



MD/EP 3562822 T2 2021.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3562822 (13) T2

(51) Int. Cl.: C07D 401/14 (2006.01.01)
C07D 401/08 (2006.01.01)
C07D 403/08 (2006.01.01)
C07D 405/10 (2006.01.01)
C07D 239/74 (2006.01.01)
C07D 417/08 (2006.01.01)
C07D 487/04 (2006.01.01)
A61K 31/517 (2006.01.01)
A61P 35/00 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2019 1268 (22) Data de depozit: 2017.12.28 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 17832694.8, 2017.12.28 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3562822, 2019.11.06 (31) Numărul cererii prioritare: 201662440581 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2016.12.30 (33) Țara cererii prioritare: US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 07/2021, 2021.07.31 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 10/2021, 2021.03.10 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 12/2019, 2019.12.31
(71) Solicitant: MITOBRIDGE, INC., US (72) Inventatori: TAKAHASHI Taisuke, JP; KLUGE Arthur, US; LAGU Bharat, US; JI Nan, US (73) Titular: MITOBRIDGE INC., US (74) Mandatar autorizat: CORCODEL Angela	

(54) Inhibitori de poli-ADP riboză polimerază (PARP)

(57) Rezumat:

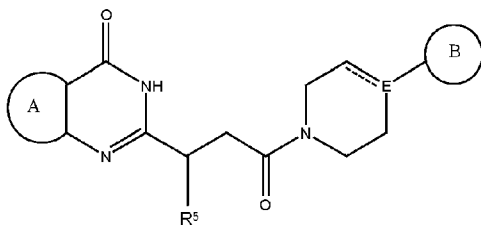
1

Prezenta invenție este legată de o compoziție farmaceutică cuprinzând un purtător sau diluant acceptabil farmaceutic și un compus reprezentat de următoarea formulă structurală: Prezenta invenție este, de

2

asemenea, legată de o metodă de tratare a unui subiect cu o boală care poate fi ameliorată prin inhibarea poli (ADP-riboză) polimerază (PARP). Definițiile variabilelor sunt furnizate aici.

MD/EP 3562822 T2 2021.07.31



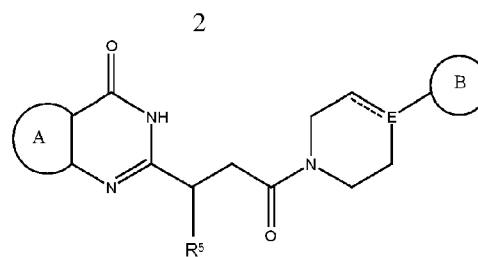
Revendicări: 17

Figuri: 1

(54) Poly-**adp** ribose polymerase (**parp**) inhibitors

(57) Abstract:

1
The present invention is related to a pharmaceutical composition comprising a pharmaceutically acceptable carrier or diluent and a compound represented by the following structural formula: The present invention is also related a method of treating a subject with a disease which can be ameliorated by inhibition of poly(ADP-ribose)polymerase (PARP). The definitions of the variables are provided herein.



Claims: 17

Fig.: 1

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****DOMENIUL INVENȚIEI**

5 Această aplicație este direcționată către inhibitori de poli (ADP-riboză) polimerază (PARP), în special inhibitori PARP-1, și metode pentru utilizarea lor, cum ar fi tratarea sau prevenirea uneia sau mai multor boli asociate PARP.

STADIUL TEHNICII AL INVENȚIEI

10 Enzima nucleară poli(ADP-riboză)polimerază-1 (PARP-1) este un membru al familiei enzimei PARP. Această familie în creștere de enzime este formată din PARP-uri precum, de exemplu: PARP-1, PARP-2, PARP-3 și Vault-PARP

15 PARP joacă un rol în repararea rupturilor de lanț ADN și, prin urmare, inhibarea acestuia este o abordare stabilită a tratamentului cancerului. Inhibarea PARP poate fi deosebit de eficientă atunci când este combinată cu un tratament care dăunează ADN-ului, cum ar fi cu radiații ionizante sau după tratament cu agenți care dăunează ADN-ului, cum ar fi agenți de metilare, inhibitori de topoizomerase I și alți agenți chimioterapeutici, cum ar fi cisplatina și bleomicina. Inhibarea activității enzimatică PARP ar trebui să ducă la o sensibilitate sporită a celulelor tumorale față de tratamentele care dăunează ADN-ului. S-a raportat că inhibitorii PARP sunt eficienți în celulele tumorale radiosensibilizante (hipoxice) și eficiente în prevenirea recuperării celulelor tumorale după leziuni potențiale letale și subletale ale ADN-ului după radioterapie, probabil prin capacitatea lor de a preveni reîmbinarea lanțurilor de ADN rupte și prin afectarea mai multor căi de semnalizare a leziunilor ADN.

20 Inhibarea PARP-2 poate oferi protecție împotriva stresului oxidativ (vezi Szanto și colab., Cell Mol. Life Science. 69:4079 (2012)). Ca atare, inhibitorii PARP pot fi utilizați pentru tratarea bolilor caracterizate de stres oxidativ (de exemplu, leziuni de ischemie-reperfuzie, boli inflamatorii, arsuri, Parkinsonism, boli Huntington, boala Alzheimer și leziuni toxice).

25 PARP-1 și PARP-2 sunt pro-inflamatorii (vezi Rosado și colab., Immunology 139: 428 (2013)). Inhibarea lor, ca atare, poate fi utilizată pentru a trata, de exemplu, astm, artrită, colită, boală pulmonară obstructivă cronică (BPOC), sindrom de detresă respiratorie acută (ARDS), ateroscleroză, remodelare cardiacă după infarct miocardic, sepsis, șoc endotoxic, șoc hemoragic, boală grefă-contragazdă, encefalomielită și nefrită autoimună.

30 Inhibarea PARP poate proteja, de asemenea, împotriva infecțiilor virale (vezi Atasheva și colab., J. Virol. 88:2116 (2014) și Virag și Szabo Pharmacol. Rev. 54:375 (2002))), de exemplu, împotriva virusului imunodeficienței umane 1, virusului encefalitei ecvine venezuelene, virusului herpes simplex, virusului hepatitei B umane și infecțiilor cu citomegalovirus uman (Virag și Szabo Pharmacol. Rev. 54:375 (2002)).

WO 2014/036022 descrie compuși capabili să inhibe activitatea kinazei tankirazei 1 și/sau tankirazei 2 și compoziții care includ compuși care inhibă tankiraza 1 și/sau tankiraza 2.

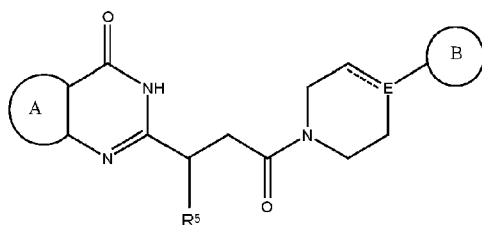
35 PARP-urile sunt implicate în controlul homeostaziei glucozei (vezi Bai și Canto Cell Metab. 16:290 (2012), Riffel și colab., Nat. Rev. Drug Discovery 11:923 (2012) și Yeh și colab., Diabetes 58:2476 (2009). De exemplu, inhibarea PARP-1 îmbunătățește eliminarea glucozei și sensibilitatea la insulină (vezi Bai și Canto Cell Metab. 16:290 (2012) și Pirinen și colab., Cell Metab. 19:1034 (2014)). Ca atare, inhibarea PARP este utilă pentru tratarea bolilor și a afecțiunilor precum sindromul metabolic și diabetul de tip II și complicațiile ulterioare ale acestora, cum ar fi complicațiile diabetice neurologice, renale și oculare.

45 Ca atare, este nevoie de inhibitori PARP noi și îmbunătățiți pentru aceste și alte indicații terapeutice.

REZUMATUL INVENȚIEI

50 Solicitantul a descoperit acum noi compuși care sunt inhibitori eficienți ai PARP (vezi Exemplele 1-53). În special, au activități inhibitoare selective împotriva PARP-1 peste PARP-2 (vezi Exemplul 54). În plus, s-a demonstrat că unii dintre acești inhibitori PARP sunt utili pentru creșterea cantității de NAD⁺ din celule (vezi Exemplul 55).

