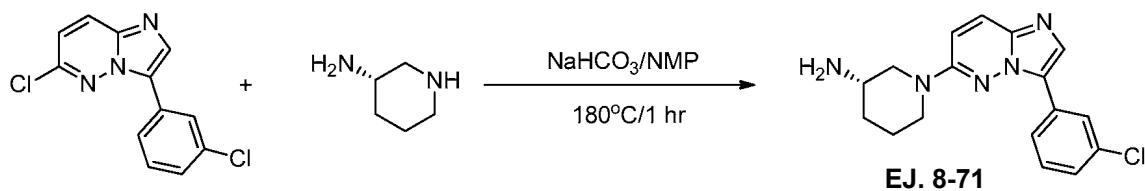
- 10 70. N<sup>1</sup>-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,3-diamina (EJ. 8-70)



A una disolución 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 añadió NaHCO<sub>3</sub> (32 mg, 0,38 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 60 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar N<sup>1</sup>-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,3-diamina (30 mg, 0,088 mmoles, 23%) como un sólido amarillo pálido.

- 15 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 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, 3H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 342,5.

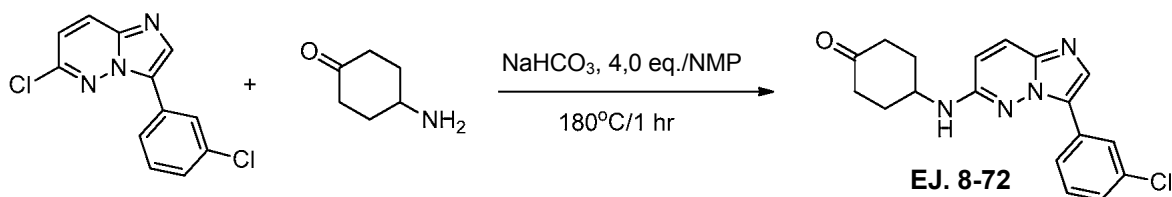
- 20 71. (S)-1-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)piperidin-3-amina (EJ. 8-71).



A una disolución 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 añadió NaHCO<sub>3</sub> (118 mg, 1,52 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 60 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar (S)-1-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)piperidin-3-amina (32 mg, 0,098 mmoles, 13%) como un sólido amarillo pálido.

- 25 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 8,19 (s, 1H), 7,87 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,66 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,34 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,07 (d, J = 10,0 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 (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H)<sup>+</sup>: 328,6.

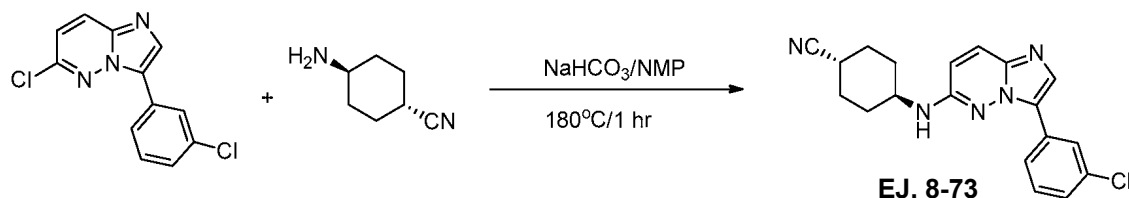
72. 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (EJ. 8-72).



A una disolución 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 añadió  $\text{NaHCO}_3$  (118 mg, 1,52 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 60 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (40 mg, 0,117 mmoles, 16%) como un sólido amarillo pálido.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{Cl}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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.

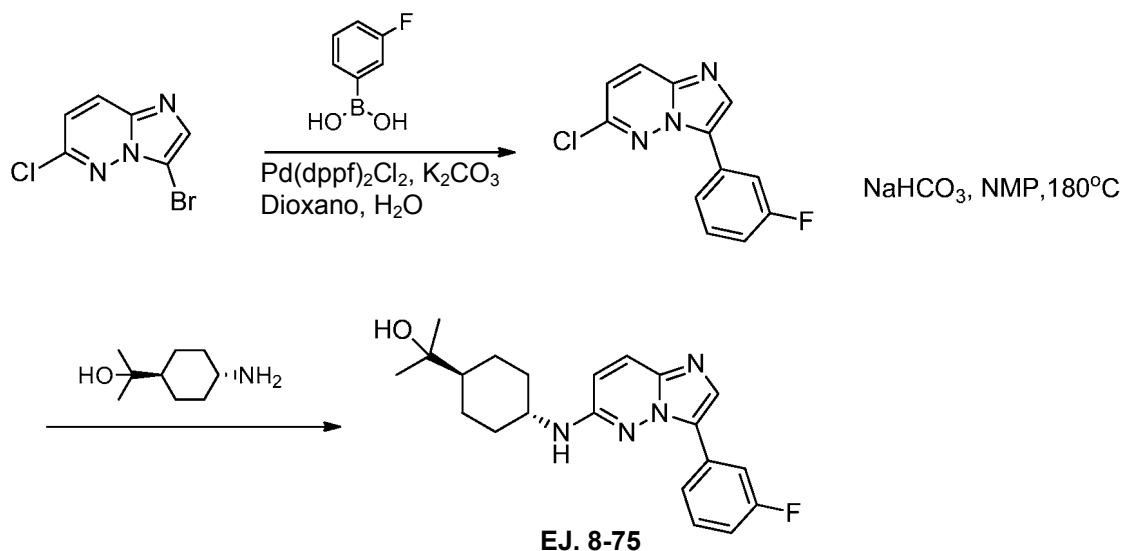
73. 4-*trans*-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (EJ. 8-73).



A una disolución 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 añadió  $\text{NaHCO}_3$  (102 mg, 1,212 mmoles), la mezcla se agitó a 180°C durante 60 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar 4-*trans*-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (20 mg, 0,057 mmoles, 23%) como sólido blanco.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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).

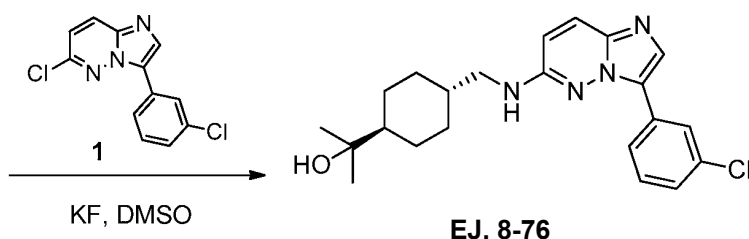
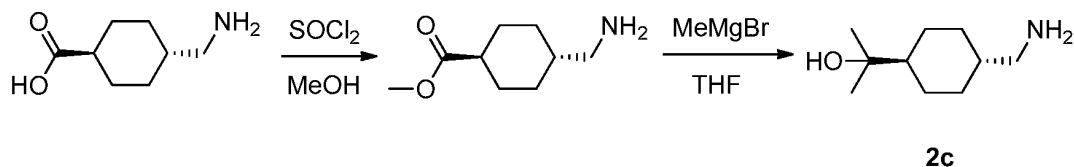


A una disolución de 3-bromo-6-cloroimidazo[1,2-b]piridazina (500 mg, 2,15 mmoles) en un disolvente mixto de dioxano (5 mL) y agua (0,5 mL) se añadió ácido (3-fluorofenil)borónico (273 mg, 1,96 mmoles),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (811 mg, 5,88 mmoles) y  $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$  (79 mg, 0,098 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a 80°C durante la noche bajo  $\text{N}_2$ . La TLC (PE: EA = 5:1) mostró que el material de partida se había consumido. La mezcla se enfrió y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/ $\text{EtOAc}$  = 20:1 a 1:1) para dar 6-cloro-3-(3-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (300 mg, 56%) como un sólido amarillo.

A una disolución de dar 6-cloro-3-(3-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (100 mg, 0,404 mmoles) en NMP (2 mL) se 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 reacción de M.W. (microondas). La LCMS mostró que la reacción fue completa. 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 por HPLC preparativa para dar el EJ. 8-75 (10,6 mg, 7,2%) como un sólido amarillo.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): 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 (br, 1H), 2,36 (br, 2H), 2,00 (br, 2H), 1,42-1,26 (m, 5H), 1,21 (s, 6H), 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).



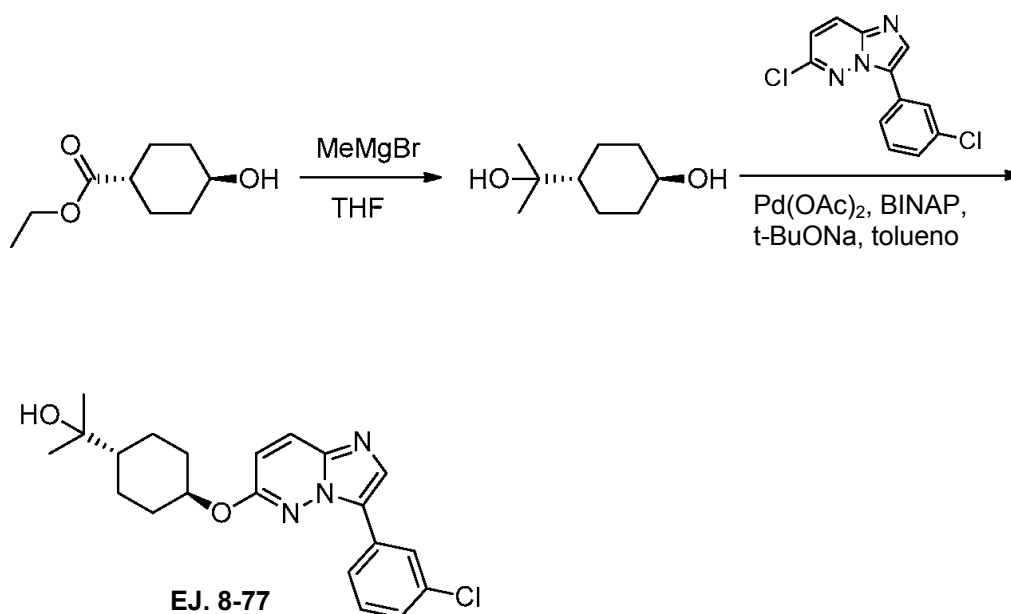
A una disolución de ácido trans-4-(aminometil)ciclohexanocarboxílico (2 g, 12,7 mmoles) en MeOH (64 mL) se añadió gota a gota cloruro de tionilo (0,93 mL, 12,7 mmoles) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla se concentró a vacío hasta sequedad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

A una disolución de trans-4-(aminometil)ciclohexanocarboxilato de metilo (1 g, 5,8 mmoles) en THF (50 mL) se 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 inactivó 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 dar 2-(trans-4-(aminometil)ciclohexil)propan-2-ol (0,42 g, 39,2%) como un sólido 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. La LCMS mostró que la reacción fue completa. 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 por prep-HPLC para dar el EJ. 8-76 (12 mg, 8%) como un sólido amarillo.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): 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 (br, 1H), 1,35-1,31 (m, 1H), 1,15 (s, 6H), 1,15-1,02 (m, 4H), 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).

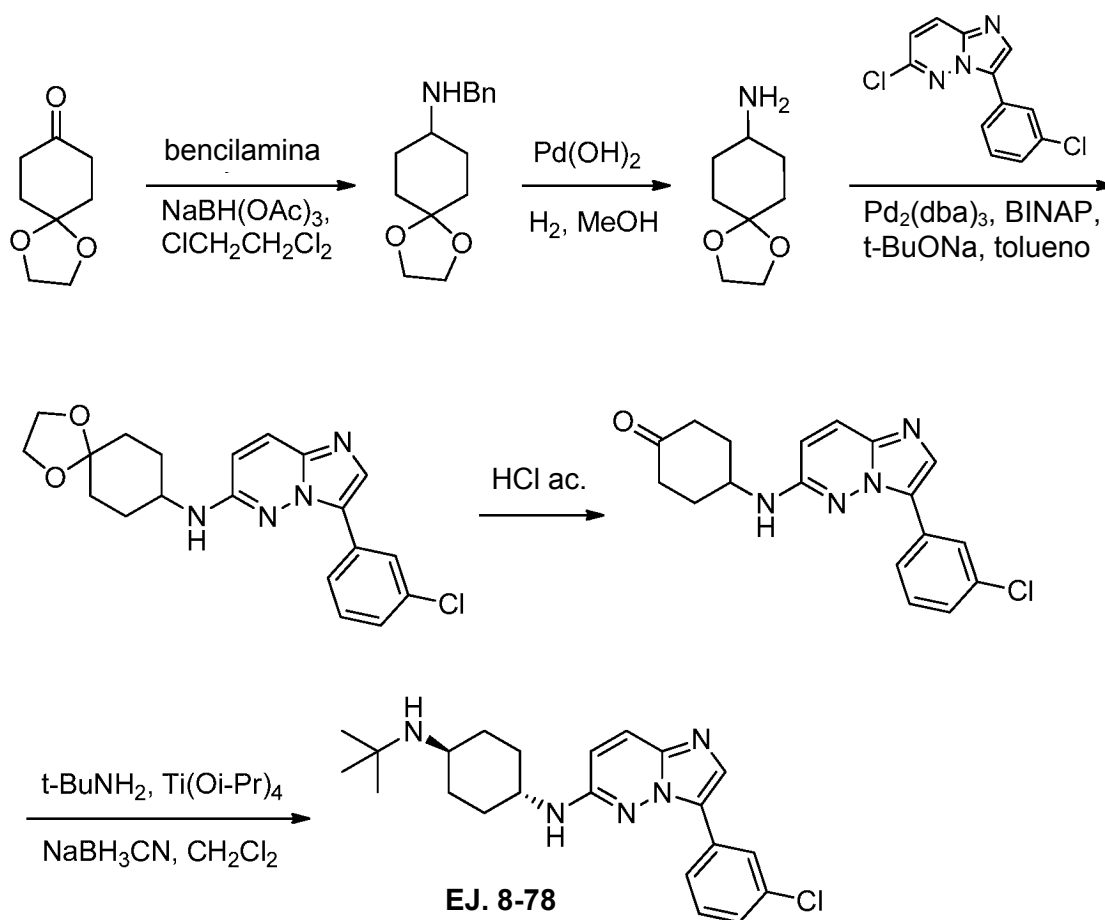


A una disolución de trans-4-hidroxiciclohexanocarboxilato de etilo (1 g, 5,8 mmoles) en THF (50 mL) se añadió gota a gota bromuro de metilmagnesio (7,7 mL, 23,2 mmoles) a  $-78^{\circ}\text{C}$ . La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que la reacción fue completa.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

A una disolución de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (100 mg, 0,378 mmoles) en tolueno (2 mL) se añadió trans-4-(2-hidroxipropán-2-il)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 llenó con nitrógeno y se mantuvo a  $120^{\circ}\text{C}$  durante 1 h con reacción de M.W. (microondas). La LCMS mostró que la reacción fue completa. La mezcla se vertió en salmuera (100 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL \* 3). Los extractos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar trans-4-(2-hidroxipropán-2-il)ciclohexanol (13 mg, 8,6%) como un sólido amarillo.

$^1\text{H}$  NMR (DMSO, 400MHz):  $\delta$  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, 3H), 1,02 (s, 6H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 386,2.

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



Una disolución de 1,4-dioxaspiro[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 fue completa. La mezcla se repartió entre  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado (500 mL) y EtOAc (200 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró a vacío para dar *N*-bencil-1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-amina (18 g, 115%) como un líquido amarillo, que se usó directamente en la etapa siguiente.

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 50 psi (344,74 kPa) de  $\text{H}_2$  a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La TLC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : MeOH = 10:1) mostró que la reacción fue completa. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a vacío para dar 1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-amina (2,1 g, 110%) como un aceite marrón.

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  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  en tolueno (10 mL) se llenó con  $\text{N}_2$  y se agitó a 110°C durante la noche. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que el material de partida estaba casi consumido. La mezcla se repartió entre agua (150 mL) y EtOAc (100 mL). La capa orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó por combiflash para dar 3-(3-clorofenil)-*N*-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (420 mg, 57,8%) como un sólido amarillo.

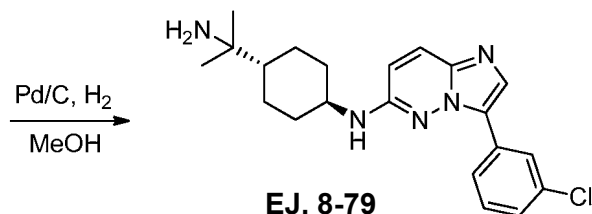
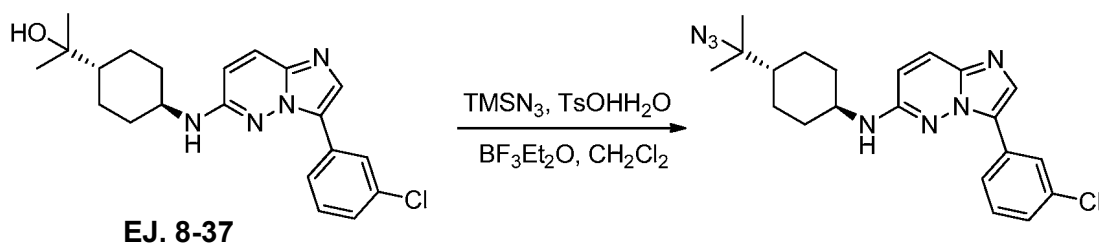
A una disolución de 3-(3-clorofenil)-*N*-(1,4-dioxaspiro[4.5]decan-8-il)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (210 mg, 0,55 mmoles) en THF (3 mL) se añadió HCl 3 N (3 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La TLC (EtOAc) mostró que la reacción fue completa. La mezcla se vertió en  $\text{NaHCO}_3$  (acuoso) saturado y se extrajo con EtOAc (100 mL X 3). Las capas orgánicas se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío para dar 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (190 mg, 102%) como un sólido amarillo.

A una disolución, 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  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1,2 mL) se añadió gota a gota  $\text{Ti}(\text{Oi-Pr})_4$  (0,27 mL, 0,92 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La LCMS mostró que la reacción fue completa. La mezcla se vertió en agua (150 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL \* 3). Las capas orgánicas se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar el

EJ. 8-78 (15 mg, 16,5%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 8,56 (t, *J* = 1,72 Hz, 1H), 8,45 (br, 0,66H), 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, 9H), 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).

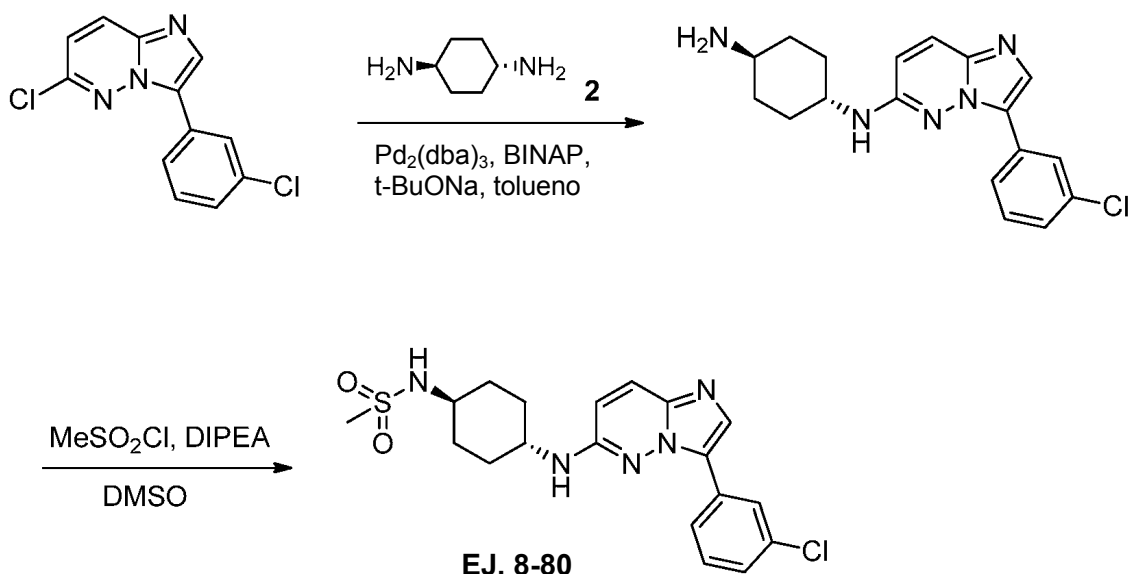


A una disolución de TMSN<sub>3</sub> (93 mg, 0,78 mmoles), TsOH·H<sub>2</sub>O (49 mg, 0,26 mmoles) y BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (74 mg, 0,52 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1,3 mL) se añadió lentamente gota a gota una disolución del EJ. 8-37 (100 mg, 0,26 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL) a 0°C. Tras 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 fue completa. La mezcla se vertió en agua (150 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL \* 3). Las capas orgánicas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío para dar N-(trans-4-(2-azidopropan-2-il)ciclohexil)-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (80 mg) sin purificar como un aceite amarillo, que se usó directamente en la etapa siguiente.

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 50 psi (344,74 kPa) de H<sub>2</sub> a temperatura ambiente durante 48 h. La LCMS mostró que la reacción fue completa. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a vacío. El residuo se purificó por HPLC preparativa para dar el EJ. 8-79 (4 mg, 5%) como un sólido blanquecino.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 8,49 (s, 1H), 8,29 (br, 0,68H), 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, 4H), 1,39-1,29 (m, 4H), 1,25 (s, 6H), 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).



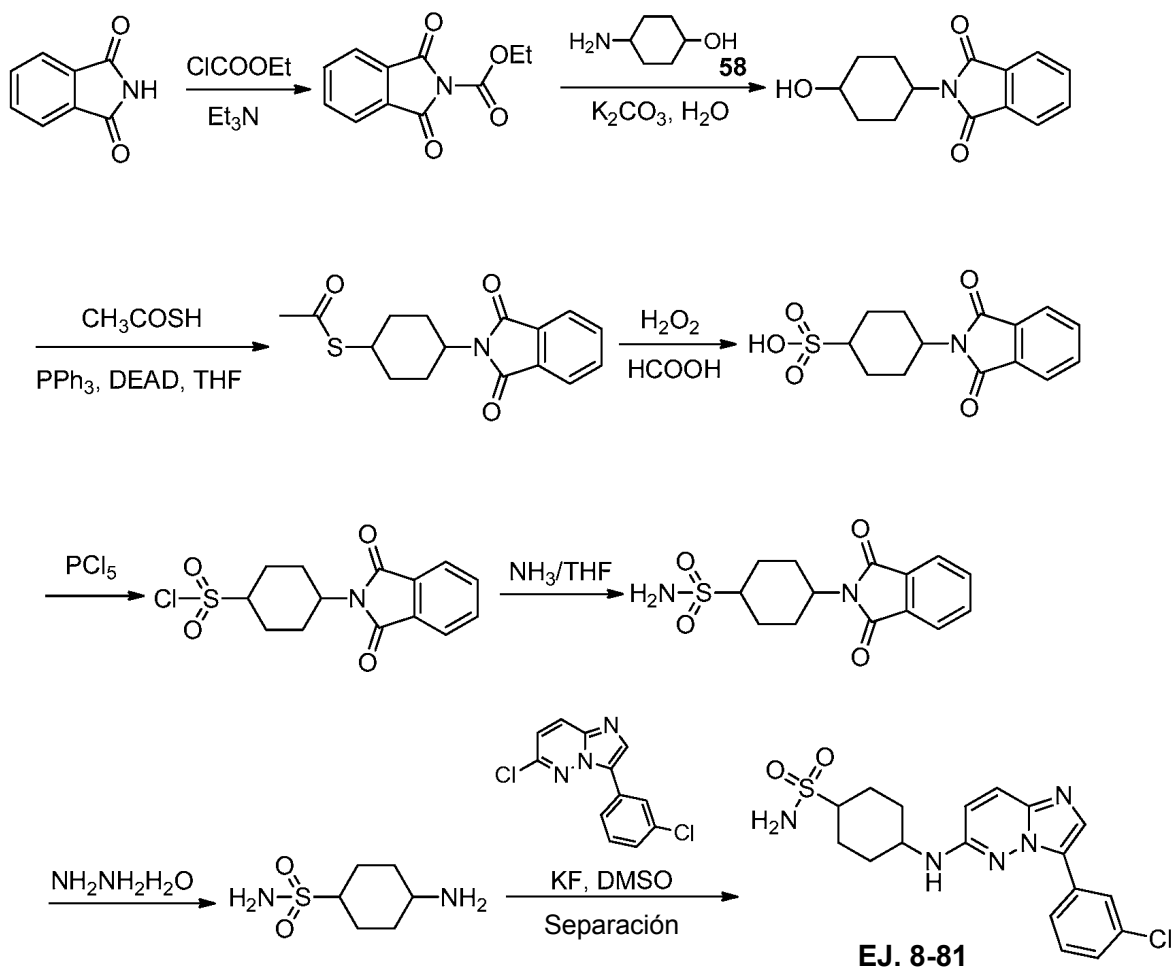
A una mezcla de 6-cloro-3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina (500 mg, 1,89 mmoles) en tolueno (10 mL) se añadió trans-ciclohexano-1,4-diamina (215,9 mg, 1,89 mmoles), t-BuONa (302,4 mg, 3,78 mmoles), BINAP (117,7 mg, 0,189 mmoles), Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (173 mg, 0,189 mmoles). La mezcla se llenó con N<sub>2</sub> y se calentó a 110°C durante 4 h. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que la reacción fue completa. 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 por combiflash (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 0 ~ 10:1) para dar trans-N1-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (240 mg, rendimiento: 37%) como un sólido amarillo.

A una disolución, 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 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 la mayor parte del material de partida se convirtió. 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 por prep-HPLC para dar el EJ. 8-80 (10,8 mg, 18%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO, 400MHz): δ 8,53 (s, 1H), 8,23 (br, 0,4H), 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, 3H), 2,17 (d, J = 10,4 Hz, 2H), 1,98 (d, J = 10,4 Hz, 2H), 1,46-1,30 (m, 4H), 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 disolución de isoindolin-1,3-diona (2 g, 13,6 mmoles) en Et<sub>3</sub>N (60 mL) se 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 del 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 dar 1,3-dioxoisoindolin-2-carboxilato de etilo (1,67 g, 53,08%) como un sólido blanco.

A una disolución de 1,3-dioxoisoindolin-2-carboxilato de etilo (1,67 g, 7,19 mmoles) en agua (16 mL) se añadió 4-aminociclohexanol (1,31 g, 8,63 mmoles), seguido por 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 fue completa. La mezcla se filtró y el sólido se secó a vacío para dar 2-(4-hidroxyciclohexil)isoindolin-1,3-diona (1 g, 56,82%) como un sólido marrón.

A una disolución de PPh<sub>3</sub> (1,28 g, 4,9 mmoles) en THF (12 mL) se añadió gota a gota DEAD (852 mg, 4,9 mmoles) a -10°C. Después de que apareció el sólido blanco, se añadió el compuesto 2-(4-hidroxyciclohexil)isoindolin-1,3-diona (600 mg, 2,45 mmoles), seguido por 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 fue completa. 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 dar etanotioato de S-(4-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)ciclohexilo) (600 mg, 81%) como un sólido blanco.

Una disolución de peróxido de hidrógeno (0,8 mL) en ácido fórmico (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Tras 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 fue completa. La mezcla se enfrió en un baño de hielo y se añadió Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> sólido lentamente 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 combiflash (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 10:1) para dar ácido 4-(1,3-dioxoisoindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfónico (400 mg, 98%) como un sólido 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 después la mezcla se calentó a 100°C y se agitó durante 2 h. Tras enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se lavó con EtOAc (150 mL X 3). Los extractos combinados se

concentraron a vacío para dar cloruro de 4-(1,3-dioxoisindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfonilo sin purificar (5 g, 68%) como un sólido blanco, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Una mezcla de cloruro de 4-(1,3-dioxoisindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfonilo (5 g, 15,2 mmoles) en  $\text{NH}_3/\text{THF}$  (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 estado caliente. El filtrado se concentró a vacío para dar 4-(1,3-dioxoisindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfonamida (3 g, 64%) como un sólido blanquecino.

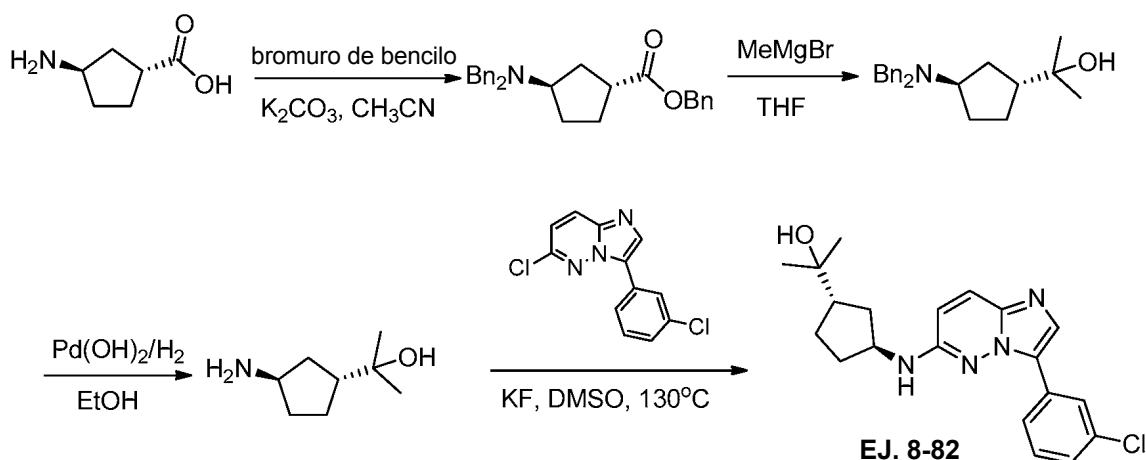
Una mezcla de 4-(1,3-dioxoisindolin-2-il)ciclohexano-1-sulfonamida (3 g, 9,7 mmoles) y  $\text{NH}_2\text{NH}_2\text{H}_2\text{O}$  (1 mL) en EtOH (15 mL) se calentó a reflujo durante 30 min. Tras enfriar, el pH se ajustó a 5 con HCl diluido. La mezcla se concentró a vacío. El residuo se disolvió con HCl al 35% (10 mL) y se calentó hasta que todo el material sólido se disolvió. Después de enfriar, se filtró un material cristalino y el filtrado se concentró para dar 4-aminociclohexano-1-sulfonamida sin purificar (700 mg, 40%) como un sólido amarillo, que se usó 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 fue completa. La mezcla se vertió en salmuera (80 mL) y se extrajo con EtOAc (30 mL X 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 preparativa para dar dos isómeros: el isómero 1 del EJ. 8-81 (7,0 mg) y el isómero 2 del EJ. 8-81 (8,1 mg) como sólido blanco.

Isómero 1 del EJ. 8-81.  $^1\text{H}$  NMR (MeOD, 400MHz):  $\delta$  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, 4H), 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.  $^1\text{H}$  NMR (MeOD, 400MHz):  $\delta$  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-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclopentil)propan-2-ol (EJ. 8-82).



A una mezcla, a  $80^\circ\text{C}$ , 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 añadió gota a gota una disolución 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 \* 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 dar trans-3-(dibencilamino)ciclopentanocarboxilato de bencilo (2,8 g, 90,6%) como un sólido blanco.