Intr-o primă variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică cuprinzând un purtător sau diluant acceptabil farmaceutic și un compus reprezentat de următoarea formulă structurală:



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

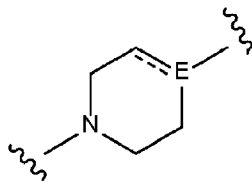
Inelul A este fenil opțional substituit sau un heteroaril cu 5-6 membri opțional substituit;

Inelul B este aril, heteroaril cu 5-6 membri sau heterocicilul cu 5-6 membri, fiecare opțional substituit

5 cu unul sau mai mulți substituenți reprezentați de R^3 ;

"-----" este absent sau o legătură;

E este N sau CH cand "-----" este absent sau E este C cand "-----" este o legătură;



este opțional substituit cu (C_1-C_5) alchil sau hidroxi (C_1-C_5) alchil;

10 fiecare R^3 este selectat în mod independent din grupul constând din -halogen, -CN, -NO₂, -OR^d, -NR^eR^f, -S(O)_iR^e, -C(=NR^e)NR^eR^f, -NR^eS(O)_iR^f, -S(O)_iNR^eR^f, -C(=O)OR^e, -OC(=O)OR^e, -C(=S)OR^e, -O(C=S)R^e, -C(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=O)R^f, -C(=S)NR^eR^f, -NR^eC(=S)R^f, -NR^eC(=O)OR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -NR^eC(=S)OR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^eC(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=S)NR^eR^f, -C(=S)R^e, -C(=O)R^e, halo (C_1-C_5) alchil și (C_1-C_5) alchil, în care (C_1-C_5) alchil reprezentat de R^3 este opțional substituit cu -CN, -NO₂, -OR^e, -S(O)_iR^e, -NR^eS(O)_iR^f, -S(O)_iNR^eR^f, -C(=O)OR^e, -OC(=O)OR^e, -C(=S)OR^e, -O(C=S)R^e, -C(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=O)R^f, -C(=S)NR^eR^f, -NR^eC(=S)R^f, -NR^eC(=O)OR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -NR^eC(=S)OR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^eC(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=S)NR^eR^f, -C(=S)R^e, sau -C(=O)R^e;

15 R^d este -H, halo (C_1-C_5) alchil sau (C_1-C_5) alchil, în care (C_1-C_5) alchil este opțional substituit cu hidroxil sau (C_1-C_3) alcoxi;

20 fiecare R^e este selectat în mod independent din grupul format din -H și (C_1-C_5) alchil opțional substituit cu hidroxil sau (C_1-C_3) alcoxi;

25 fiecare R^f este independent selectat din grupul constând din -H, (C_1-C_5) alchil opțional substituit cu hidroxil sau (C_1-C_3) alcoxi, (C_3-C_6) cicloalchil opțional substituit cu (C_1-C_2) alchil și heterocicilul conținând oxigen cu 4-6 membri opțional substituit cu (C_1-C_2) alchil; sau

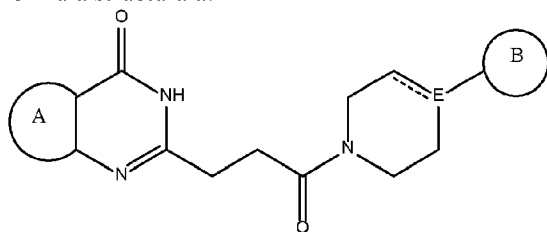
-NR^eR^f luați împreună este un heterocicilul cu 4-6 membri opțional substituit cu (C_1-C_2) alchil; sau

-C(=NR^e)NR^eR^f luați împreună este un heterocicilul cu 4-6 membri opțional substituit cu R^e;

R⁵ este -H sau (C_1-C_5) alchil; și

i este 0, 1 sau 2.

30 Într-o a doua variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu varianta de realizare anterioară, în care compusul este reprezentat de următoarea formulă structurală:



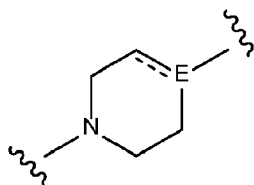
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

35 Inelul A este fenil opțional substituit sau un heteroaril cu 5-6 membri opțional substituit;

Inelul B este aril, heteroaril cu 5-6 membri sau heterocicilul cu 5-6 membri, fiecare opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți reprezentați de R^3 ;

"-----" este absent sau o legătură;

E este N sau CH cand "-----" este absent sau E este C cand "-----" este o legătură;



este opțional substituit cu (C₁-C₅)alchil sau hidroxi (C₁-C₅)alchil;

fiecare R³ este selectat în mod independent din grupul constând din -halogen, -CN, -NO₂, -OR^d, -NR^eR^f, -S(O)_iR^e, -C(=NR^e)NR^eR^f, -NR^eS(O)_iR^f, -S(O)_jNR^eR^f, -C(=O)OR^e, -OC(=O)OR^e, -C(=S)OR^e, -O(C=S)R^e, -C(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=O)R^f, -C(=S)NR^eR^f, -NR^eC(=S)R^f, -NR^e(C=O)OR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)OR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^e(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)NR^eR^f, -C(=S)R^e, -C(=O)R^e, halo(C₁-C₅)alchil și (C₁-C₅)alchil, în care (C₁-C₅)alchil reprezentat de R³ este opțional substituit cu -CN, -NO₂, -OR^e, -NR^eR^f, -S(O)_iR^e, -NR^eS(O)_iR^f, -S(O)_jNR^eR^f, -C(=O)OR^e, -OC(=O)OR^e, -C(=S)OR^e, -O(C=S)R^e, -C(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=O)R^f, -C(=S)NR^eR^f, -NR^eC(=S)R^f, -NR^e(C=O)OR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)OR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^e(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)NR^eR^f, -C(=S)R^e, sau -C(=O)R^e;

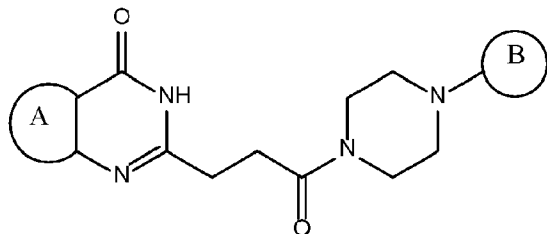
R^d este -H, halo(C₁-C₅)alchil sau (C₁-C₅)alchil, în care (C₁-C₅)alchil este opțional substituit cu hidroxil sau (C₁-C₃)alcoxi;

fiecare R^e este selectat în mod independent din grupul format din -H și (C₁-C₅)alchil opțional substituit cu hidroxil sau (C₁-C₃)alcoxi;

fiecare R^f este independent selectat din grupul constând din -H, (C₁-C₅)alchil opțional substituit cu hidroxil sau (C₁-C₃)alcoxi, (C₃-C₆)cicloalchil opțional substituit cu (C₁-C₂) alchil și heterociclii conținând oxigen cu 4-6 membri opțional substituit cu (C₁-C₂) alchil; sau

-NR^eR^f luați împreună este un heterociclii cu 4-6 membri opțional substituit cu (C₁-C₂) alchil; sau -C(=NR^e)NR^eR^f luați împreună este un heterociclii cu 4-6 membri opțional substituit cu R^e, în care restul variabilelor (de exemplu, i) sunt definite în prima variantă de realizare.

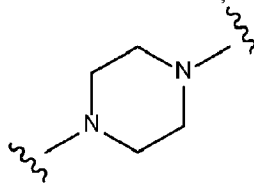
Intr-o a treia variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu prima sau a doua variantă de realizare, în care compusul este reprezentat de următoarea formulă structurală:



sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, în care:

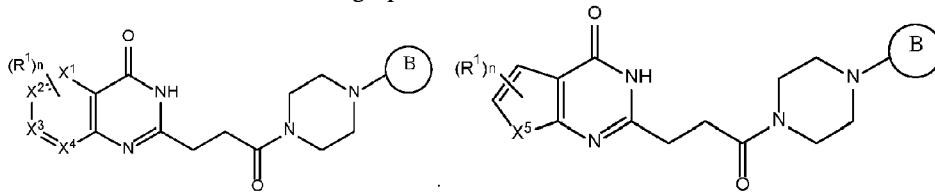
Inelul A este fenil opțional substituit sau un heteroaril cu 5-6 membri opțional substituit;

Inelul B este aril, heteroaril cu 5-6 membri sau heterociclii cu 5-6 membri, fiecare opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți reprezentați de R³; și

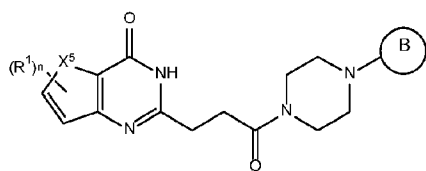


este opțional substituit cu (C₁-C₅)alchil sau hidroxi (C₁-C₅)alchil, în care restul variabilelor (de exemplu, R³) așa cum sunt definite în prima sau a doua variantă de realizare.