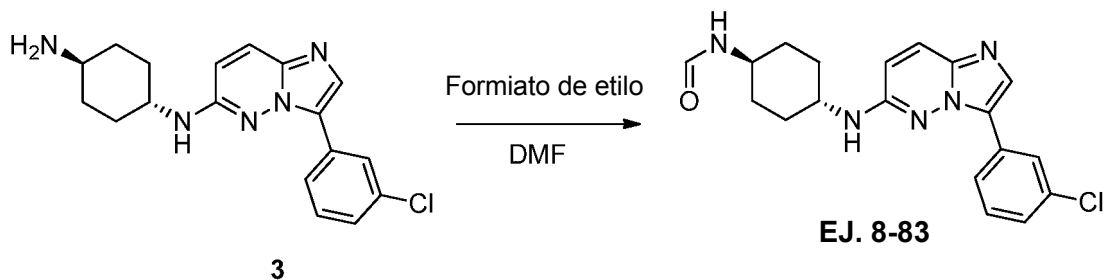
A una disolución, a  $0^\circ\text{C}$ , de trans-3-(dibencilamino)ciclopentanocarboxilato de bencilo (2,8 g, 7 mmoles) en THF (250 mL) se añadió gota a gota MeMgBr (23 mL, 70 mmoles). Tras la adición, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC (PE) mostró que la reacción fue completa. La mezcla se enfrió y se vertió en  $\text{NH}_4\text{Cl}$  saturado (300 mL) y se extrajo con EtOAc (100 mL \* 3). Los extractos combinados se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a vacío para dar 2-(trans-3-(dibencilamino)ciclopentil)propan-2-ol sin purificar (3 g, 133%) como un líquido 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 hidrogenó a 50 psi (344,74 kPa) de  $\text{H}_2$  durante 48 h a temperatura ambiente. La TLC (PE: EA = 5:1) mostró que la reacción fue completa. La mezcla se filtró y se concentró a vacío para dar 2-(trans-3-aminociclopentil)propan-2-ol sin purificar (1 g, 77%) como un aceite 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°C durante la noche. La LCMS mostró que la reacción fue completa. 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 por prep-HPLC para dar el EJ. 8-82 (45 mg, 32%) como un sólido blanquecino.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): 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, 3H), 1,51-1,43 (m, 1H), 1,23 (s, 6H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H<sup>+</sup>): 371,1

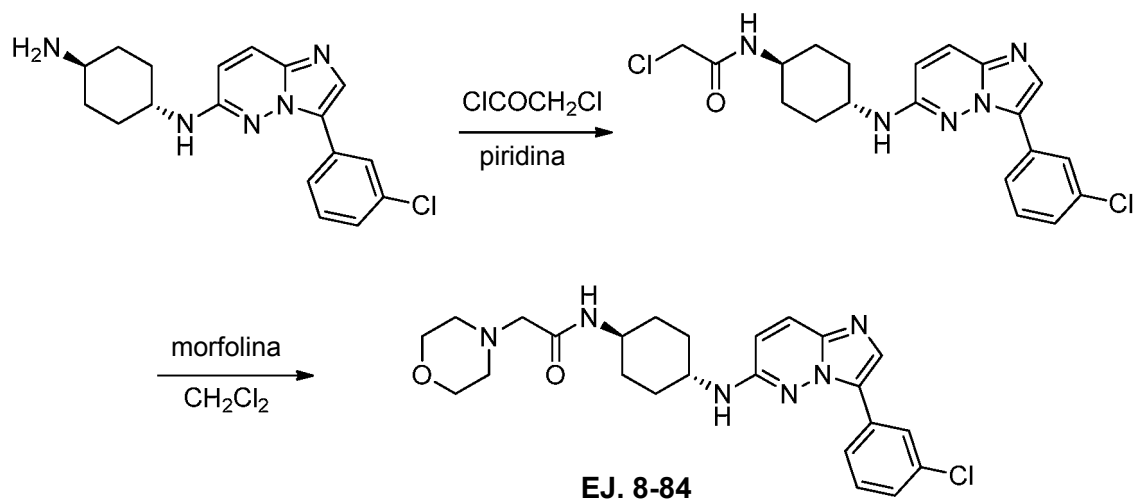
83. N-(trans-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)formamida (EJ. 8-83).



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 fue completa. La mezcla se concentró a vacío y se purificó por prep-HPLC para dar el EJ. 8-83 (22 mg, 41%) como un sólido blanquecino.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 8,47 (s, 1H), 8,23 (br, 0,36H), 7,98 (s, 1H), 7,88 (d, *J* = 8,0Hz, 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, 4H), 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).



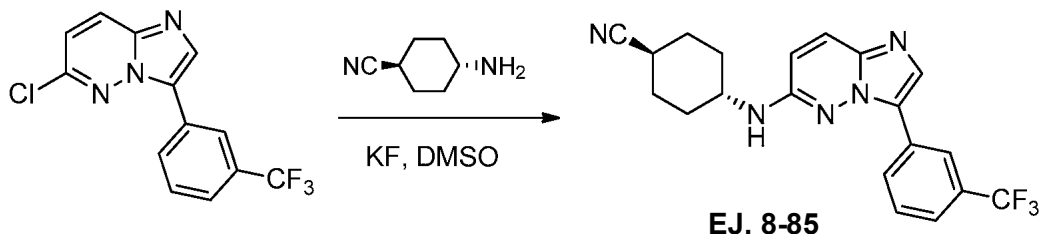
A una disolución de trans-N1-(3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)ciclohexano-1,4-diamina (90 mg, 0,26 mmoles) y piridina (0,08 mL, 1,04 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2,6 mL) se añadió gota a gota cloruro de cloroacetilo (0,03 mL, 0,39 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH = 10:1) mostró que la reacción fue completa. La mezcla se vertió en NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (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 dar 2-cloro-N-(trans-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)acetamida sin purificar (110 mg, 101 %) como un sólido 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), morfina (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 fue completa. 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 por

prep-HPLC para dar el EJ. 8-84 (9,6 mg, 17%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): 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, 6H), 3,36-3,30 (m, 1H), 3,36-3,30 (m, 1H), 3,30-3,20 (m, 1H), 2,84 (br, 4H), 2,31 (d, J = 12,8 Hz, 2H), 2,02 (d, J = 12,8 Hz, 2H), 1,54-1,40 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H<sup>+</sup>): 469,3.

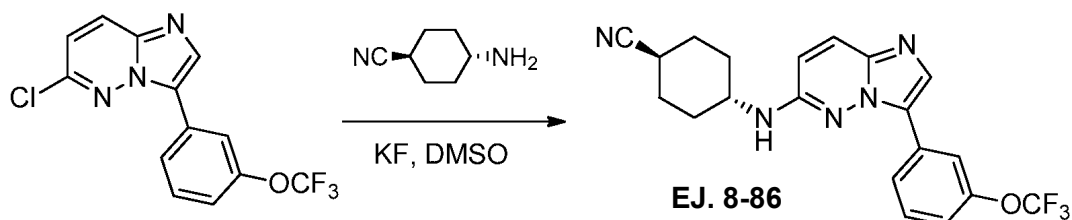
85. trans-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (EJ. 8-85).



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 mg, 0,73 mmoles) en DMSO (0,5 mL) se calentó a 130°C durante la noche. La LCMS mostró que la reacción fue casi completa. La mezcla se purificó mediante HPLC preparativa para dar trans-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (20 mg, 30,8%) como un sólido blanquecino.

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

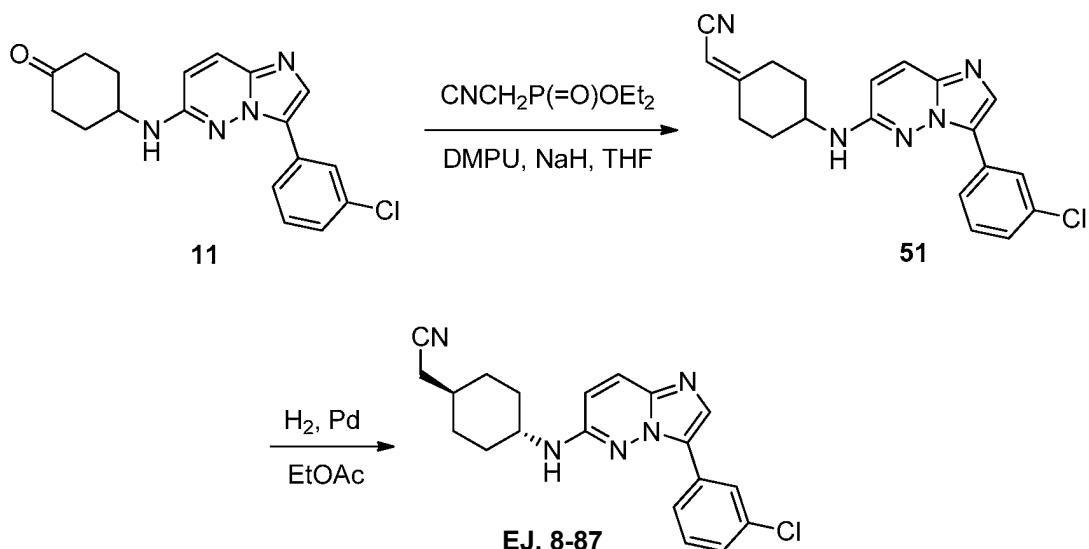
86. trans-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (EJ. 8-86).



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

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 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<sub>1</sub> = 10,65 Hz, J<sub>2</sub> = 3,44 Hz, 1H), 2,73 (tt, J<sub>1</sub> = 11,68 Hz, J<sub>2</sub> = 3,44 Hz, 1H), 2,31-2,20 (m, 4H), 1,76 (q, J = 12,02 Hz, 2H), 1,43 (q, J = 12,02 Hz, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H<sup>+</sup>): 402,2.

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

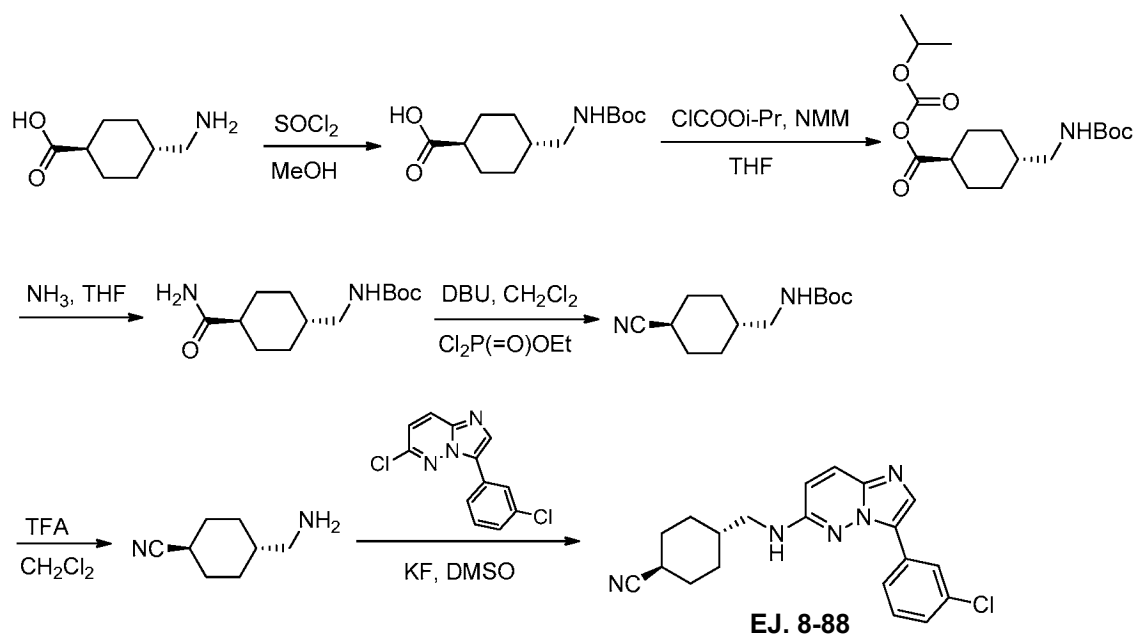


A una disolución, a 0°C, de cianometilfosfonato de dietilo (0,07 mL, 0,4 mmoles) en THF (1,5 mL) se añadió DMPU (0,27 mL, 1 mmol), seguido por NaH (15 mL, 0,37 mmoles). Tras agitar durante 10 min, se añadió una disolución de 4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (130 mg, 0,38 mmoles) en THF (1,5 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La TLC (EA) mostró que la mayor parte del s.m. (material de partida) 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a vacío para dar 2-(4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexiliden)acetonitrilo sin purificar (100 mg, 69%) como un sólido amarillo.

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

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz): δ 8,51 (s, 1H), 8,17 (br, 0,4H), 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 (br, 1H), 1,48-1,32 (m, 4H), 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 disolución de ácido trans-4-(aminometil)ciclohexanocarboxílico (2 g, 12,7 mmoles) en MeOH (64 mL) se 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 dar ácido trans-4-(((*tert*-butoxicarbonil)amino)metil)ciclohexanocarboxílico sin purificar (2,5 g, 115%) como sal de HCl, que se usó directamente en la siguiente etapa.

A una suspensión de ácido trans-4-(((*tert*-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 clorofornato de isopropilo (1,79 g, 17,6 mmoles) por debajo de 10°C. La mezcla que contenía anhídrido trans-4-(((*tert*-butoxicarbonil)amino)metil)ciclohexanocarboxílico (isopropil carbónico) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La TLC (PE: EA = 1:1) mostró que la reacción fue completa. La mezcla se usó directamente en la etapa siguiente.

La mezcla anterior se enfrió nuevamente a 10°C y se añadió hidróxido amónico (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 dar ((trans-4-carbamoilciclohexil)metil)carbamato de *tert*-butilo (1,7 g, 74%) como un sólido blanco.

A una disolución de ((trans-4-carbamoilciclohexil)metil)carbamato de *tert*-butilo (1,7 g, 6,6 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (33 mL) se 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 fue completa. La mezcla se vertió en NH<sub>4</sub>Cl saturado (acuoso, 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 dar ((trans-4-cianociclohexil)metil)carbamato de *tert*-butilo (1,4 g, 88%) como un sólido blanco.

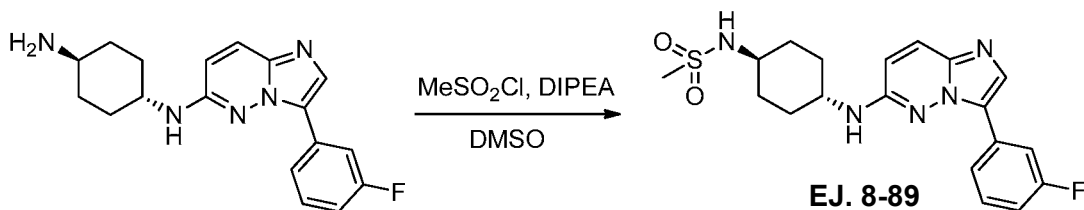
A una disolución de ((trans-4-cianociclohexil)metil)carbamato de *tert*-butilo (1,4 g, 5,86 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) se añadió TFA (20 mL) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La TLC (PE: EA = 5:1) mostró que la reacción fue completa. La mezcla se concentró a vacío para dar trans-4-(aminometil)ciclohexanocarbonitrilo (2,6 g, 319%) como 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 la reacción fue casi completa. La mezcla se purificó mediante HPLC preparativa para dar el EJ. 8-88 (26 mg, 38%) como un sólido blanquecino.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz): δ 8,48 (t, *J* = 1,89 Hz, 1H), 8,19 (br, 0,3H), 7,95 (dt, *J*<sub>1</sub> = 7,90 Hz, *J*<sub>2</sub> = 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*<sub>1</sub> = 8,07 Hz, *J*<sub>2</sub> = 0,86 Hz, 1H), 6,76 (d, *J* = 9,62 Hz, 1H), 3,28 (d, *J* = 6,87 Hz, 2H), 2,60 (tt, *J*<sub>1</sub> = 12,02 Hz, *J*<sub>2</sub> = 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*<sub>1</sub> = 13,06 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,26 Hz, 1H), 1,14 (qd, *J*<sub>1</sub> = 12,71 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,26 Hz, 1H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H<sup>+</sup>): 366,1.

El EJ. 8-89, EJ. 8-90 y EJ. 8-91 se prepararon usando procedimientos similares a los del EJ. 8-80.

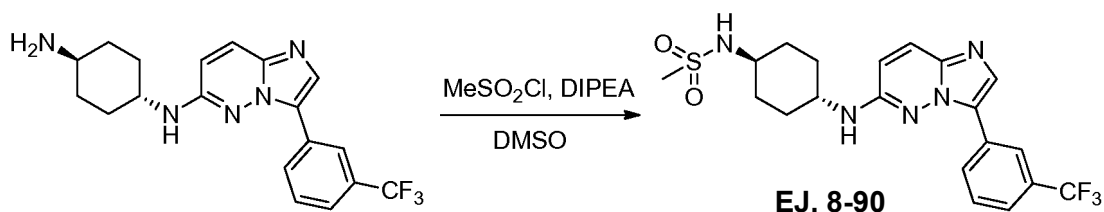
89. N-(trans-4-((3-(3-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)metanosulfonamida (EJ. 8-89).