Intr-o a patra variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu prima, a doua sau a treia variantă de realizare, în care compusul este reprezentat de o formulă structurală selectată din grupul format din:



și

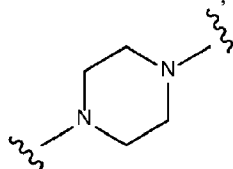


sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, în care:

X^1 , X^2 , X^3 și X^4 sunt fiecare selectate independent din grupul format din N și CH, cu condiția ca cel mult doi dintre X^1 , X^2 , X^3 și X^4 să fie N;

5 X^5 este NR^2 , O, sau S;

Inelul B este aril, heteroaril cu 5-6 membri sau heterociclic cu 5-6 membri, fiecare opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți reprezentați de R^3 ;



este opțional substituit cu (C₁-C₅)alchil sau hidroxi(C₁-C₅)alchil;

10 fiecare R^1 este selectat în mod independent din grupul constând din -halogen, -CN, -NO₂, -OR^c, -NR^aR^b, -S(O)_iR^a, -NR^aS(O)_jR^b, -S(O)_jNR^aR^b, -C(=O)OR^a, -OC(=O)OR^a, -C(=S)OR^a, -O(C=S)R^a, -C(=O)NR^aR^b, -NR^aC(=O)R^b, -C(=S)NR^aR^b, -NR^aC(=S)R^b, -NR^a(C=O)OR^b, -O(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)OR^b, -O(C=S)NR^aR^b, -NR^a(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)NR^aR^b, -C(=S)R^a, -C(=O)R^b, halo(C₁-C₅)alchil și (C₁-C₅)alchil, în care (C₁-C₅)alchil reprezentat de R^1 este opțional substituit cu -CN, -NO₂, -OR^c, -NR^aR^b, -S(O)_iR^a, -NR^aS(O)_jR^b, -S(O)_jNR^aR^b, -C(=O)OR^a, -OC(=O)OR^a, -C(=S)OR^a, -O(C=S)R^a,

-C(=O)NR^aR^b, -NR^aC(=O)R^b, -C(=S)NR^aR^b, -NR^aC(=S)R^b, -NR^a(C=O)OR^b, -O(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)OR^b, -O(C=S)NR^aR^b, -NR^a(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)NR^aR^b, -C(=S)R^a, sau -C(=O)R^b;

15 R^2 este -H, C₁₋₅ alchil, fenil, -C(O)(C₁₋₅ alchil), -C(O)(fenil), -C(O)O(C₁₋₅ alchil), -C(O)O(fenil), -S(O)₂(C₁₋₅ alchil) sau -S(O)₂(fenil), în care fiecare alchil din grupele reprezentate de R^2 independent este opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți selectați din grupul constând din halogen, hidroxi, cian, fenil, heteroaril cu 5-6 membri, (C₁-C₅) alcoxi și halo(C₁-C₅)alcoxi, și în care fiecare fenil din grupele reprezentate de R^2 independent este opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți selectați din grupul constând din halogen, hidroxi, nitro, ciano, amino, (C₁-C₅)alchil, halo(C₁-C₅)alchil, (C₁-C₅)alcoxi și halo(C₁-C₅)alcoxi;

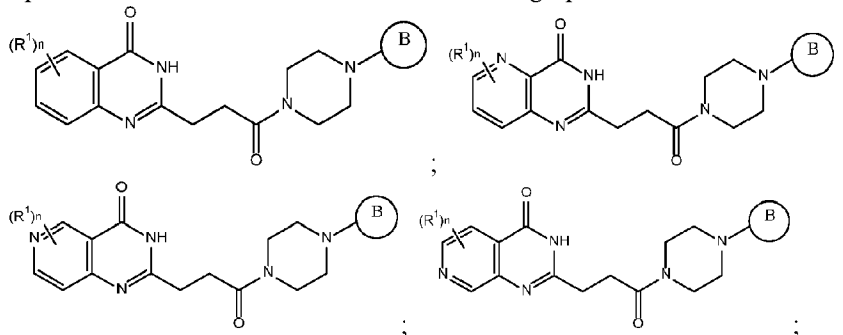
25 fiecare R^a și fiecare R^b sunt selectați în mod independent din grupul format din -H și (C₁-C₅)alchil opțional substituit cu hidroxil sau (C₁-C₃)alcoxi;

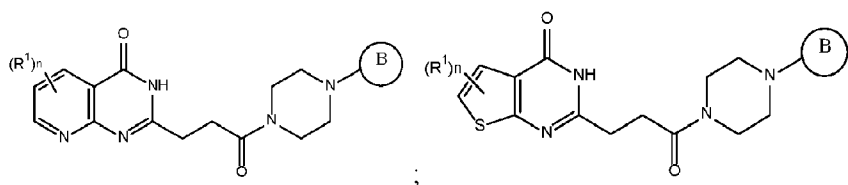
R^c este -H, halo(C₁-C₅)alchil sau (C₁-C₅)alchil, în care (C₁-C₅)alchil este opțional substituit cu hidroxil sau (C₁-C₃)alcoxi;

30 i este 0, 1 sau 2; și

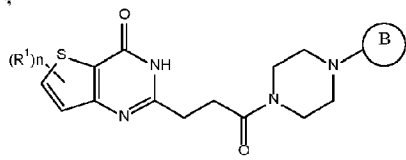
n este 0, 1 sau 2, în care restul variabilelor (de exemplu, R^3) sunt așa cum sunt definite în prima, a doua sau a treia variantă de realizare.

35 Într-o a cincea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu prima, a doua, a treia sau a patra variantă de realizare, în care compusul este reprezentat de o formulă structurală selectată din grupul format din:



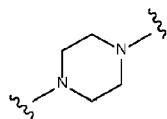


și



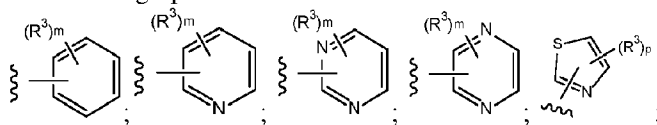
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

- 5 Inelul B este aril, heteroaril cu 5-6 membri sau heterocicil cu 5-6 membri, fiecare opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți reprezentați de R^3 ; și

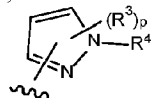


este opțional substituit cu (C_1-C_5) alchil sau hidroxi (C_1-C_5) alchil, în care restul variabilelor (de exemplu, R^3) așa cum sunt definite în prima, a doua, a treia sau a patra variantă de realizare.

- 10 Intr-o a șasea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu prima, a doua, a treia, a patra sau a cincea variantă de realizare, în care Inelul B este selectat din grupul format din



și

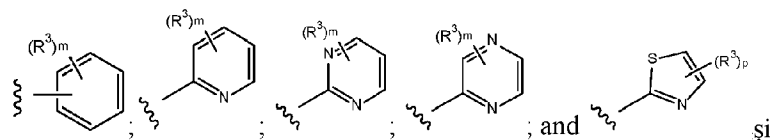


- 15 fiecare R^4 este -H, (C_1-C_5) alchil sau hidroxi (C_1-C_5) alchil;

fiecare p este independent 0 sau 1; și

fiecare m este 0 sau 1 sau 2, în care restul variabilelor (de exemplu, R^3) sunt așa cum sunt definite în prima, a doua, a treia, a patra sau a cincea variantă de realizare.

- 20 Intr-o a șaptea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu cea de-a șasea variantă de realizare, în care inelul B este selectat din grupul constând din



și

în care restul variabilelor sunt așa cum sunt definite în prima, a doua, a treia, a patra, a cincea sau a șasea variantă de realizare.

- 25 Intr-o a opta variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu cea de-a patra, a cincea, a șasea sau a șaptea variantă de realizare, în care:

30 fiecare R^1 este în mod independent halogen, (C_1-C_5) alchil, halo (C_1-C_5) alchil, (C_1-C_5) alcoxi, halo (C_1-C_5) alcoxi sau cian;

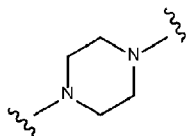
fiecare R^3 este selectat în mod independent din grupul constând din -halogen, -CN, -C(=NR^e)NHR^f, -C(=NR^d)NR^eR^f, -S(O)₂NR^eR^f, -C(=O)NR^eR^f, -C(=S)NR^eR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^d(C=O)NR^eR^f, -NR^d(C=S)NR^eR^f și (C_1-C_5) alchil, în care restul variabilelor sunt așa cum sunt definite în prima, a doua, a treia, a patra, a cincea, a șasea sau a șaptea variantă de realizare.

- 35 Intr-o nouă variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu cea de-a patra, a cincea, a șasea, a șaptea sau a opta variantă de realizare, în care:

fiecare R^1 este în mod independent halogen sau (C_1-C_5) alchil;

fiecare R^3 este selectat în mod independent din grupul constând din -halogen, -CN, -C(=NR^d)NR^eR^f, -C(=O)NR^eR^f, -C(=NR^e)NHR^f și (C_1-C_5) alchil, în care restul variabilelor sunt așa cum sunt definite în prima, a doua, a treia, a patra, a cincea, a șasea sau a șaptea variantă de realizare.

Intr-o zecea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu cea de-a patra, a cincea, a șasea, a șaptea sau a opta variantă de realizare, în care: fiecare R^1 este în mod independent clor, fluor sau metil; fiecare R^3 este selectat în mod independent din grupul constând din clor, fluor, -CN, -C(=NR^d)NR^eR^f, -C(=O)NR^eR^f și metil;

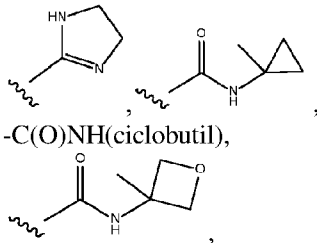


grupul este opțional substituit cu metil sau hidroximetil, în care restul variabilelor sunt așa cum sunt definite în prima, a doua, a treia, a patra, a cincea, a șasea, a șaptea sau a opta variantă de realizare.

Intr-o a unsprezecea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu cea de-a șasea, a șaptea, a opta, a noua sau a zecea variantă de realizare, în care fiecare R^e și fiecare R^f sunt selectați independent din grupul constând din -H și metil; sau R^e este -H și R^f este (C₃-C₆)cicloalchil sau heterociclicul cu 4-6 membri care conține oxigen fiecare opțional substituit cu (C₁-C₂) alchil, în care restul variabilelor sunt așa cum sunt definite în prima, a doua, a treia, a patra, a cincea, a șasea, a șaptea, a opta, a noua sau a zecea variantă de realizare.