A una disolución, 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 moles) en DMSO (2,8 mL) se añadió gota a gota MeSO<sub>2</sub>Cl (63,4 mg, 0,55 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La LCMS mostró que la mayor parte del material de partida se convirtió. 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 prep-HPLC para dar el EJ. 8-89 (13 mg, 6%) como un sólido marrón.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400 MHz): δ 8,13 (dt, *J*<sub>1</sub> = 10,65 Hz, *J*<sub>2</sub> = 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*<sub>1</sub> = 8,25 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2,40 Hz, 1H), 6,96 (d, *J* = 9,62 Hz, 1H), 3,70 (tt, *J*<sub>1</sub> = 10,65 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,78 Hz, 1H), 3,32-3,27 (m, 1H), 2,99 (s, 3H), 2,30 (d, *J* = 12,02 Hz, 2H), 2,15 (d, *J* = 11,68 Hz, 2H), 1,58-1,40 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H<sup>+</sup>): 404,0.

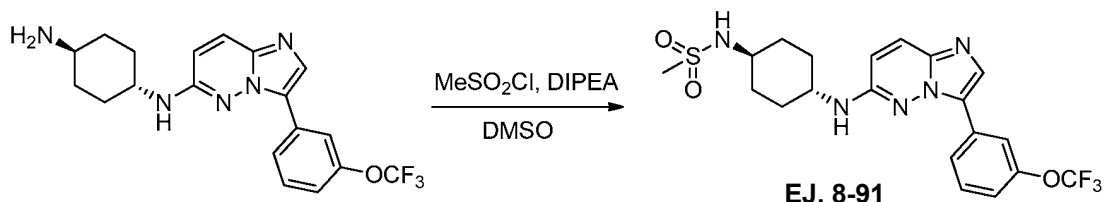
90. N-(trans-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)metanosulfonamida (EJ. 8-90).



A una disolución, 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, 10,5 mmoles) en DMSO (1,75 mL) se añadió gota a gota MeSO<sub>2</sub>Cl (47,6 mg, 0,42 mmoles). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La LCMS mostró que la mayor parte del material de partida se convirtió. 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 prep-HPLC para dar el EJ. 8-90 (30 mg, 18,9%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 8,73 (s, 1H), 8,28 (d, *J* = 6,87 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,69-7,67 (m, 3H), 6,77 (d, *J* = 9,62 Hz, 1H), 3,74 (tt, *J*<sub>1</sub> = 10,65 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,78 Hz, 1H), 3,29-3,26 (m, 1H), 2,99 (s, 3H), 2,28 (d, *J* = 11,68 Hz, 2H), 2,12 (d, *J* = 12,35 Hz, 2H), 1,56-1,39 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H<sup>+</sup>): 454,7.

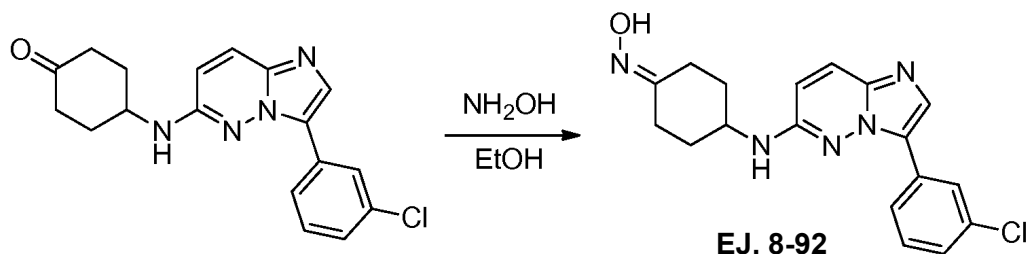
91. N-(trans-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexil)metanosulfonamida (EJ. 8-91).



A una disolución, 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 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 la mayor parte del material de partida se convirtió. 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 prep-HPLC para dar el EJ. 8-91 (57,1 mg, 26,4%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): 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, 3H), 2,29 (d, *J* = 12,37 Hz, 2H), 2,14 (d, *J* = 11,68 Hz, 2H), 1,57-1,38 (m, 4H), 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).

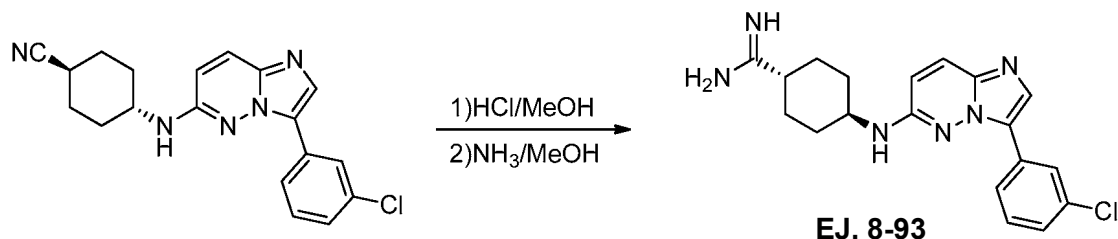


A una mezcla de hidrocloreto de hidroxilamina (15,3 mg, 0,22 mmoles) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (28 mg, 0,26 mmoles) en agua (0,7 mL) se añadió una disolución de 4-((3-(3-(clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanona (50 mg, 0,147 mmoles) en MeOH (0,5 mL) a 0°C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La LCMS mostró que la reacción fue completa. 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 prep-HPLC y después mediante SFC para dar el EJ. 8-92 (10 mg, 19%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): 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, 3H), 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).

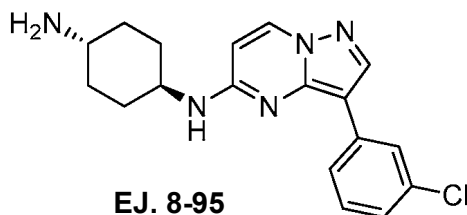


Se disolvió trans-4-((3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)amino)ciclohexanocarbonitrilo (100 mg, 0,252 mmoles) en HCl/MeOH (4 mL) y HCl/dioxano (4 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró a vacío y el residuo se disolvió en NH<sub>3</sub>/MeOH (4 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La LCMS mostró que la reacción fue completa. La mezcla se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa para dar el EJ. 8-93 (3,5 mg, 18,4%) como un sólido marrón.

<sup>1</sup>H NMR (MeOD, 400MHz): δ 8,42 (br, 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, 1H).

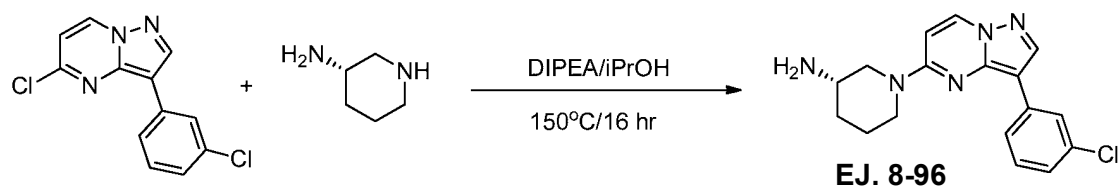
MS (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H<sup>+</sup>): 369,1; (M/2+H<sup>+</sup>): 185,4.

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



El EJ. 8-95 se preparó usando 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).

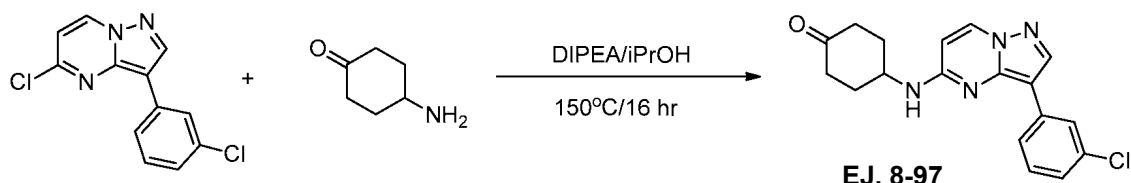


Una mezcla de 5-cloro-3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina (100 mg, 0,379 mmoles), (S)-piperidin-3-amina (76 mg, 0,757 mmoles), y DIEA (0,158 mL, 1,515 mmoles) en 2-propanol (3 mL) se irradió a 150°C durante 14h en un microondas Biotage. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado, 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> y se concentraron a vacío. Tras absorción en Celite, el compuesto se purificó mediante cromatografía (12 g de sílice, metanol al 0-15%/DCM) para dar (S)-1-(3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperidin-3-amina (35 mg, rendimiento de 28%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): 8,47 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,92 (m, 1H), 7,33 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,13 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,73 (d, J = 8,0 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 (ES<sup>+</sup>, m/z): (M+H<sup>+</sup>): 328,5.

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

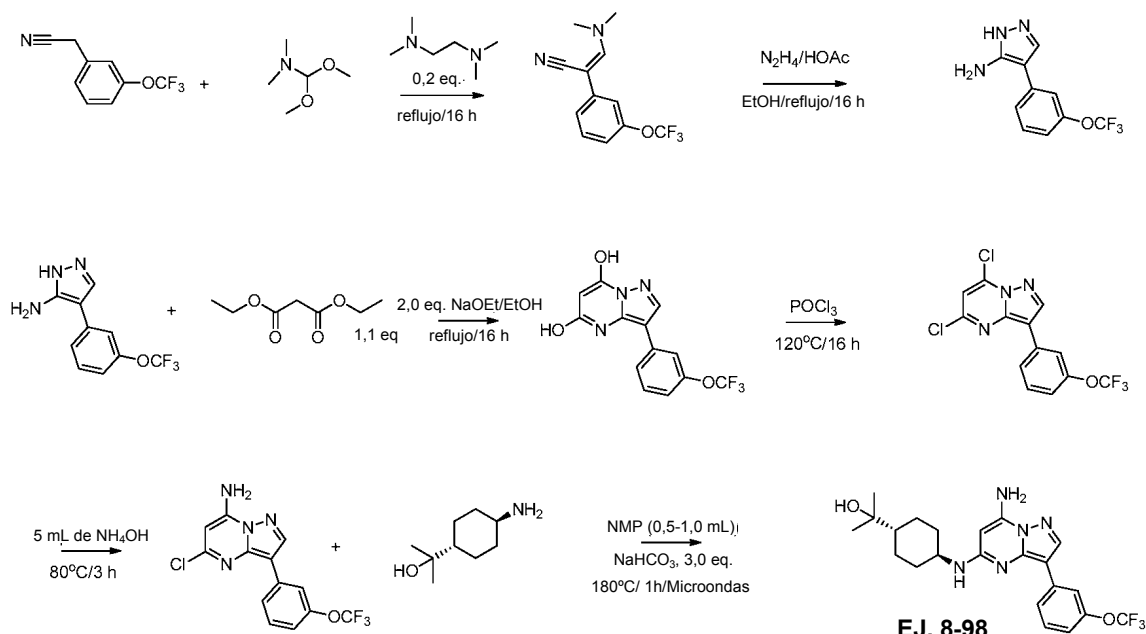




Una mezcla de 5-cloro-3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina (100 mg, 0,379 mmoles), 4-aminociclohexanona (43 mg, 0,379 mmoles), y DIEA (0,158 ml, 1,515 mmoles) en 2-propanol (3 ml) se irradió a 150°C durante 14 h en un microondas Biotage. Tras enfriar, la mezcla se diluyó con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado, 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> y se concentraron a vacío. Tras absorción en Celite, el compuesto se purificó mediante cromatografía (12 g de sílice, metanol al 0-15%/DCM) para dar 4-((3-(3-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)ciclohexanona (30 mg, rendimiento de 24%) como un sólido blanco.

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): 8,35 (s, 1H), 8,26 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 8,21 (d, *J* = 10,4 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 (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 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 dimetilacetaldol de dimetilformamida (20 mL) se calentó a reflujo durante 4 h. Al enfriar, la mezcla de reacción se repartió entre EtOAc y disolución acuosa saturada de NH<sub>4</sub>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 no purificado se purificó mediante cromatografía (acetato de etilo/hexano, 0-10%) en gel de sílice (24 gramos) para dar el producto (2,3 gramos, 8,98 mmoles, rendimiento de 72%).

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

Una mezcla de acrilonitrilo (2,0 g, 7,81 mmoles), hidrazina hidratada (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%). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/400 MHz): δ 7,64 (m, 1H), 7,42 (m, 4H), 7,06 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 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 trató gota a gota con etóxido sódico (1,12 g, 16,45 mmoles) y al completar 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 dar 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 oxícloruro

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 disolución de éter combinada se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  y se secó. Después de separar el disolvente, se obtuvo el producto 5,7-dicloro-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina puro (0,8 g, 2,30 mmoles, rendimiento de 72%).

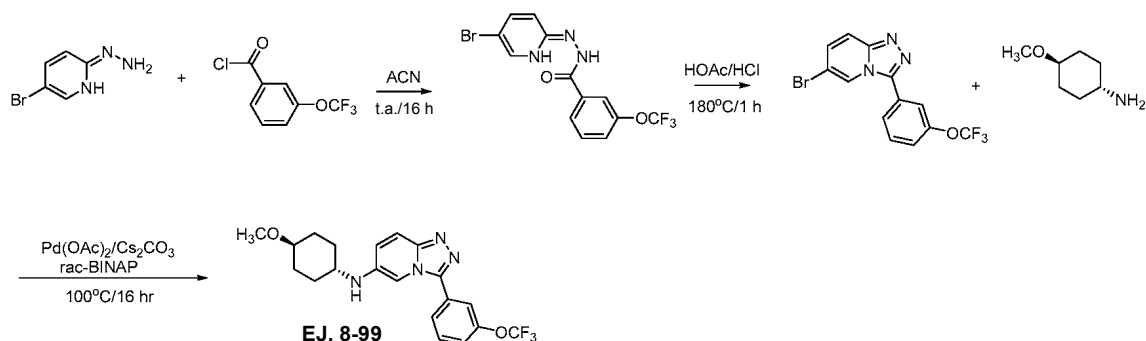
- 5 A un reactor de microondas cargado con el producto 5,7-dicloro (1,0 g, 2,87 mmoles) y una barra de agitación se añadió 5 mL de  $\text{NH}_3$  acuoso saturado. El microondas se selló y se calentó a  $80^\circ\text{C}$  durante 4 h. Después de enfriar y extraer con acetato de etilo, la fase orgánica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

10  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{Cl}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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 (br, 2H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 329,5.

15 A una disolución 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 mins bajo irradiación por microondas. La mezcla se purificó por cromatografía flash para dar 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%) como un sólido amarillo pálido.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  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, 4H), 1,16 (s, 6H), 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).



20

Síntesis de  $N'$ -(5-bromopiridin-2(1H)-iliden)-3-(trifluorometoxi)benzohidrazida.

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

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

30 A una disolución de  $N'$ -(5-bromopiridin-2(1H)-iliden)-3-(trifluorometoxi)benzohidrazida (1,0 gramo, 2,66 mmoles) se añadió 10 mL de AcOH y 0,5 mL de HCl 4 M en dioxano y la mezcla se calentó a  $180^\circ\text{C}$  durante 1 h. La TLC indicó que la reacción se realizó casi por completo. Tras separar el disolvente, el residuo se disolvió en DCM y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  saturado. Se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró para la purificación por cromatografía (acetato de etilo/hexano, 0-40%). Se obtuvo un sólido blanco (0,40 gramos, 1,117 mmoles, rendimiento de 42% yield) como producto puro.

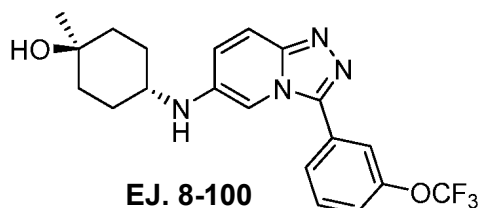
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  8,67 (m, 1H), 7,90 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 1H), 7,83 (s, 1H), 7,79 (m, 1H), 7,77 (m, 1H), 7,60 (d,  $J = 8,8\text{ Hz}$ , 1H), 7,56 (d,  $J = 9,6\text{ Hz}$ , 1H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 358,3.

35 A una disolución de triazolopiridina (0,15 g, 0,419 mmoles) y 4-metoxiciclohexanamina (0,5 mL) en 0,5 mL de tolueno se añadió carbonato de cesio (0,273 g, 0,838 mmoles), *rac*-BINAP (78 mg, 0,127 mmoles) y Pd ( $\text{OAc}$ ) $_2$  (19 mg, 0,084 mmoles) y la mezcla se calentó a  $100^\circ\text{C}$  durante 16 h bajo irradiación por microondas. La disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando 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%).

40

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}/400\text{ MHz}$ ):  $\delta$  7,85 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,78 (s, 1H), 7,74 (t,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 7,57 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 7,50 (d,  $J = 9,2\text{ Hz}$ , 1H), 7,35 (s, 1H), 7,16 (d,  $J = 10,0\text{ Hz}$ , 1H), 3,24 (m, 1H), 3,12 (m, 1H), 2,10 (m, 4H), 1,31 (m, 4H), MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ): ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 407,5.

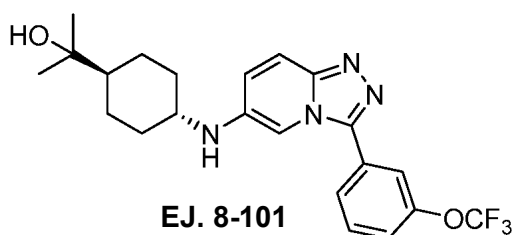
100. 1-Metil-4-((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (EJ. 8-100).



A una disolución de triazolopiridina (0,20 g, 0,558 mmoles) y 4-amino-1-metilciclohexanol (0,216 g, 1,675 mmoles) en 0,5 mL de dioxano se añadió 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 bajo irradiación por microondas. La disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando 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%).

<sup>1</sup>H-NMR (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, 4H), 1,24 (s, 6H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 407,5.

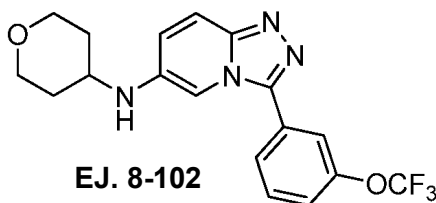
101. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)-trans-ciclohexil)propan-2-ol (EJ. 8-101)



A una disolución de triazolopiridina (0,10 g, 0,279 mmoles) y 4-amino-ciclohexilpropanol (0,220 g, 1,396 mmoles) en 0,5 mL de dioxano se añadió carbonato de cesio (0,182 g, 0,558 mmoles), *rac*-BINAP (52 mg, 0,084 mmoles) y Pd(OAc)<sub>2</sub> (13 mg, 0,056 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante 16 h bajo irradiación por microondas. La disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando 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.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 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, 4H), 1,17 (s, 6H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 435,6.

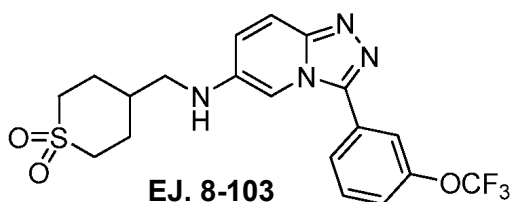
102. N-(Tetrahydro-2H-piran-4il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (EJ. 8-102).



A una disolución de triazolopiridina (0,075 g, 0,209 mmoles) y tetrahydro-2H-piran-4-amina (0,5 mL) en 0,5 mL de tolueno se añadió carbonato de cesio (0,136 g, 0,419 mmoles), *rac*-BINAP (36 mg, 0,063 mmoles) y Pd(OAc)<sub>2</sub> (9,4 mg, 0,042 mmoles) y la mezcla se calentó a 100°C durante 16 h bajo irradiación por microondas. La disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando 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, rendimiento de 38%).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 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<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 379,5.

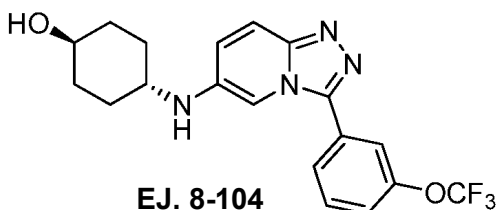
103. 4-(((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopiran-1,1-dióxido (EJ. 8-103).



A una disolución de triazolopiridina (0,20 g, 0,558 mmoles) y 4-(aminometil)tetrahidro-2H-tiopiran-1,1-dioxano (0,220 g, 1,396 mmoles) en 0,5 mL de dioxano se añadió carbonato de cesio (0,546 g, 1,765 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 bajo irradiación por microondas. La disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando HPLC preparativa y se obtuvo el producto 4-(((3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopiran 1,1-dióxido.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 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, 6H), 2,20 (m, 2H), 1,95 (m, 1H), 1,83 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 441,4.

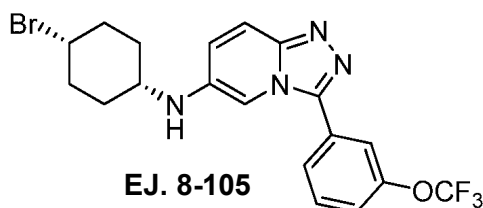
104. 4-((3-(3-(Trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (EJ. 8-104).



A una disolución 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 añadió 0,2 mL de TMSI. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC indicó una reacción bastante pura. Tras separar completamente el disolvente, el residuo se desactivó después con disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La cromatografía en gel de sílice obtuvo el producto puro (0,020 gramos, 0,051 mmoles, rendimiento de 69%).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 7,95 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,87 (m, 3H), 7,73 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,65 (d, *J* = 8,4 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, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 393,5.

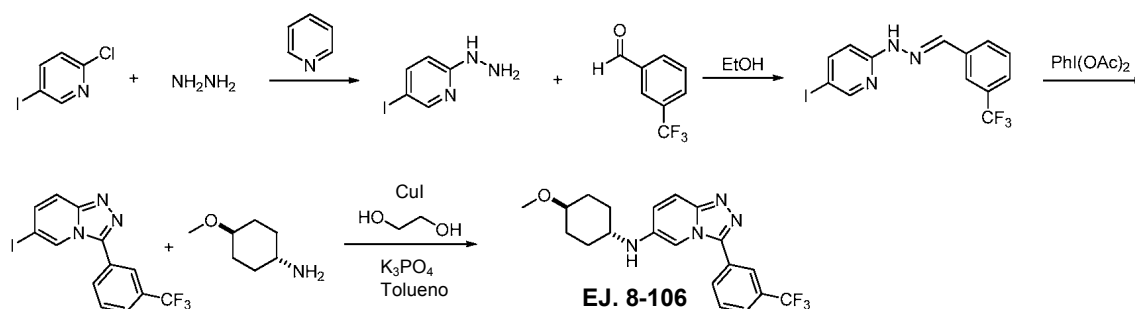
105. 4-(cis-Bromociclohexil)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (EJ. 8-105).



A una disolución 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 1,0 mL de DCM se añadió 0,25 mL de TMSBr con enfriamiento con agua helada. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC indicó una reacción bastante pura. Tras separar completamente el disolvente, el residuo se desactivó después con disolución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La cromatografía en gel de sílice obtuvo el producto puro (0,009 gramos, 0,020 mmoles, rendimiento de 40%).

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 7,84 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,73 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,58 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 7,50 (m, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,21 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,55 (m, 1H), 3,22 (m, 1H), 2,12 (m, 2H), 1,99 (m, 2H), 1,86 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): (M+H)<sup>+</sup>: 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 disolución 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. Tras enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. Al residuo se añadió disolución de hidróxido sódico 1 N y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (sulfato sódico) y se concentró a presión reducida. Al residuo se añadieron hexanos, y el precipitado se recogió y se secó a vacío para proporcionar el compuesto del título (1,35 g, rendimiento de 69%) como cristales blanquecinos. MS (ES+, m/z): 236,2 ( $M^+ + 1$ ).

#### 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 añadió 3-(trifluorometil)-benzaldehído (0,98 g, 5,62 mmoles). La mezcla se calentó a reflujo durante 5 h bajo argón. Tras enfriar a temperatura ambiente, el precipitado resultante se recogió por filtración y se lavó con EtOH. El producto sin purificar se recrystalizó en DCM y hexano para proporcionar el compuesto del título (1,80 g, rendimiento de 82%) como un sólido blanco. MS (ES+, m/z): 392,3 ( $M^+ + 1$ ).

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

A una disolución de 5-yodo-2-(2-(3-(trifluorometil)benciliden)hidrazinil)piridina (1,60 g, 4,09 mmoles) en DCM (10 mL)/EtOH (1 mL), se añadió PhI(OAc)<sub>2</sub> (1,845 g, 5,73 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h, después se separó el disolvente a vacío. El residuo se disolvió en DCM y se purificó por cromatografía en columna de SiO<sub>2</sub> con 80% de 15% MeOH/EA en hexano para proporcionar el compuesto del título (1,21 g, rendimiento de 76%) como un sólido blanquecino. MS (ES+, m/z): 390,3 ( $M^+ + 1$ ).

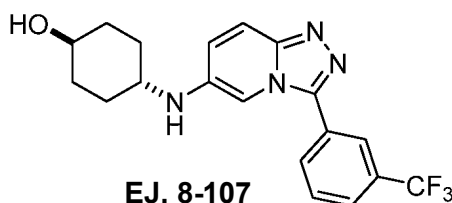
#### Síntesis of N-(trans-4-metoxiciclohexil)-3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina.

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 añadió 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 purgó con argón y se calentó a 90°C durante la noche. La mezcla se absorbió en SiO<sub>2</sub> y el pico principal se lavó con 60%-100% de 20% MeOH/DCM/0,2% NH<sub>3</sub> en hexano. Después el producto sin purificar se combinó y se purificó de nuevo por cromatografía en columna C18 usando ACN al 20-40% en agua para dar los compuestos del título.

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

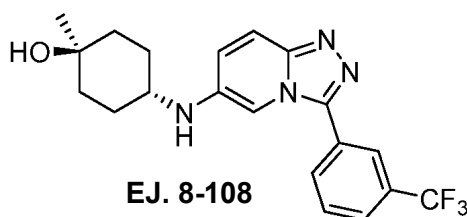
<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>/CDCl<sub>3</sub>): -57,9, MS (ES+, m/z): 391,5 ( $M^+ + 1$ ).

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



<sup>1</sup>H NMR (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, 4H), 1,30 (m, 4H), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): -63,4, MS (ES+, m/z): 377,5 ( $M^+ + 1$ ).

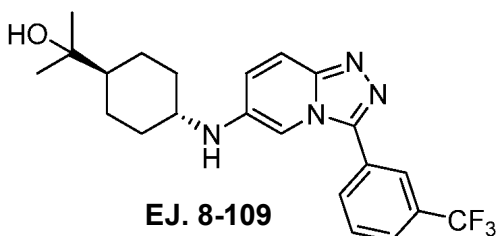
108. 1-Metil-4-((3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)-trans-ciclohexanol (EJ. 8-108).



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 añadió 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 purgó con argón y después se calentó a 100°C durante la noche. Se absorbió en SiO<sub>2</sub> y se purificó por cromatografía en columna en SiO<sub>2</sub> con 40-100% de 15%MeOH/EA en hexano. Este producto se purificó adicionalmente por cromatografía en columna C18 usando ACN al 20-40% en agua.

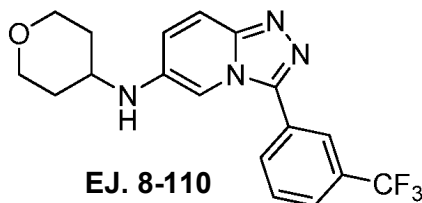
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): 8,23 (m, 2H), 7,88 (m, 2H), 7,94 (t, *J* = 10,0 Hz, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,18 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,39 (m, 1H), 2,07 (m, 2H), 1,70 (m, 2H), 1,55 (m, 4H), 1,21 (s, 3H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): 391,5 (M<sup>+</sup>+1).

109. 4-((3-(3-(Trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)-trans-ciclohexilpropan-2-ol (EJ. 8-109).



<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): 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, 6H), MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): 391,5 (M<sup>+</sup>+1).

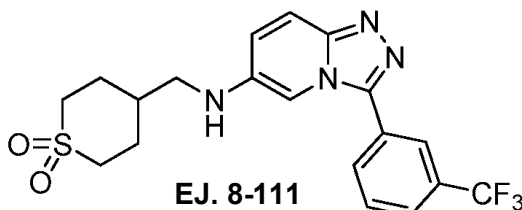
110. N-(Tetrahidro-2H-piran-4-il)-3-(3-(trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-amina (EJ. 8-110).



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 tetrahidro-2H-piran-4-amina (0,131 g, 1,30 mmoles) en tolueno (1 mL) se añadió rac-Binap (0,049 g, 0,078 mmoles), Pd(OAc)<sub>2</sub> (0,012 g, 0,052 mmoles) y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,169 g, 0,52 mmoles). Se purgó con argón y después se calentó a 110°C durante la noche. Se absorbió en SiO<sub>2</sub> y se purificó por cromatografía en columna en SiO<sub>2</sub> con 60% de 15%MeOH/EA en hexano. Este producto se purificó adicionalmente por cromatografía en columna C18 usando ACN al 20-40% en agua.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): 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 (br, 1H), 3,88 (m, 2H), 3,50 (m, 1H), 3,43 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,49 (m, 2H), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): -63,4, MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*): 363,5 (M<sup>+</sup>+1).

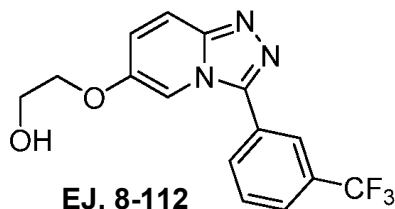
111. 4-(((3-(3-(Trifluorometil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]piridin-6-il)amino)metil)tetrahidro-2H-tiopiran 1,1-dióxido (EJ. 8-111).



<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): 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

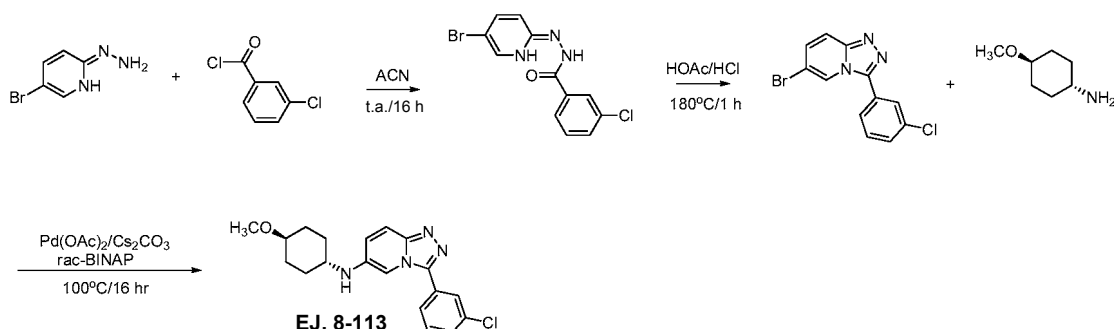
(d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 3,18 (d,  $J = 6,8$  Hz, 2H), 3,09 (m, 2H), 3,01 (m, 2H), 2,25 (m, 2H), 2,15 (m, 1H), 1,85 (m, 2H), MS (ES<sup>+</sup>,  $m/z$ ): 425,5 ( $M^+ + 1$ ).

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



5 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): 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), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>): -63,1, MS (ES<sup>+</sup>,  $m/z$ ): 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.

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

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

15 A una disolución de N'-(5-bromopiridin-2(1H)-iliden)-3-clorobenzohidrazida (3,0 gramos, 9,19 mmoles) se añadió 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 realizó casi completamente. Tras separar 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 purificación por cromatografía (acetato de etilo/hexano, 0-40%). Se obtuvo un sólido blanco (0,30 gramos, 0,972 mmoles, rendimiento de 11%) como producto puro.