Intr-o a douăsprezecea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu cea de-a șasea, a șaptea, a opta, a noua sau a zecea variantă de realizare, în care fiecare R^e și fiecare R^f sunt selectați independent din grupul constând din -H și metil; sau R^e este -H și R^f este ciclopropil, ciclobutil sau oxetanil, fiecare opțional substituit cu metil, în care restul variabilelor așa cum sunt definite în prima, a doua, a treia, a patra, a cincea, a șasea, a șaptea, a opta, a noua, a zecea sau a unsprezecea variantă de realizare.

Intr-o a treisprezecea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu a șasea, a șaptea, a opta, a noua, sau a zecea variantei de realizare, în care fiecare R³ este selectat în mod independent din grupul constând din clor, fluor, -CN, -C(O)NH(ciclopropil), -C(O)NH₂, -C(O)NH(CH₃), -C(O)N(CH₃)₂,



-C(=NH)NHCH₃ și metil, în care restul variabilelor sunt așa cum sunt definite în prima, a doua, a treia, a patra, a cincea, a șasea, a șaptea, a opta, a noua, a zecea, a unsprezecea sau a doisprezecea variantă de realizare.

Intr-o a paisprezecea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu a patra variantă de realizare, în care R² este -H sau (C₁-C₅)alchil, preferabil, -H sau metil, în care restul variabilelor sunt așa cum sunt definite în prima, a doua, a treia, a patra, a cincea, a șasea, a șaptea, a opta, a noua, a zecea, a unsprezecea, a douăsprezecea sau a treisprezecea variantă de realizare.

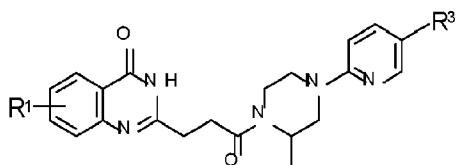
Intr-o a cincisprezecea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu prima sau a doua variantă de realizare, în care compusul este 6-[(3S)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridină-3-carbonitril sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Intr-o a șaisprezecea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu prima sau a doua variantă de realizare, în care compusul este 6-[(3R)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridină-3-carbonitril sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Intr-o a șaptesprezecea variantă de realizare, invenția furnizează o compoziție farmaceutică în conformitate cu prima sau a doua variantă de realizare, în care compusul este 6-[(3S)-4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridină-3-carbonitril sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Intr-o a optsprezecea variantă de realizare, invenția include, de asemenea, oricare dintre compușii dezvăluiți în Exemplificare sau în Tabelul din Exemplul 55. Sunt incluse atât sărurile acceptabile farmaceutic ale acestor compuși, cât și forma neutră corespunzătoare a compușilor.

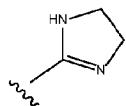
Intr-o a nouăsprezecea variantă de realizare, un compus cu următoarea formulă structurală:



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

R¹ este F sau metil; și

R³ este -CN, -C(=NH)NHCH₃,



sau metil.

Intr-o a douăzecea variantă de realizare, invenția furnizează compusul în conformitate cu a nouăsprezecea variantă de realizare, în care: R¹ este F; și R³ este -CN.

Intr-o a douăzeci și una variantă de realizare, invenția furnizează compusul în conformitate cu cea de-a douăzecea variantă de realizare, în care compusul este 6-[(3S)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridină-3-carbonitril sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Intr-o a douăzeci și doua variantă de realizare, invenția furnizează compusul în conformitate cu cea de-a douăzecea variantă de realizare, în care compusul este 6-[(3R)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridină-3-carbonitril sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Intr-o a douăzeci și treia variantă de realizare, invenția furnizează compusul în conformitate cu a douăzecea variantă de realizare, în care compusul este 6-[(3S)-4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridină-3-carbonitril sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Termenul "sare acceptabilă farmaceutic" se referă la o sare farmaceutică care este, în sfera judecății medicale sănătoase, adecvată pentru utilizare în contact cu țesuturile oamenilor și animalelor inferioare, fără toxicitate, iritație și răspuns alergic nejustificat și este proporțională cu un raport beneficiu/risc rezonabil. Sărurile acceptabile farmaceutic sunt bine cunoscute în domeniu. De exemplu, S.M. Berge și colab. descrie sărurile acceptabile farmacologic în J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19.

Incluse în prezentele învățături sunt sărurile acceptabile farmaceutic ale compușilor descriși aici. Compușii având grupuri bazice pot forma săruri acceptabile farmaceutic cu acid(zi) acceptabil(i) farmaceutic. Sărurile de adiție a acidului acceptabile farmaceutic adecvate ale compușilor descriși aici includ sărurile acizilor anorganici (cum ar fi acidul clorhidric, bromhidric, fosforic, metafosforic, azotic și sulfuric) și a acizilor organici (cum ar fi acidul acetic, benzensulfonic, benzoic, etansulfonic, metansulfonic, succinic și trifluoracetic). Compușii din prezentele învățături cu grupuri acide, cum ar fi acizii carboxilici, pot forma săruri acceptabile farmaceutic cu baze acceptabile farmaceutic. Sărurile de bază acceptabile farmaceutic adecvate includ sărurile de amoniu, sărurile metalelor alcaline (cum ar fi sărurile de sodiu și potasiu) și sărurile metalelor alcalino-pământoase (cum ar fi sărurile de magneziu și calciu).

Prezenta invenție furnizează, de asemenea, o metodă de tratare a unui subiect cu o boală care poate fi ameliorată prin inhibarea poli(ADP-riboză)polimerazei (PARP), cuprinzând administrarea la subiect a unei cantități eficiente de unul sau mai mulți compuși dezvoltăți sau a o sare acceptabilă farmaceutic a acestora sau compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre variantele de realizare anterioare.

De asemenea, aici este prevăzută utilizarea unuia sau mai multor compuși dezvoltăți, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora, sau a compoziției farmaceutice în conformitate cu oricare dintre variantele de realizare de mai sus, pentru prepararea unui medicament pentru tratamentul unei boli care poate fi ameliorat prin inhibarea PARP.

Intr-o altă variantă de realizare furnizat aici, compușii dezvoltăți, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora, sau compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre variantele de realizare anterioare sunt pentru utilizare în tratarea unei boli care poate fi ameliorată prin inhibarea PARP.

Intr-o variantă de realizare, prezenta invenție oferă o metodă de tratare a unui subiect cu leziuni renale acute, cuprinzând administrarea la subiect a unei cantități eficiente de unul sau mai mulți compuși dezvoltăți sau a o sare acceptabilă farmaceutic a acestora sau compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre variantele de realizare anterioare.

De asemenea, aici este prevăzută utilizarea unuia sau mai multor compuși dezvoltuiți, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora, sau a compoziției farmaceutice în conformitate cu oricare dintre variantele de realizare de mai sus, pentru prepararea unui medicament pentru tratamentul leziunii renale acute.

Intr-o altă variantă de realizare furnizat aici, compușii dezvoltuiți, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora, sau compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre variantele de realizare anterioare sunt pentru utilizare în tratarea leziunilor renale acute.

Intr-o altă variantă de realizare, prezenta invenție oferă o metodă de tratare a unui subiect cu cancer, cuprinzând administrarea la subiect a unei cantități eficiente de unul sau mai mulți compuși dezvoltuiți sau a o sare acceptabilă farmaceutic a acestora sau compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre variantele de realizare anterioare.

De asemenea, aici este prevăzută utilizarea unuia sau mai multor compuși dezvoltuiți, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora, sau a compoziției farmaceutice în conformitate cu oricare dintre variantele de realizare de mai sus, pentru prepararea unui medicament pentru tratamentul cancerului.

Intr-o altă variantă de realizare furnizat aici, compușii dezvoltuiți, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora, sau compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre variantele de realizare anterioare sunt pentru utilizare în tratarea cancerului.

SCURTĂ DESCRIERE A DESENELOR

Figura 1 arată că inhibitorii PARP1 din Exemplul 29 și Exemplul 30 s-au redus după 24 ore creatinină plasmatică și azot uree din sânge (BUN) într-un model animal de leziune renală.

DESCRIERE DETALIATĂ

Definiții

Termenul "halo" așa cum este utilizat aici înseamnă halogen și include clor, fluor, brom și iod.

Termenul "alchil" utilizat singur sau ca parte a unui fragment mai mare, cum ar fi "alcoxi" sau "haloalchil" și altele asemenea, înseamnă radical hidrocarbonat monovalent alifatic saturat cu lanț liniar sau ramificat. Dacă nu se specifică altfel, o grupă alchil are de obicei 1-5 atomi de carbon, *adică* (C₁-C₅)alchil. Așa cum este utilizat aici, o grupă "(C₁-C₅)alchil" înseamnă un grup radical având de la 1 la 5 atomi de carbon într-un aranjament liniar sau ramificat. Exemplele includ metil, etil, n-propil, izo-propil și altele asemenea.

Termenul "alcoxi" înseamnă un radical alchil atașat printr-un atom care leagă oxigenul, reprezentat de -O-alchil. De exemplu, "(C₁-C₄)alcoxi" include metoxi, etoxi, propoxi, și butoxi.

Termenii "haloalchil" și "haloalcoxi" înseamnă alchil sau alcoxi, după caz, substituit cu unul sau mai mulți atomi de halogen.