20 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 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<sup>+</sup>,  $m/z$ ): ( $M+H$ )<sup>+</sup>: 308,3.

25 A una disolución de triazolopiridina (0,13 g, 0,419 mmoles) y 4-metoxiciclohexanamina (0,5 mL) en 0,5 mL de tolueno se añadió 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 bajo irradiación por microondas. La disolución resultante de color marrón oscuro se enfrió y se concentró a presión reducida. El sólido se purificó adicionalmente usando 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, rendimiento de 33%).

30 <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD/400 MHz): δ 7,83 (s, 1H), 7,75 (d,  $J = 6,8$  Hz, 1H), 7,57 (m, 3H), 7,35 (s, 1H), 7,14 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H), 3,20 (m, 1H), 3,12 (m, 1H), 2,07 (m, 4H), 1,29 (m, 4H), MS (ES<sup>+</sup>,  $m/z$ ): ( $M+H$ )<sup>+</sup>: 357,5.

## Ejemplo 2

### Ensayos de actividad de Pim quinasas

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

35 Una manera ilustrativa mediante la cual se puede determinar la actividad de Pim-1 quinasa es cuantificando la cantidad de ATP restante en disolución después de una reacción de Pim-1 quinasa in vitro. El estuche Kinase-Glo

Assay (Promega, Inc., Madison, WI) lo permite. La cantidad de ATP que queda en la disolución después de la reacción de la quinasa sirve como un sustrato para que la luciferasa catalice 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 de la quinasa. Este ensayo es eficaz para determinar los valores  $IC_{50}$  de los inhibidores de quinasas frente a la Pim-1 quinasa. Estos ensayos se preparan en volúmenes duplicados de 50  $\mu$ l en placas de 96 pocillos de fondo plano blanco. Se añaden inhibidores a la disolución tampón de quinasa 1X, ATP 10  $\mu$ M, sustrato específico de Pim-1 100  $\mu$ M, 50 ng de enzima Pim-1 activa, y agua en disoluciones en serie que varían desde concentraciones micromolares a nanomolares. Esta disolución se incuba 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 negativo y positivo, y se incuban a temperatura ambiente durante 15 minutos. La placa se lee después por el instrumento Luminoskan Ascent y los resultados se muestran con el Ascent Software, versión 2.6. Los valores de  $IC_{50}$  se pueden calcular para cada inhibidor probado.

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

Alternativamente, las determinaciones de  $IC_{50}$  y  $K_i$  de PIM quinasa se resolvieron en Reaction Biology (Malvern, PA). Para la determinación  $K_i$ , se incubaron PIM-1 con diluciones de compuesto seriadas de factor de dilución 3, en 10 dosis, partiendo de 10  $\mu$ M usando 5 concentraciones diferentes de ATP (25, 50, 100, 250 y 500  $\mu$ M de ATP para PIM-1; 5, 10, 20, 50 y 100  $\mu$ M de ATP para PIM-2 y PIM-3), y la actividad se midió a 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 minutos. Los datos se analizaron en un gráfico de Michaelis-Menton para determinar los valores aparentes de  $K_m$  y  $K_i$  usando software GraFit y utilizando una ecuación de inhibición mixta para un ajuste global.

## 2. Ensayos celulares de inhibidores de Pim-1 quinasa:

Se pueden usar 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 supervivencia de células cancerosas. Se pueden obtener numerosas líneas de células cancerosas de la American Type Culture Collection (ATCC) y otras fuentes. Brevemente, las células se siembran en placas blancas opacas de 96 pocillos, tratadas con cultivo de tejido (Thermo Electron, Vantaa, Finland), a razón de 5000 a 10000 células por pocillo, dependiendo de la velocidad de proliferación celular, en 100  $\mu$ l de medio de cultivo apropiado (determinado por la ATCC). Después las células se exponen a la concentración apropiada de fármaco o a una cantidad igual de DMSO (diluyente de fármaco) y se dejan crecer en su presencia durante 96 horas. Después de esto, se añaden 100  $\mu$ l de reactivo Cell-Titer-Glo (Promega, Inc., Madison, WI) a cada pocillo. Las placas se agitan después 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. De forma similar al 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 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 lisado celular, que a su vez es proporcional al número de células y da un índice de proliferación celular.

Con el fin de 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 pH 8,0, EDTA 5 mM, 1:500 de cóctel III de inhibidores de proteasas [Calbiochem], NaF 100 mM, ortovanadato sódico 100 mM). La concentración proteica en estos lisados se cuantifica después usando el estuche de ensayo de proteínas BCA (Pierce). Cantidades conocidas de proteína, por ejemplo 10  $\mu$ g, se cargan en geles de SDS-poli(acrilamida) al 12% y se someten a SDS-PAGE desnaturizante reductora. Las proteínas sometidas a electroforesis se transfieren a una membrana de nitrocelulosa, que después se sondea con anticuerpos contra p-21 y fosfo (Thr 145) p-21. Como la Treonina-145 de la proteína p-21 es un sustrato para Pim-1, la medida de la cantidad de fosforilación en este sitio en las células tratadas debe proporcionar un medio por el cual se evalúe la eficacia de nuestros inhibidores de Pim-1.

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

Usando procedimientos esencialmente como se han descrito anteriormente, se probaron compuestos ilustrativos para la inhibición de la actividad de Pim quinasa. Los valores de  $IC_{50}$  se determinaron para compuestos ilustrativos contra la Pim quinasa, usando el ensayo Kinase-Glo de Promega, cuyos resultados se compendian en las Tablas IV y V a continuación.



Tabla IV. IC<sub>50</sub> de compuestos en Pim1.

| EJ.  | IC <sub>50</sub> (nM) |  | EJ.  | IC <sub>50</sub> (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                     |
| 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                   |

| EJ.  | IC <sub>50</sub> (nM) |  | EJ.  | IC <sub>50</sub> (nM) |
|------|-----------------------|--|------|-----------------------|
| 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 | NA                    |
| 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                    |
| 8-95 | 24                    |  | 8-96 | 94                    |
| 8-97 | 168                   |  | 8-98 | 470                   |

Tabla V. IC<sub>50</sub> de compuestos en Pim1.

| EJ.   | IC <sub>50</sub> (nM) |  | EJ.   | IC <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                   |

| EJ.          | IC <sub>50</sub> (nM) |  | EJ.          | IC <sub>50</sub> (nM) |
|--------------|-----------------------|--|--------------|-----------------------|
| <b>8-107</b> | 3948                  |  | <b>8-108</b> | 70                    |
| <b>8-109</b> | 3870                  |  | <b>8-110</b> | 3165                  |
| <b>8-111</b> | >30 $\mu$ M           |  | <b>8-112</b> | >30 $\mu$ M           |
| <b>8-113</b> | 722                   |  |              |                       |

## Ejemplo 3

## Ensayos de la actividad de hERG

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

Tabla VI. Actividad de hERG de compuestos representativos

| Compuesto | IC <sub>50</sub> de hERG ( $\mu$ M) |
|-----------|-------------------------------------|
| 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

## Ensayos celulares

Se determinó la potencia celular de un compuesto representativo (8-31) midiendo su efecto sobre la fosforilación basal de BAD (antagonista de BCL-2 de muerte celular), un conocido sustrato de PIM, en serina 112 por sobre-expresión de PIM-1 y BAD en células HEK-293. La sobre-expresión del mutante PIM-1 (K67M) catalíticamente inactivo no aumentó la fosforilación de BAD en comparación con la transfección de BAD solo (datos no mostrados), y se usó como un 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 sobre-expresión de PIM-1/BAD con una  $EC_{50}$  media = 67 nM (Fig. 1).

## Ejemplo 5

## Xenoinjertos tumorales

En un esfuerzo por demostrar la tumorigenicidad de las PIM quinasas y para evaluar compuestos representativos (por ejemplo, E.J. 8-31) en xenoinjertos tumorales dirigidos por PIM, se desarrollaron líneas celulares de sobre-expresión de PIM-1 y PIM-2. La línea celular de cáncer de próstata 22RV1 diseñada para sobre-expresar PIM-1 como se ha descrito previamente (Mumenthaler, et al, Mol. Cancer Ther., 2009, 8(10)2882-93) se evaluó *in vivo*. Se estableció un segundo modelo diseñado para sobre-expresar PIM-2 usando la línea celular de fibroblastos de ratón NIH-3T3. Ambos fondos celulares mostraron una expresión aumentada de quinasa PIM-1 o PIM-2 mediante transferencia Western, y aumentaron significativamente la velocidad de crecimiento observada en el cultivo celular (Fig. 2). La sobre-expresión de PIM-1 en células 22RV1 aumentó significativamente el crecimiento tumoral subcutáneo en comparación con la línea celular parental cuando se cultivaron 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 sobre-expresión de PIM-1 demostró un efecto similar sobre el crecimiento de xenoinjertos 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 modo similar, la sobre-expresión de PIM-2 en células NIH-3T3 indujo significativamente el crecimiento tumoral subcutáneo en comparación con la línea celular parental cuando se cultivaron como xenoinjertos de ratón (NIH-3T3/PIM-2 + vehículo frente a NIH-3T3 + vehículo), y el crecimiento se inhibió significativamente por el compuesto 8-31 (NIH-3T3/PIM-2 + vehículo frente a NIH-3T3/PIM-2 + compuesto 8-31) (Fig. 3B). Asimismo, la sobre-expresión de PIM-2 demostró un efecto similar sobre el crecimiento de xenoinjerto con o sin administración de vehículo (datos no mostrados). No se observaron cambios significativos en el peso corporal en ningún grupo.

## Ejemplo 6

## Modelos traslacionales

También se exploraron modelos traslacionales para la dependencia de PIM usando desactivación por shRNA. Se usó la línea celular de carcinoma de vejiga urinaria epitelial UM-UC-3 para verificar y validar la dependencia de PIM-1 para el crecimiento. El mRNA de PIM-1 se redujo significativamente usando dos shRNAs independientes dirigidos a PIM-1 en comparación con el shRNA control no diana (Fig. 4A). Además, la proteína PIM-1 se redujo usando shRNA de PIM-1 en comparación con shRNA no diana, y el crecimiento de colonias 2D se redujo marcadamente con desactivación de PIM-1 (Fig. 4A), comparable a una descripción anterior en la bibliografía (Guo, S (2010) J Exp Clin Cancer Res 29:161). La reducción de mRNA de PIM-1 y del crecimiento se observaron también usando tanto shRNA de PIM-1 como de PIM-2 en la línea celular de carcinoma de próstata andrógeno-independiente 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 and 4C), confirmando el crecimiento dependiente de PIM-1 para ambas líneas celulares.

## Ejemplo 7

## Inhibición del crecimiento de tumores de xenoinjertos de ratón

Se probó el compuesto 8-31 para inhibir el crecimiento de tumores de xenoinjertos de ratón establecidos usando las líneas celulares de tumores sólidos 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 tanto de UM-UC-3 como de PC-3 medido por el volumen (calibrador) y por el peso tumoral final, sin cambios significativos en el peso corporal o la toxicidad adversa macroscópica (Fig. 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 dosis-respuesta y una ventana terapéutica (datos no mostrados). Los estudios farmacocinéticos de los ratones con carga tumoral PC-3 revelaron que una dosificación de 200 mg/kg del compuesto 8-31 condujo a niveles plasmáticos y de tejido tumoral por encima de la  $EC_{50}$  de proliferación *in vitro* (datos no mostrados).

## Ejemplo 8

## Análisis de células cancerosas hematológicas

Las PIM quinasas están implicadas en la supervivencia de cánceres hematológicos, por tanto el compuesto 8-31 se estudió frente a un panel de líneas celulares hematológicas usando un ensayo de viabilidad *in vitro*. Se probaron más de 35 líneas celulares, y se seleccionaron y verificaron las líneas celulares más sensibles de diversas indicaciones mediante determinaciones múltiples de EC<sub>50</sub> (Figura 6). El compuesto 8-31 mostró valores de EC<sub>50</sub> 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 usando shRNA de PIM-2 frente a líneas de leucemia impulsada por FLT3-ITD (Adam (2006) Cancer Res 66:3828-35 datos no mostrados). Especialmente, MV-4-11 y MOLM-13 fueron particularmente sensibles a SGI-9481; aunque no se desea estar sujeto a la teoría, se cree que esto es potencialmente debido a la combinación de la inhibición de PIM quinasa y de FLT3, aunque la actividad se podría atribuir posiblemente a la actividad FLT3 del compuesto solo. Aunque no se desea estar sujeto a la teoría, la actividad inhibidora del compuesto 8-31 (y otros compuestos de la invención) frente a múltiples miembros de la familia fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K) observada en el estudio de selectividad puede impartir una ventaja adicional cuando esté dirigida a diferentes tipos de tumores.

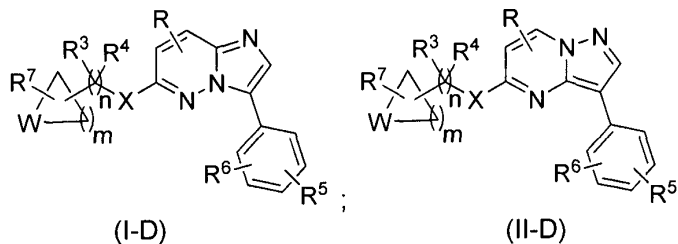
## Ejemplo 9

## Estudios de xenoinjertos de ratón

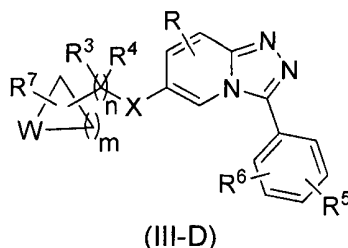
El compuesto 8-31 demostró una inhibición significativa del crecimiento tumoral en estudios de xenoinjertos de ratón con células ML-2 (FLT3 natural) (Fig. 7A), similar al nivel de reducción observado en los modelos de tumores sólidos. El tratamiento de xenoinjertos establecidos de MV-4-11 (FLT3-ITD)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

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene una de las siguientes estructuras (I-D), (II-D) o (III-D):



o

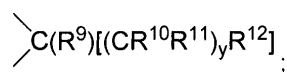


5

o un estereoisómero, tautómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

X es  $-N(R^8)-$  u  $-O-$ ;

W es



10

R es H, -OH, halo, alquilo, haloalquilo, alcoxilo, haloalcoxilo,  $-N(R^8)_2$ , o -CN;

$R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$ ,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  son, en cada caso, independientemente H o alquilo;

$R^5$  es halo, haloalquilo o haloalcoxilo;

$R^6$  es H, -OH, alquilo o alcoxilo;

$R^{12}$  es -OH,

15

m es 1, 2, 3, 4, 5 ó 6;

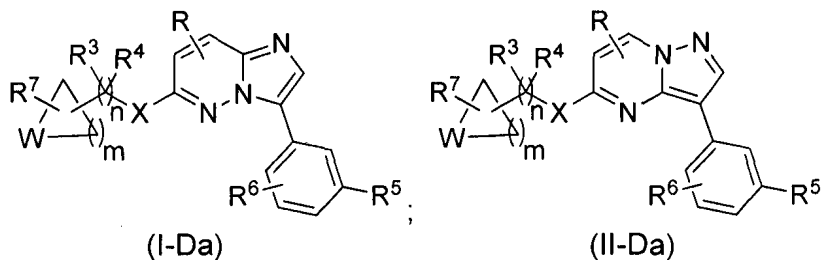
n es 0, 1, 2, 3 ó 4; e

y es 1.

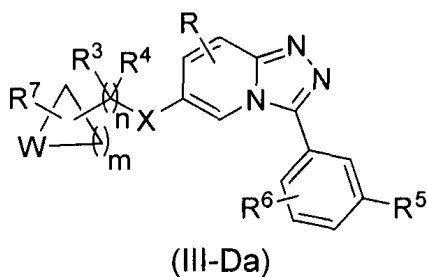
2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde  $R^6$  es H.