Termenul "cicloalchil" se referă la un sistem inelar monociclic de hidrocarburi saturate. De exemplu, un C₃₋₆ cicloalchil include ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil și ciclohexil. Dacă nu se descrie altfel, un "cicloalchil" are de la trei până la șase atomi de carbon.

Termenul "heteroaril", "heteroaromatic", "inel heteroaril", "grup heteroaril", "inel heteroaromatic" și "grup heteroaromatic", utilizat singur sau ca parte a unui fragment mai mare ca în "heteroaralchil" sau "heteroarilalcoxi", se referă la grupe de inele aromatice monociclice având cinci sau șase atomi inelari (*adică* „5-6 membri”) selectați dintre carbon și cel puțin unul (de obicei 1 până la 4, mai tipic 1 sau 2) heteroatomi (de exemplu, oxigen, azot sau sulf).

Exemple de grupe heteroaril monociclice includ furanil (de exemplu, 2-furanil, 3-furanil), imidazolil (de exemplu, N-imidazolil, 2-imidazolil, 4-imidazolil, 5-imidazolil), izoxazolil (de exemplu, 3-izoxazolil, 4-izoxazolil, 5-izoxazolil), oxadiazolil (de exemplu, 2-oxadiazolil, 5-oxadiazolil), oxazolil (de exemplu, 2-oxazolil, 4-oxazolil, 5-oxazolil), pirazolil (de exemplu, 3-pirazolil, 4-pirazolil), pirolil (de exemplu, 1-pirolil, 2-pirolil, 3-pirolil), piridil (de exemplu, 2-piridil, 3-piridil, 4-piridil), pirimidinil (de exemplu, 2-pirimidinil, 4-pirimidinil, 5-pirimidinil), piridazinil (de exemplu, 3-piridazinil), tiazolil (de exemplu, 2-tiazolil, 4-tiazolil, 5-tiazolil), triazolil (de exemplu, 2-triazolil, 5-triazolil), tetrazolil (de exemplu, tetrazolil), tienil (de exemplu, 2-tienil, 3-tienil), pirimidinil și piridinil și piridazinil.

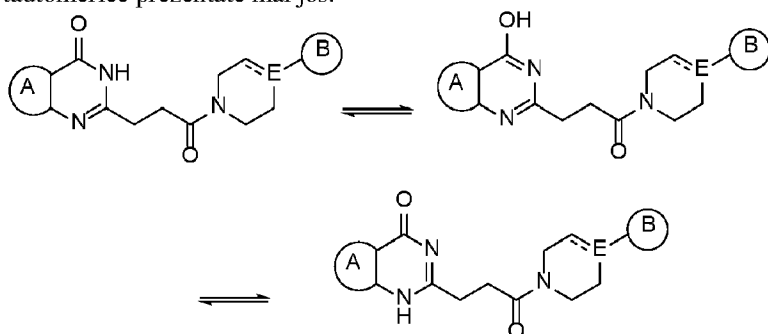
Termenul "heterociclic" se referă la un radical inelar monociclic non-aromatic conținând de la 4-6 atomi inelari (*adică*, "4-6 membri") selectați dintre atomul de carbon și 1 sau 2 heteroatomi. Fiecare heteroatom este selectat independent dintre azot, azot cuaternar, azot oxidat (de exemplu, NO); oxigen; și sulf, inclusiv sulfoxid și sulfonă. Grupele heterociclic reprezentative includ morfolinil, tiomorfolinil, pirolidinonil, pirolidinil, piperidinil, piperazinil, hidantoinil, valerolactamil, oxiranil, oxetanil, tetrahidrofuranil, tetrahidropiranil, tetrahidropirindil, tetrahidropirimidinil, tetrahidrotiofenil, tetrahidrotiopiranil și altele asemenea. O "grupă heterociclic substituită" este substituită la oricare sau mai mulți atomi inelari substituibili, care este un atom de carbon sau atom inelar de azot legat la un hidrogen.

Aşa cum este utilizat aici, multe fragmente (de exemplu, alchil, alchilen, cicloalchil, cicloalchilen, aril, arilenă, heteroaril, heteroarilenă, heterociclic sau heterociclicilenă) sunt denumite fie "substituite", fie "opțional substituite". Atunci când un fragment este modificat prin unul dintre acești termeni, dacă nu se menționează altfel, acesta denotă că poate fi substituită orice porțiune a fragmentului care este cunoscută specialiștilor în domeniu ca fiind disponibilă pentru substituție, care include unul sau mai mulți substituenți. Dacă este prezent mai mult de un substituent, atunci fiecare substituent poate fi selectat independent. Astfel de mijloace de substituție sunt bine cunoscute în domeniu și/sau predate prin prezenta dezvăluire. Substituenții opționali pot fi orice substituenți care sunt adecvați să se atașeze la fragment.

Substituenții adecvați sunt cei care nu au un efect advers semnificativ asupra capacității compusului de a inhiba PARP. În cazul în care substituenții adecvați nu sunt enumerați în mod specific, substituenții exemplificativi includ, dar nu sunt limitați la: (C₁-C₅)alchil, (C₁-C₅)hidroxialchil, (C₁-C₅)haloalchil, (C₁-C₅) alcoxi, (C₁-C₅) haloalcoxi, halogen, hidroxil, ciano, amino, -CN, -NO₂, -OR^c, -NR^aR^b, -S(O)_iR^a, -NR^aS(O)_iR^b, -S(O)_iNR^aR^b, -C(=O)OR^a, -OC(=O)OR^a, -C(=S)OR^a, -O(C=S)R^a, -C(=O)NR^aR^b, -NR^aC(=O)R^b, -C(=S)NR^aR^b, -NR^aC(=S)R^b, -NR^a(C=O)OR^b, -O(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)OR^b, -O(C=S)NR^aR^b, -NR^a(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)NR^aR^b, -C(=S)R^a, -C(=O)R^a, fenil, sau heteroaril cu 5-6 membrii. Fiecare R^a și fiecare R^b sunt selectați în mod independent dintre -H și (C₁-C₅)alchil, opțional substituit cu hidroxil sau (C₁-C₃)alcoxi; R^c este -H, (C₁-C₅)haloalchil sau (C₁-C₅)alchil, în care (C₁-C₅)alchil este opțional substituit cu hidroxil sau (C₁-C₃)alcoxi.

Unii dintre compușii descriși aici pot exista sub diferite forme stereozomerice sau tautomerice. Stereozomerii sunt compuși care diferă doar prin dispunerea spațială. Când un compus dezvăluit este numit sau descris prin structură fără a indica stereochemie, se înțelege că denumirea sau structura cuprinde toți stereozomerii, izomerii geometrici posibili, incluzând în mod esențial stereo sau izomerii geometrici, precum și combinația acestora.

În anumite cazuri există forme tautomerice ale compușilor dezvăluiți, cum ar fi structurile tautomerice prezentate mai jos:



Trebuie înțeles că atunci când un compus din prezenta este reprezentat de o formulă structurală sau desemnat printr-o denumire chimică aici, toate celelalte forme tautomerice care pot exista pentru compus sunt cuprinse de formula structurală.

Anumiți compuși dezvăluiți pot exista sub diferite forme stereozomerice. Stereozomerii sunt compuși care diferă doar prin dispunerea spațială. Enantiomerii sunt perechi de stereozomeri ale căror imagini în oglindă nu sunt superpozabile, cel mai frecvent deoarece conțin un atom de carbon substituit asimetric care acționează ca un centru chiral. "Enantiomer" înseamnă una dintr-o pereche de molecule care sunt imagini în oglindă unele cu altele și nu sunt superpozabile. Diastereozomerii sunt stereozomeri care conțin doi sau mai mulți atomi de carbon substituiți asimetric. „Izomerii geometrici” sunt stereozomeri care diferă în orientarea atomilor substituenți în raport cu o dublă legătură carbon-carbon, cu un inel carbociclic sau cu un sistem biciclic cu punte.

Când un izomer geometric este descris după nume sau structură, trebuie înțeles că puritatea izomerică geometrică a izomerului geometric numit sau descris este de cel puțin 60%, 70%, 80%, 90%, 99% sau 99,9% pură în greutate. Puritatea izomerică geometrică este determinată prin împărțirea greutății izomerului geometric numit sau descris în amestec la greutatea totală a tuturor izomerilor geometrici din amestec.

Când stereochemia unui compus dezvăluit este numită sau descrisă prin structură, stereozomerul numit sau descris este cel puțin 60%, 70%, 80%, 90%, 99% sau 99,9% în greutate pur în raport cu toți ceilalți stereozomeri. Procentul în greutate pur în raport cu toți ceilalți stereozomeri este raportul dintre greutatea unui stereozomer și greutatea celorlalți stereozomeri. Când un singur enantiomer este denumit sau descris prin structură, enantiomerul descris sau denumit este de cel puțin 60%, 70%, 80%, 90%, 99% sau 99,9% în greutate optic pur (denumit și "enantiomeric pur").

Procentul de puritate optică în greutate este raportul dintre greutatea enantiomerului și greutatea enantiomerului plus greutatea izomerului său optic.