20

3. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde  $R^5$  está en la posición meta y el compuesto tiene una de las estructuras siguientes (I-Da), (II-Da) o (IIIDa):

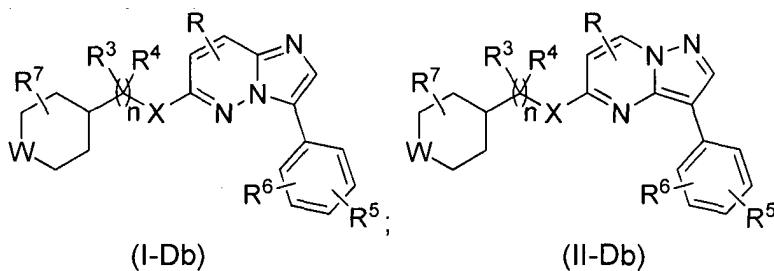


o



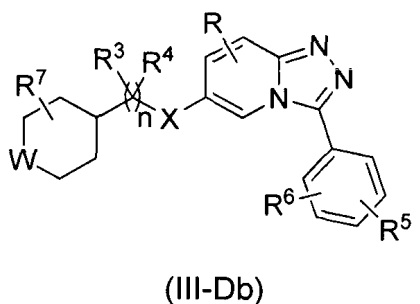
4. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde m es 3 ó 4, o en donde m es 4.

5. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en donde el compuesto tiene una de las estructuras siguientes (IDb), (IIDb) o (IIIDb):



5

o



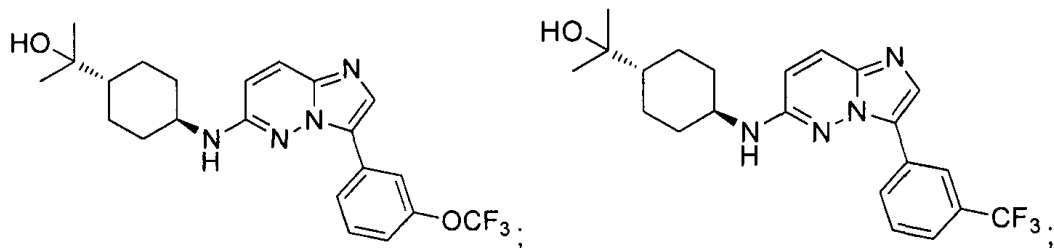
6. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde n es 0 ó 1, o en donde n es 0.

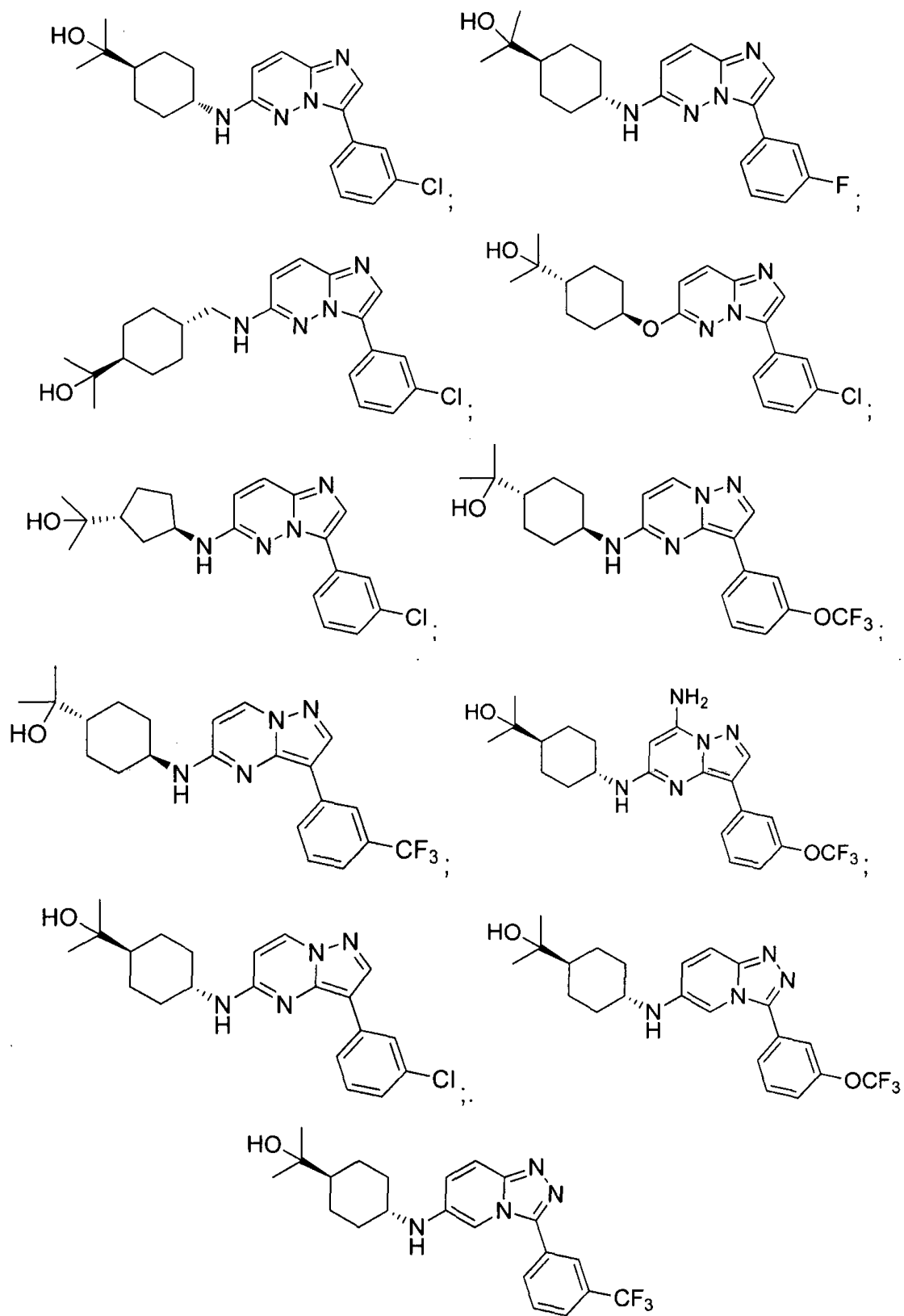
7. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde R<sup>5</sup> es -OCF<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, Cl o F.

10 8. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde cada uno de R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> es metilo.

9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde X es -NH- u -O-.

10. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde el compuesto tiene una de las estructuras siguientes:



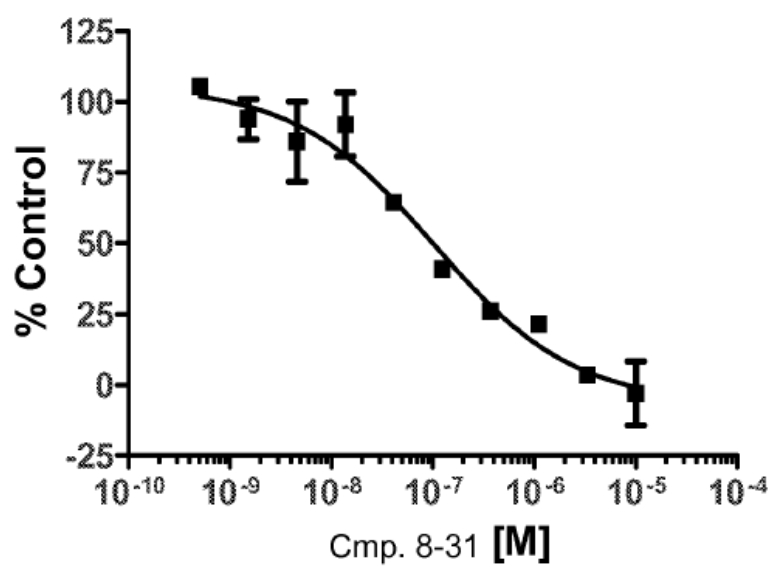


11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-10 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

12. La composición de la reivindicación 11 para usar en un método para tratar un cáncer que expresa Pim-quinasa, una enfermedad autoinmune o una enfermedad inflamatoria,



- 5 en donde el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer pulmonar de células no pequeñas, cáncer de células en avelana, cáncer de huesos, cáncer de páncreas, cáncer de piel, dermatofibrosarcoma protuberans, cáncer de cabeza y cuello, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer colo-rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, tumores ginecológicos, enfermedad de Hodgkin, cáncer hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, sarcomas de tejido blando, cáncer de la uretra, cáncer de pene, cáncer de próstata, leucemia crónica o aguda, tumores sólidos de la infancia, hipereosinofilia, linfomas linfocíticos, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o uréter, neoplasias pediátricas, neoplasias del sistema nervioso central, enfermedad cutánea neoplásica, o una neoplasia hematológica, preferiblemente en donde la neoplasia hematológica es leucemia mieloide aguda.



*FIG. 1*

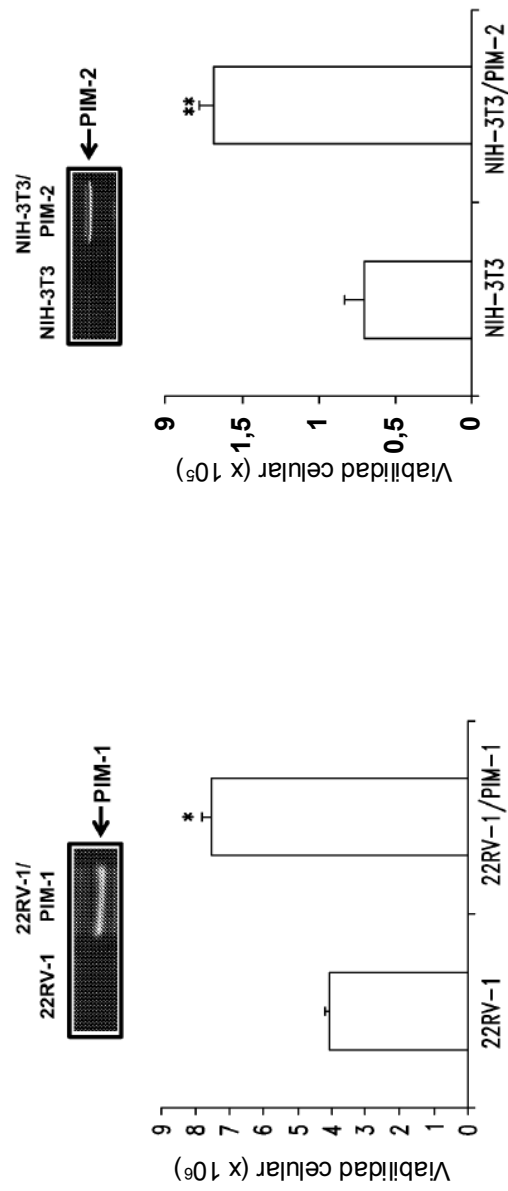


FIG. 2A

FIG. 2B

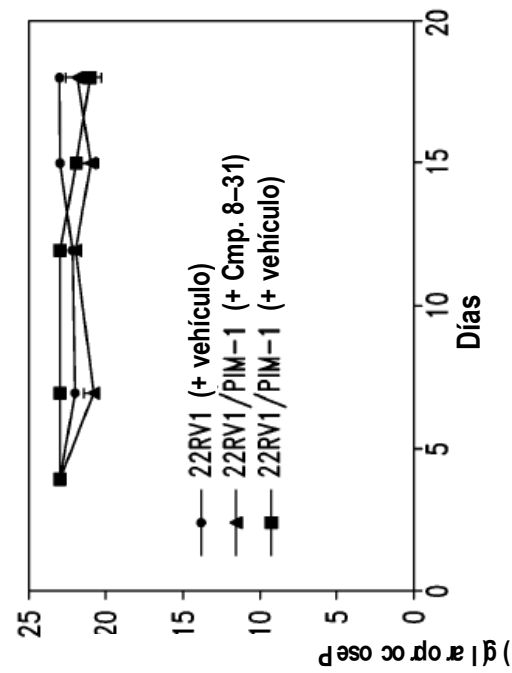


FIG. 3A

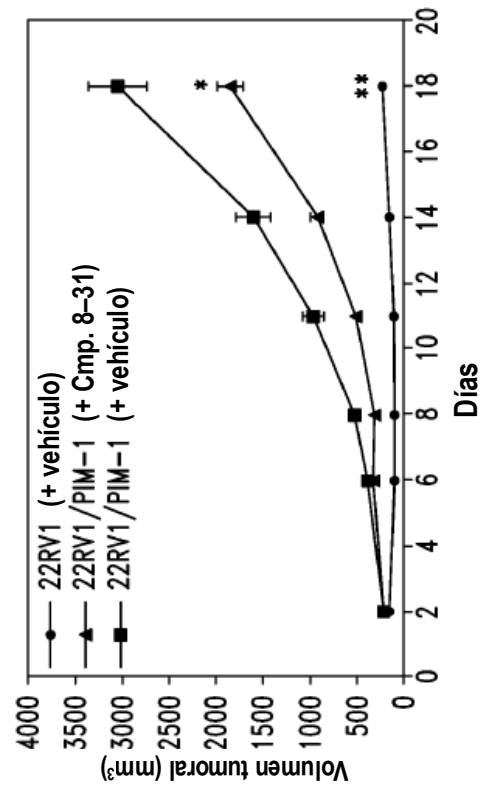
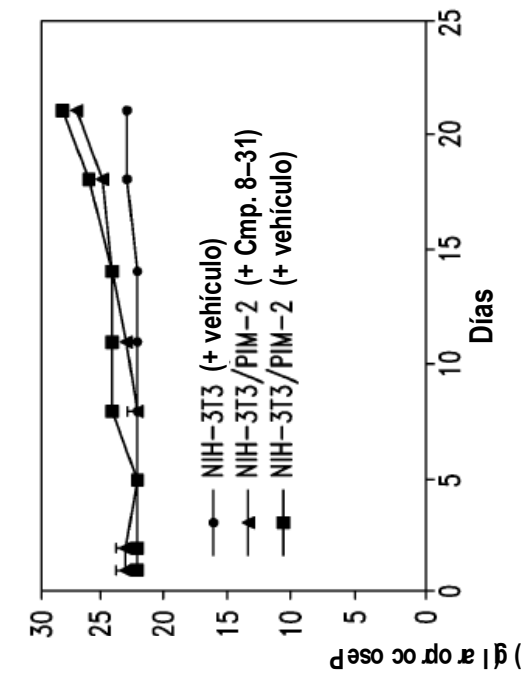
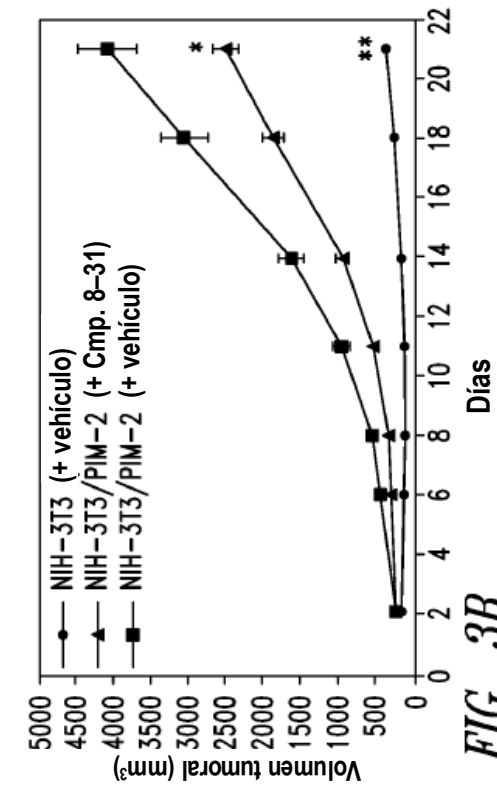


FIG. 3B



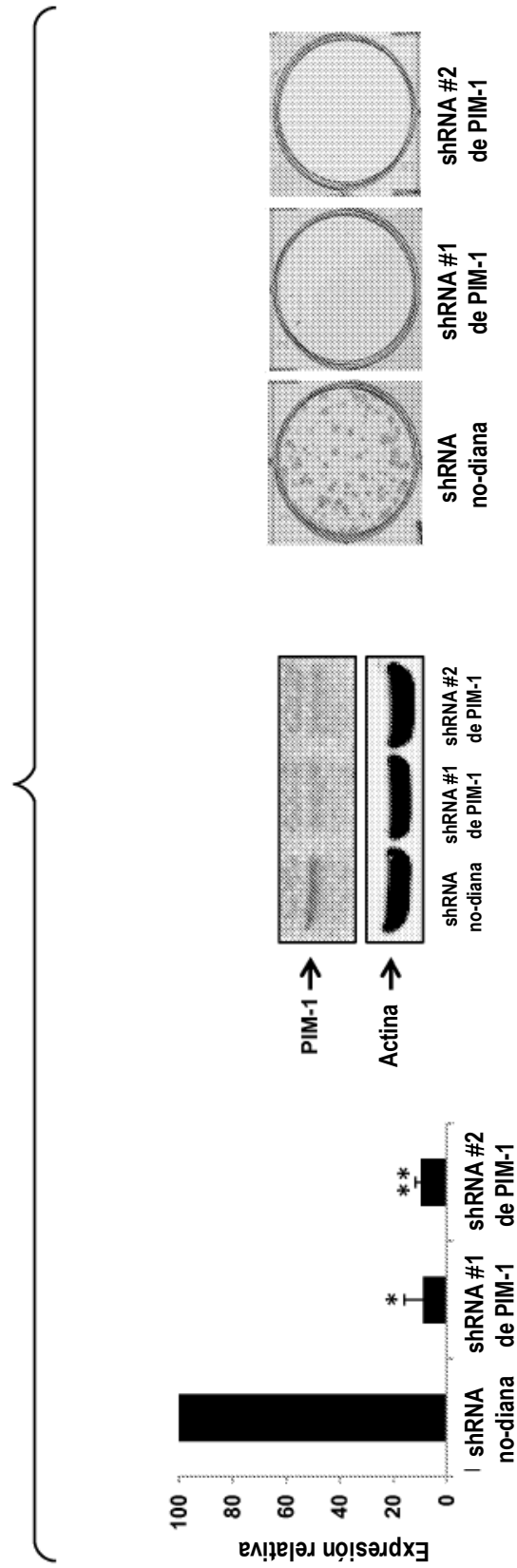


FIG. 4A

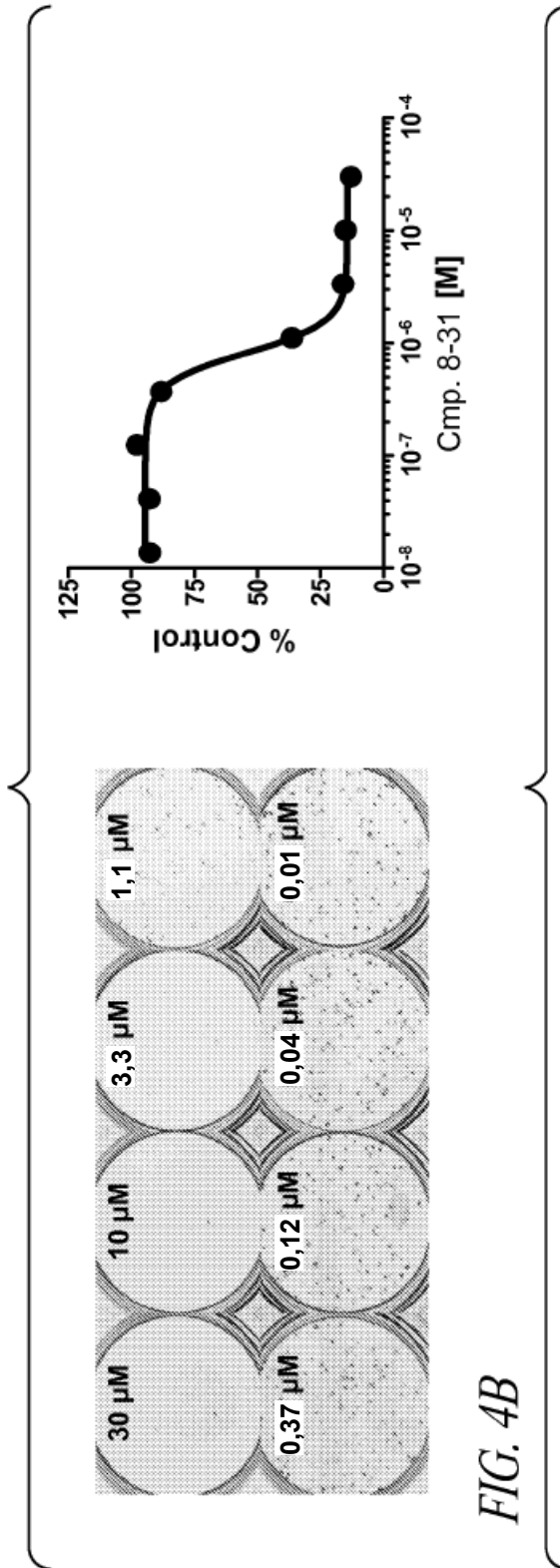


FIG. 4B

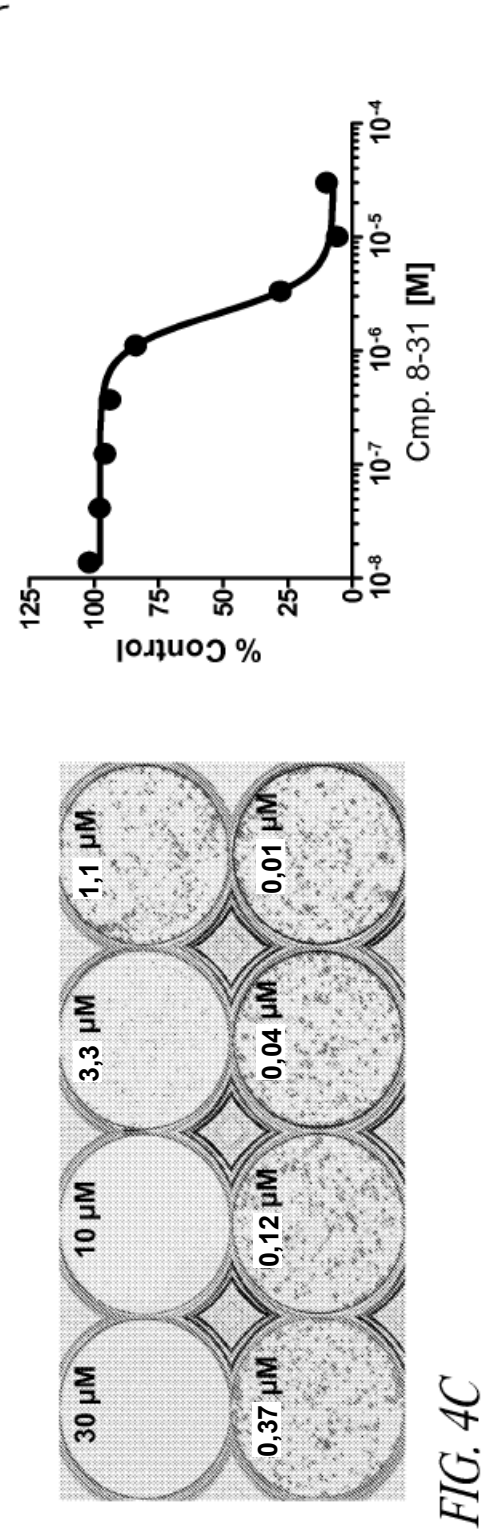
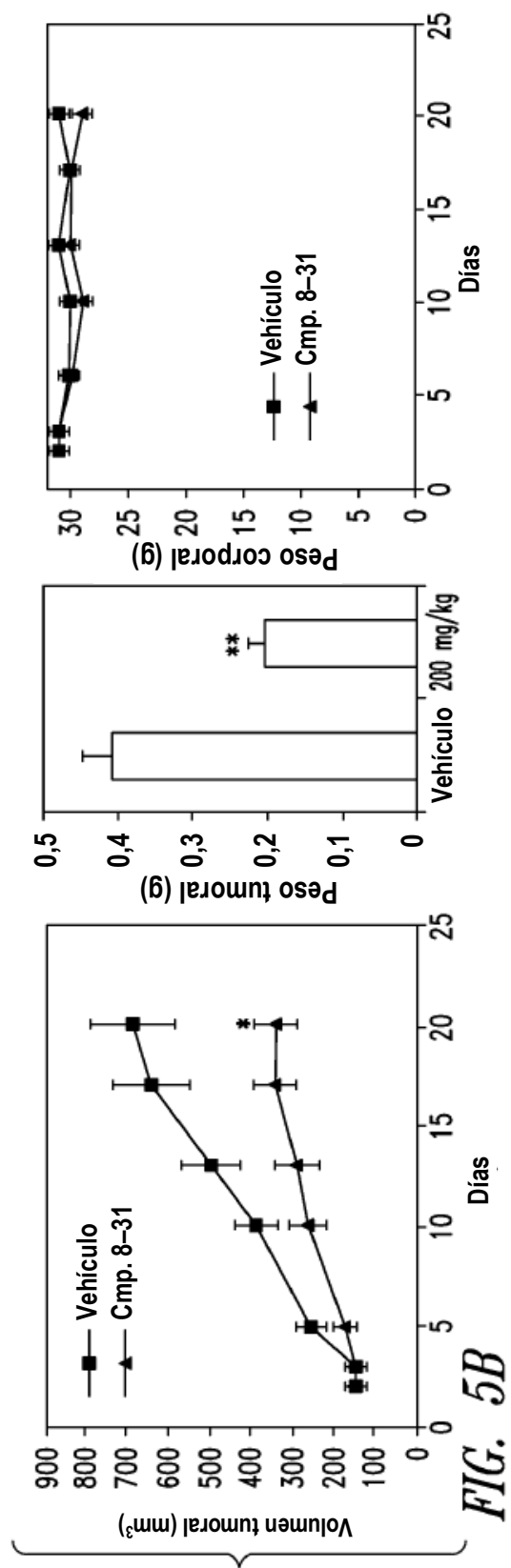
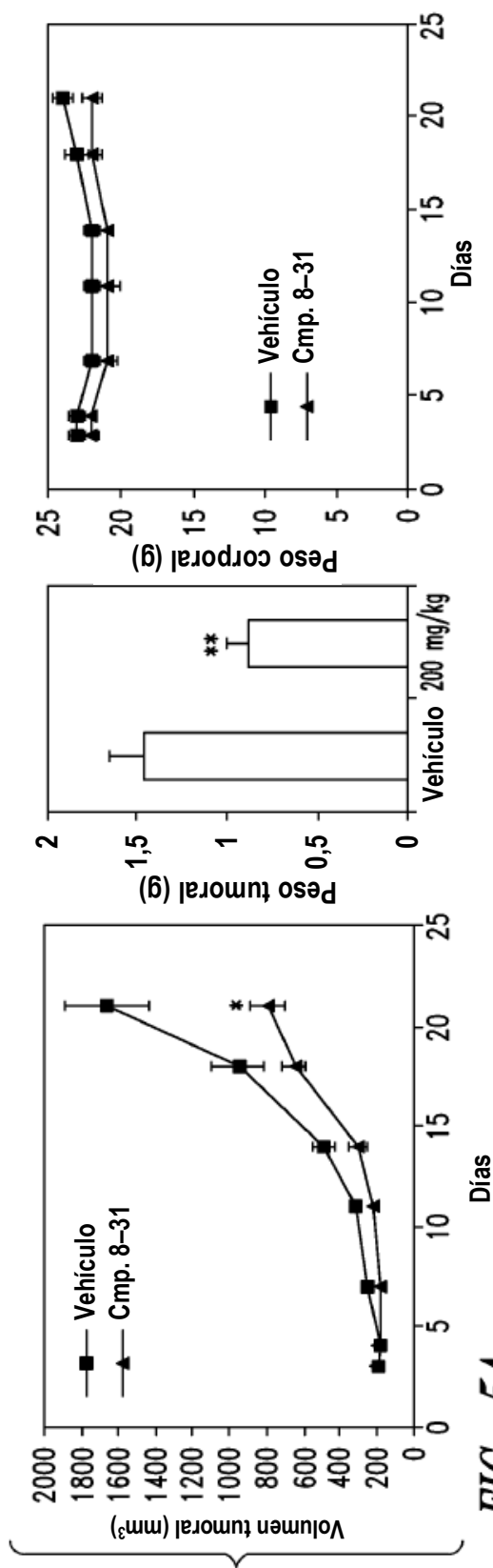


FIG. 4C



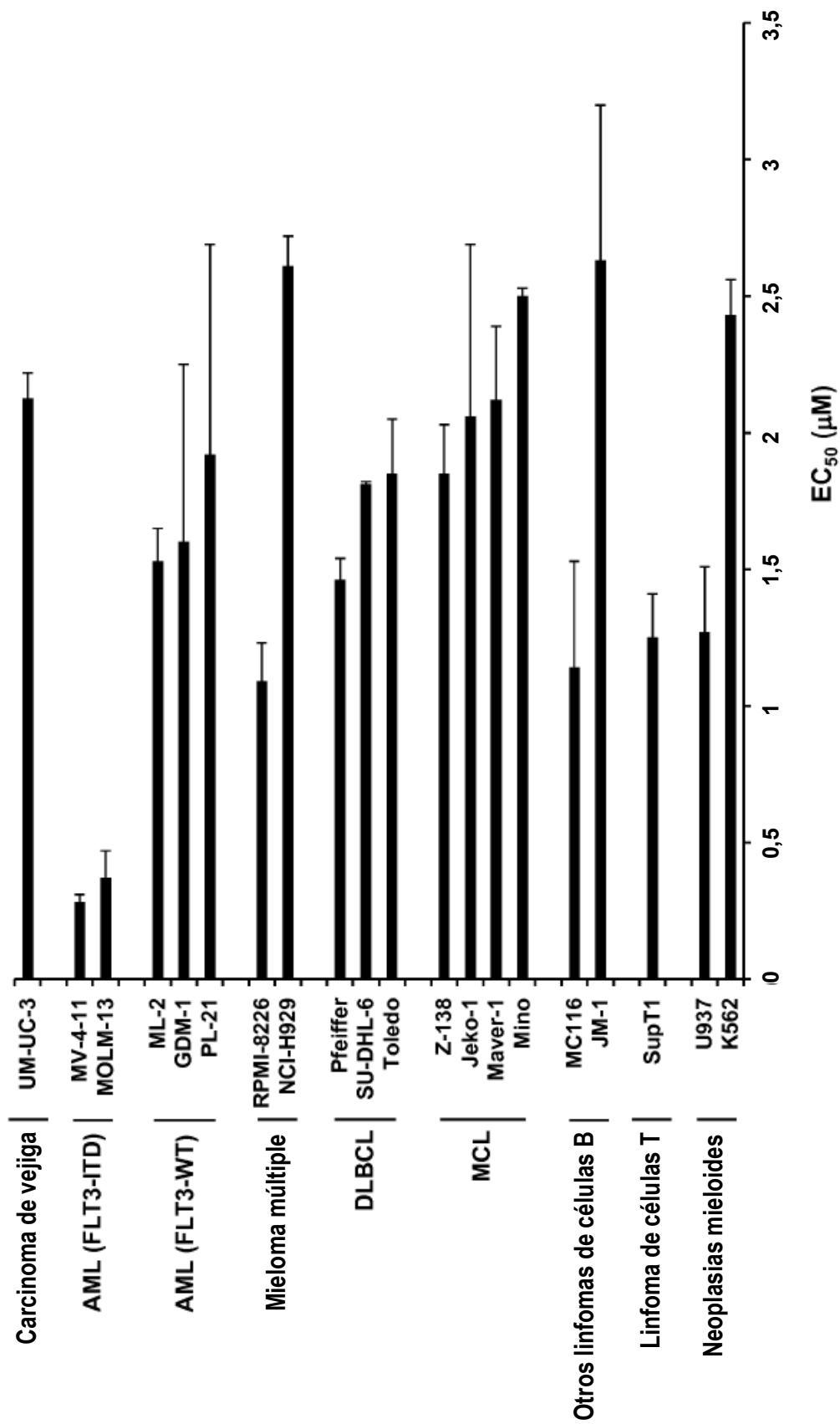


FIG. 6