Când stereochemia unui compus dezvoltat este numită sau descrisă prin structură, iar structura numită sau descrisă cuprinde mai mult de un stereoisomer (de exemplu, ca într-o pereche diastereomerică), trebuie înțeles că unul dintre stereoisomerii cuprinși sau orice amestec de stereoisomerii cuprinși sunt incluși. Trebuie înțeles în plus că puritatea stereoisomerică a stereoisomerilor numiți sau descriși este cel puțin 60%, 70%, 80%, 90%, 99% sau 99,9% în greutate pură față de toți ceilalți stereoisomeri. Puritatea stereoisomerică în acest caz este determinată prin împărțirea greutății totale în amestecul de stereoisomeri cuprinși de denumire sau structură la greutatea totală din amestecul tuturor stereoisomerilor.

Atunci când un compus dezvoltat este denumit sau descris prin structură fără a indica stereochemia și compusul are un centru chiral, trebuie înțeles că denumirea sau structura cuprinde un enantiomer de compus liber de izomerul optic corespunzător, un amestec racemic al compusului și amestecuri îmbogățite într-un enantiomer față de izomerul său optic corespunzător.

Când un compus dezvoltat este numit sau descris prin structură fără a indica stereochemia și, *de exemplu*, compusul are cel puțin două centre chirale, trebuie înțeles că numele sau structura cuprinde un stereoisomer lipsit de alți stereoisomeri, amestecuri de stereoisomeri și amestecuri de stereoisomeri în care unul sau mai mulți stereoisomeri sunt îmbogățiti față de celălalt stereoisomer(i). De exemplu, numele sau structura poate cuprinde un stereoisomer lipsit de alți diastereomeri, amestecuri de stereoisomeri și amestecuri de stereoisomeri în care unul sau mai mulți diastereomeri este îmbogățit în raport cu celălalt diastereomer(i).

Amestecurile enantiomerice și diastereomerice pot fi rezolvate în enantiomerii lor componenți sau stereoisomeri prin metode bine cunoscute, cum ar fi cromatografia gazoasă în fază chirală, cromatografia lichidă de înaltă performanță în fază chirală, cristalizarea compusului ca un complex de sare chirală sau cristalizarea compusului într-un solvent chiral. Enantiomerii și diastereomerii pot fi, de asemenea, obținuți din intermediari, reactivi și catalizatori diastereomerici sau enantiomerici puri prin metode sintetice asimetrice bine cunoscute.

Compoziții Farmaceutice

Compuși dezvoltăți aici sunt inhibitori PARP (de exemplu, inhibitori PARP-1). Compoziția farmaceutică a prezentei invenții cuprinde unul sau mai mulți inhibitori PARP (de exemplu, inhibitori PARP-1), sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora și un purtător sau diluant acceptabil farmaceutic.

"Purtător acceptabil farmaceutic" și "diluant acceptabil farmaceutic" se referă la o substanță care ajută la formularea și/sau administrarea unui agent activ și/sau absorbția de către un subiect și poate fi inclusă în compozițiile prezente dezvoltate fără a provoca un efect toxicologic advers asupra subiectului. Exemple nelimitative de purtători și/sau diluanți acceptabili farmaceutic includ apă, NaCl, soluții saline normale, lactat Ringer, zaharoză normală, glucoză normală, lianți, umpluturi, dezintegranti, lubrifianți, acoperiri, îndulcitori, arome, soluții de sare (cum ar fi soluție Ringer), alcooli, uleiuri, gelatine, carbohidrați cum ar fi lactoză, amiloză sau amidon, esteri ai acizilor grași, hidroximetilceluloză, polivinil pirolidină și coloranți și altele asemenea. Astfel de preparate pot fi sterilizate și, dacă se dorește, amestecate cu agenți auxiliari precum lubrifianți, conservanți, stabilizatori, agenți de umectare, emulgatori, săruri pentru influențarea presiunii osmotice, tampoane, coloranți și/sau substanțe aromatice și altele asemenea care nu reacționează în mod dăunător cu sau interferează cu activitatea compușilor furnizați aici. Un specialist în domeniu va recunoaște că alți excipienți farmaceutici sunt adecvați pentru utilizare cu compuși dezvoltăți.

Compozițiile farmaceutice din prezentele învățături includ opțional unul sau mai mulți purtători și/sau diluanți acceptabili farmaceutic ai acestora, cum ar fi lactoză, amidon, celuloză și dextroză. Alți excipienți, cum ar fi agenți de aromatizare; îndulcitori; și conservanți, cum ar fi metil, etil, propil și butil paraben, pot fi, de asemenea, incluși. Lista mai completă a excipienților potriviți poate fi găsită în Handbook of Pharmaceutical Excipients (Ediția a 5-a, Pharmaceutical Press (2005)). O persoană de specialitate în domeniu ar ști cum să pregătească formulări adecvate pentru diferite tipuri de căi de administrare. Procedurile convenționale și ingredientele pentru selectarea și prepararea formulărilor adecvate sunt descrise, de exemplu, în Remington's Pharmaceutical Sciences (2003-Ediția a 20-a) și în The United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19) publicat în 1999. Purtătorii, diluanții și/sau excipienții sunt „acceptabili” în sensul că sunt compatibili cu celelalte ingrediente ale compoziției farmaceutice și nu sunt dăunători destinatarului acestora.

Metode de Tratament

PARP-urile sunt implicate într-o gamă largă de funcții celulare, inclusiv repararea ADN-ului, homeostazia mitocondrială, protecția împotriva stresului oxidativ, inflamația, reglarea metabolică, ritmurile circadiene, diferențierea și îmbătrânirea. Vezi, de exemplu, Peter Bai, Molecular

Cell 58:947 (2015). Ca atare, inhibitorii PARP au potențialul de a trata o gamă largă de afecțiuni și un număr de inhibitori PARP au fost aprobați pentru tratamentul cancerului.

Prezenta invenție oferă o metodă de tratare a unui subiect cu o boală care poate fi ameliorată prin inhibarea PARP, administrând subiectului o cantitate eficientă de unul sau mai mulți compuși dezvăluiți, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau compoziția farmaceutică corespunzătoare.

Un "subiect" este un mamifer, preferabil un om, dar poate fi și un animal care are nevoie de tratament veterinar, de exemplu, animale de companie (de exemplu, câini, pisici și altele asemenea), animale de fermă (de exemplu, vaci, oi, porci, cai și altele asemenea) și animale de laborator (de exemplu, șobolani, șoareci, cobai și altele asemenea).

Intr-o variantă de realizare, bolile care pot fi ameliorate prin inhibarea PARP sunt o tulburare a structurii musculare, o tulburare de activare neuronală, o tulburare de oboseală musculară, o tulburare a masei musculare, o boală de beta-oxidare, o boală metabolică, un cancer, o boală vasculară, o boală vasculară oculară, o boală musculară a ochilor sau o boală renală.

Intr-un aspect al acestei variante de realizare, tulburarea structurii musculare este selectată dintre miopatia Bethlem, boala miezului central, disproporția congenitală de tip fibră, distrofia musculară distală (DM), DM Duchenne și Becker, DM Emery-Dreifuss, DM facioscapulohumeral, miopatia corpului hialin, DM a centurilor, tulburări ale canalului de sodiu muscular, condrodistrofie miotonică, distrofie miotonică, miopatie miotubulară, boală nemalină a corpului, DM oculofaringian și incontinență urinară de stres.

Intr-un alt aspect al variantei de realizare, tulburarea de activare neuronală este selectată dintre scleroza laterală amiotrofică, boala Charcot-Marie-Tooth, sindromul Guillain-Barre, sindromul Lambert-Eaton, scleroza multiplă, miastenia gravis, leziunea nervoasă, neuropatia periferică, atrofia musculară spinală, paralizie nervoasă ulnară tardivă și tulburare mioneurală toxică.

Intr-un alt aspect al acestei variante de realizare, tulburarea de oboseală musculară este selectată dintre sindromul de oboseală cronică, diabetul zaharat (tip I sau II), boala de stocare a glicogenului, fibromialgia,

Ataxia lui Friedreich, claudicarea intermitentă, miopatia de stocare a lipidelor, MELAS, mucopolizaharidoză, boala Pompe și miopatia tirototoxică;

Intr-un alt aspect al acestei variante de realizare, tulburarea masei musculare este cașexia, degenerarea cartilajului, paralizia cerebrală, sindromul compartimentului, miopatia bolii critice, miozita corpului de incluziune, atrofia musculară (dezafectare), sarcopenia, miopatia steroizilor și lupusul eritematos sistemic.

Intr-un alt aspect al acestei variante de realizare, boala beta-oxidării este selectată dintre transportorul sistemic de carnitină, deficitul de carnitină palmitoiltransferază (CPT) II, deficit de acil-CoA dehidrogenază cu lanț foarte lung (LCHAD sau VLCAD), deficit de enzimă trifuncțională, deficit de dehidrogenază cu acil-CoA cu lanț mediu (MCAD), deficit de dehidrogenază acil-CoA cu lanț scurt (SCAD) și tulburări de β -oxidare (RR-MADD) care răspund la riboflavină.

Intr-un alt aspect al acestei variante de realizare, boala metabolică este selectată dintre hiperlipidemie, dislipidemie, hipercolesterolemie, hipertrigliceridemie, HDL hipocolesterolemie, LDL hipercolesterolemie și/sau HLD non-colesterolemie, hiperproteinemie VLDL, dislipoproteinemie, apolipoproteină A-I hiperproteinemie, arteroscleroză, boală a sistemelor cardiovasculare, boală cerebrovasculară, boală circulatorie periferică, sindrom metabolic, sindrom X, obezitate, diabet (tip I sau II), hiperglicemie, rezistență la insulină, toleranță la glucoză afectată, hiperinsulinism, complicație diabetică, insuficiență cardiacă, infarct cardiac, cardiomiopatie, hipertensiune arterială, boală hepatică grasă nealcoolică (NAFLD), steatohepatită nealcoolică (NASH), trombus, boală Alzheimer, boală neurodegenerativă, boală demielinizantă, scleroză multiplă, adrenoleucodistrofie, dermatită, psoriazis, acnee, îmbătrânire a pielii, trihoză, inflamație, artrită, astm, sindromul intestinului hipersensibil, colita ulcerativă, boala Crohn și pancreatita.

Intr-un alt aspect al acestei variante de realizare, boala vasculară este selectată dintre insuficiența vasculară periferică, boala vasculară periferică, claudicarea intermitentă, boala vasculară periferică (PVD), boala arterială periferică (PAD), boala ocluzivă a arterelor periferice (PAOD) și arteriopatia obliterativă periferică.

Intr-un alt aspect al acestei variante de realizare, boala vasculară oculară este selectată dintre degenerescența maculară legată de vârstă (ADM), boala Stargardt, retinopatia hipertensivă, retinopatia diabetică, retinopatia, degenerescența maculară, hemoragia retiniană și glaucomul.

Intr-un alt aspect al acestei variante de realizare, boala musculară a ochiului este selectată dintre strabism, oftalmoplegia externă progresivă, esotropia, exotropia, o tulburare de refracție și acomodare, hipermetropie, miopie, astigmatism, anizometropie, presbiopie, o tulburare de acomodare și oftalmoplegia internă.

Intr-un aspect final al acestei variante de realizare, boala renală este selectată dintre glomerulonefrită, glomeruloscleroză, sindrom nefrotic, nefroscleroză hipertensivă, nefrită acută, hematurie recurentă, hematurie persistentă, nefrită cronică, nefrită rapid progresivă, insuficiență renală acută (cunoscută și sub numele de leziune renală acută), insuficiență renală cronică, nefropatie diabetică și sindrom Bartter.

Intr-o altă variantă de realizare, boala care poate fi ameliorată prin inhibarea PARP include lipodistrofia genetică, boala hepatică grasă nealcoolică (NAFLD), steatohepatita nealcoolică (NASH), ischemia renală/leziunea reperfuziei (IRI), distrofia musculară Duchenne și Becker, diabet (tip I sau tip II), obezitate și sarcopenie.

Intr-o altă variantă de realizare, boala care poate fi ameliorată prin inhibarea PARP include boala Alpers, CPEO-ofthalmoplegia externă progresivă cronică, sindromul Kearns-Sayra (KSS), Neuropatia Optică Ereditară Leber (LHON), MELAS-miopia mitocondrială, encefalomiopia lactică și episoade asemănătoare accidentului vascular cerebral, epilepsie mioclonică MERRF și boala a fibrelor roșii zdrențuite, slăbiciune musculară neurogenă NARP, ataxie și retinită pigmentară, sindrom Pearson, ototoxicitate indusă de chimioterapie pe bază de platină, sindrom Cockayne, xeroderma pigmentos A, degenerare Walleriană, și lipodistrofia indusă de HIV. Într-o altă variantă de realizare, boala care poate fi ameliorată prin inhibarea PARP este leziunea renală acută.

În anumite variante de realizare, invenția oferă metode pentru utilizarea compușilor invenției și a compozițiilor farmaceutice ale acestora. Compușii invenției și compozițiile farmaceutice ale acestora pot fi utili pentru o varietate de aplicații terapeutice incluzând, de exemplu, tratarea și/sau reducerea unei largi varietăți de boli și tulburări, inclusiv, de exemplu, boli sau tulburări legate de îmbătrânire sau stres, diabet, obezitate, boli neurodegenerative, boli cardiovasculare, tulburări de coagulare a sangelui, inflamație, cancer și/sau înroșire etc. Metodele cuprind administrarea unui subiect care are nevoie de acesta o cantitate eficientă farmaceutic din unul sau mai mulți compuși ai invenției și/sau compoziții farmaceutice ale acestora.

Intr-o altă variantă de realizare, compușii invenției și compozițiile farmaceutice ale acestora pot fi utilizați pentru tratarea celulelor utile pentru transplant sau terapie celulară, incluzând, de exemplu, grefe de țesut solid, transplanturi de organe, suspensii de celule, celule stem, celule de măduvă osoasă etc. Celulele sau țesutul pot fi o autogrefă, o alogrefă, o singrefă sau o xenogrefă. Celulele sau țesutul pot fi tratate folosind compușii conform invenției și compozițiile farmaceutice ale acestora înainte de administrare/implantare, concomitent cu administrare/implantare și/sau post-administrare/implantare într-un subiect. Celulele sau țesutul pot fi tratate înainte de îndepărtarea celulelor de la individul donator, ex vivo după îndepărtarea celulelor sau a țesutului de la individul donator sau după implantare în primitor. De exemplu, individul donator sau primitor poate fi tratat sistemic cu preparatele de clorură de nicotinamidă ribozidă sau compoziții farmaceutice conform invenției sau poate avea un subset de celule/țesut tratat local cu compușii invenției și compozițiile farmaceutice ale acestora. În anumite variante de realizare, celulele sau țesutul (sau indivizii donatori/primitori) pot fi tratați suplimentar cu un alt agent terapeutic util pentru prelungirea supraviețuirii grefei, cum ar fi, de exemplu, un agent imunosupresiv, o citokină, un factor angiogen etc.

În alte variante de realizare, compușii invenției și/sau o compoziție farmaceutică a acestora pot fi utilizați pentru tratarea afecțiunilor pielii. Afecțiuni cutanate exemplificative care pot fi tratate în conformitate cu metodele descrise aici includ tulburări sau boli asociate sau cauzate de inflamație, leziuni provocate de soare sau îmbătrânire naturală. De exemplu, compozițiile își găsesc utilitatea în tratamentul dermatitei de contact (incluzând dermatita de contact iritantă și dermatita de contact alergică), dermatita atopică (cunoscută și sub numele de eczeme alergice), keratoza actinică, tulburările de keratinizare (inclusiv eczema), bolile epidermolizei buloase (inclusiv penfigus), dermatită exfoliativă, dermatită seboreică, eriteme (inclusiv eritemul multiform și eritemul nodos), leziuni cauzate de soare sau alte surse de lumină, lupus eritematos discoid, dermatomiozită, psoriazis, cancer de piele și efectele îmbătrânirii naturale. Într-o altă variantă de realizare, compușii invenției și compozițiile farmaceutice ale acestora pot fi utilizați pentru tratamentul rănilor și/sau arsurilor pentru a promova vindecarea, incluzând, de exemplu, arsuri de gradul I, II sau III și/sau chimice termice sau arsuri electrice.

Compușii invenției și compozițiile farmaceutice ale acestora pot fi administrați de asemenea subiecților pentru tratamentul bolilor, de exemplu, boli cronice, asociate cu moartea celulară, pentru a proteja celulele de moartea celulară. Boli exemplificative includ cele asociate cu moartea celulelor neuronale, disfuncția neuronală sau moartea sau disfuncția celulelor musculare, cum ar fi boala Parkinson, boala Alzheimer, scleroza multiplă, scleroza laterală amiotropă și distrofia musculară; SIDA; hepatită fulminantă; boli legate de degenerarea creierului, cum ar fi boala Creutzfeld-Jakob, retinita pigmentară și degenerarea cerebeloasă; mielodisplazie precum anemia aplastică; boli ischemice, cum ar fi infarctul miocardic și accidentul vascular cerebral; boli hepatice

precum hepatita alcoolică, hepatita B și hepatita C; boli articulare, cum ar fi osteoartrita; ateroscleroza; alopecie; deteriorarea pielii din cauza luminii UV; lichen planus; atrofia pielii; cataractă; și respingeri de grefă. Moartea celulară poate fi cauzată și de intervenții chirurgicale, terapie medicamentoasă, expunere chimică sau expunere la radiații.

Compușii invenției și compozițiile farmaceutice ale acestora pot fi, de asemenea, administrați unui subiect care suferă de o boală acută, de exemplu, leziuni ale unui organ sau țesut, de exemplu, un subiect care suferă de accident vascular cerebral sau infarct miocardic sau un subiect care suferă o leziune a măduvei spinării. Compușii conform invenției și compozițiile farmaceutice ale acestora pot fi de asemenea utilizați pentru a repara ficatul unui alcoolic.

Intr-o altă variantă de realizare, invenția oferă o metodă pentru tratarea unei boli cardiovasculare prin administrarea unui subiect care are nevoie de acesta unul sau mai mulți dintre compuşii invenției și/sau o compoziție farmaceutică a acestora. Bolile cardiovasculare care pot fi tratate utilizând compuşii conform invenției și compozițiile farmaceutice ale acestora includ cardiomiopatia sau miocardita; cum ar fi cardiomiopatia idiopatică, cardiomiopatia metabolică, cardiomiopatia alcoolică, cardiomiopatia indusă de medicamente, cardiomiopatia ischemică și cardiomiopatia hipertensivă. De asemenea, tratabile utilizând compozițiile și metodele descrise aici sunt tulburările ateromatoase ale vaselor de sânge majore (boala macrovasculară), cum ar fi aorta, arterele coronare, arterele carotide, arterele cerebrovasculare, arterele renale, arterele iliace, arterele femurale și arterele poplitee. Alte boli vasculare care pot fi tratate includ cele legate de agregarea plachetară, arteriolele retiniene, arteriolele glomerulare, vasa nervorum, arteriolele cardiace și paturile capilare asociate ale ochiului, rinichiului, inimii și sistemelor nervoase centrale și periferice. Compușii conform invenției și compozițiile farmaceutice ale acestora pot fi, de asemenea, utilizați pentru creșterea nivelului de HDL în plasmă al unei persoane.

Metode de Administrare și Forme de Dozare

Cantitatea exactă de compus administrat pentru a oferi o „cantitate eficientă” subiectului va depinde de modul de administrare, de tipul și severitatea bolii și/sau afecțiunea și de caracteristicile subiectului, cum ar fi starea generală de sănătate, vârsta, sexul, greutatea corporală și toleranța la medicamente. Specialiștii în domeniu vor putea determina dozele adecvate în funcție de acești și de alți factori. Atunci când este administrat în combinație cu alți agenți terapeutici, de *exemplu*, atunci când este administrat în combinație cu un agent anticancer, o „cantitate eficientă” din orice agent terapeutic suplimentar depinde de tipul de medicament utilizat. Dozele adecvate sunt cunoscute pentru agenții terapeutici autorizați și pot fi ajustate de către un specialist în domeniu în funcție de starea subiectului, de tipul afecțiunii(lor) tratat(e) și de cantitatea de compus conform invenției utilizată urmând, de exemplu, dozele raportate în literatură și recomandate în Physician's Desk Reference (ediția a 57-a, 2003).

Termenul "cantitate eficientă" înseamnă o cantitate atunci când este administrată subiectului care are ca rezultat rezultate benefice sau dorite, inclusiv rezultate clinice, *de exemplu*, inhibă, suprimă sau reduce simptomele afecțiunii tratate la subiect în comparație cu un martor. De exemplu, o cantitate eficientă din punct de vedere terapeutic poate fi dată sub formă de dozare unitară (de *exemplu*, 0,1 mg până la aproximativ 50 g pe zi, alternativ de la 1 mg la aproximativ 5 grame pe zi; și într-o altă alternativă de la 10 mg la 1 gram pe zi).

Termenii „a administra”, „administrand”, „administrare” și altele asemenea, așa cum sunt folosiți aici, se referă la metode care pot fi utilizate pentru a da livrarea compozițiilor la locul dorit de acțiune biologică. Aceste metode includ, dar nu se limitează la, intraarticular (în articulații), intravenos, intramuscular, intratumoral, intradermic, intraperitoneal, subcutanat, oral, local, intratecal, inhalator, transdermic, rectal și altele asemenea. Tehnicile de administrare care pot fi utilizate cu agenții și metodele descrise aici sunt găsite în, *de exemplu*, Goodman și Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, ediția actuală; Pergamon; și Remington's, Pharmaceutical Sciences (ediția actuală), Mack Publishing Co., Easton, Pa.

În plus, inhibitorii PARP dezvoltă pot fi co-administrați cu alți agenți terapeutici. Așa cum este utilizat aici, termenii "co-administrare", "administrat în combinație cu" și echivalenții lor gramaticali, sunt mențiți să cuprindă administrarea a doi sau mai mulți agenți terapeutici la un singur subiect și sunt intenționați să includă regimuri de tratament în care agenții sunt administrați pe aceeași cale de administrare sau diferită sau în același moment sau în momente diferite. În unele variante de realizare, unul sau mai mulți compuşii descriși aici vor fi co-administrați cu alți agenți. Acești termeni cuprind administrarea a doi sau mai mulți agenți la subiect, astfel încât ambii agenți și/sau metaboliții lor sunt prezenți în subiect în același timp. Acestea includ administrarea simultană în compoziții separate, administrarea în momente diferite în compoziții separate și/sau administrarea într-o compoziție în care sunt prezenți ambii agenți. Astfel, în unele variante de realizare, compuşii descriși aici și celălalt agent(ți) sunt administrați într-o singură compoziție. În unele variante de realizare, compuşii descriși aici și celălalt agent(ți) sunt amestecați în compoziție.

Modul particular de administrare și regimul de dozare vor fi selectate de către medicul curant, luând în considerare detaliile cazului (de *exemplu*, subiectul, boala, starea bolii implicate, tratamentul particular). Tratamentul poate implica doze zilnice sau multi-zilnice sau mai puțin decât zilnic (cum ar fi săptămânal sau lunar etc.) pe o perioadă de câteva zile până la luni sau chiar ani. Cu toate acestea, o persoană cu calificare obișnuită în domeniu ar recunoaște imediat dozele adecvate și/sau echivalente privind dozele compozițiilor aprobate pentru tratarea unei boli mediate de PARP folosind inhibitori PARP dezvăluiți (de exemplu, inhibitori PARP-1) pentru îndrumare.

Compușii sau compozițiile farmaceutice corespunzătoare explicate aici pot fi administrate unui pacient într-o varietate de forme în funcție de calea de administrare selectată, așa cum va fi înțeles de către specialiștii în domeniu. Compușii din prezentele învățături pot fi administrați, de exemplu, prin administrare orală, parenterală, bucală, sublinguală, nazală, rectală, plasture, pompă sau transdermică și compozițiile farmaceutice formulate corespunzător. Administrarea parenterală include moduri de administrare intravenoasă, intraperitoneală, subcutanată, intramusculară, transepitelială, nazală, intrapulmonară, intratecală, rectală și topică. Administrarea parenterală poate fi prin perfuzie continuă pe o perioadă de timp selectată.

Compoziția farmaceutică conform invenției este formulată pentru a fi compatibilă cu calea sa de administrare intenționată. Într-o variantă de realizare, compoziția este formulată în conformitate cu procedurile de rutină ca o compoziție farmaceutică adaptată pentru administrare intravenoasă, subcutanată, intramusculară, orală, intranasală sau topică la ființe umane. În variante de realizare preferate, compoziția farmaceutică este formulată pentru administrare intravenoasă.

De obicei, pentru administrare terapeutică orală, un compus din prezentele învățături poate fi incorporat cu excipient și utilizat sub formă de tablete ingerabile, tablete bucale, drajeuri, capsule, elixiruri, suspensii, siropuri, capsule și altele asemenea.

De obicei pentru administrare parenterală, soluțiile unui compus din prezentele învățături pot fi preparate în general în apă amestecată corespunzător cu un surfactant, cum ar fi hidroxipropilceluloză. Dispersiile pot fi, de asemenea, preparate în glicerol, polietilen glicoli lichizi, DMSO și amestecuri ale acestora cu sau fără alcool și în uleiuri. În condiții obișnuite de depozitare și utilizare, aceste preparate conțin un conservant pentru a preveni creșterea microorganismelor.

De obicei, pentru utilizare injectabilă, sunt adecvate soluțiile apoase sterile sau dispersia și pulberile sterile ale unui compus descris aici pentru prepararea extemporană a soluțiilor sau dispersiilor sterile injectabile.

EXEMPLIFICARE

Abrevieri

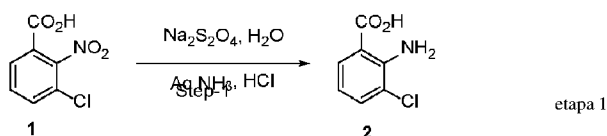
Me	metil
Et	etil
Boc	terț-butiloxycarbonil
Ac	acetil
Ph	fenil
Tf	trifluormetansulfonil
DIPEA	diizopropiletilamină
EDC	3-(3-dimetilaminopropil)-1-etilcarbodiimidă
HOBt	1-hidroxibenzotriazol
DCM	diclorometan
DMF	N,N-dimetilformamidă
DMSO	dimetilsulfoxid
TFA	acid trifluoracetic
THF	tetrahidrofuran
TMS	trimetil silan
TMSOTf	trifluormetansulfonat de trimetilsilil
aq	apoc
M	concentrație exprimată în mol/L
TC	temperatura camerei
TLC	cromatografia în strat subțire
HPLC	cromatografie lichidă de înaltă performanță
NMI	1-metilimidazol
LCMS	cromatografie lichidă-spectrometrie de masă
ESI+	valori m/z în spectroscopie de masă (ionizare ESI)
ESI-	valori m/z în spectroscopie de masă (ionizare ESI)
^1H RMN (DMSO- d_6)	δ (ppm) de varf în ^1H RMN în DMSO- d_6
s	singlet (spectru)

d	dublet (spectru)
t	triplet (spectru)
q	cvarțet (spectru)
dd	dublu dublet (spectru)
5 fr	linie largă (spectru)
m	multiplet (spectru).
4-ANI	4-amino-1,8-naftalimidă
ADP	Adenozin difosfat
CPM	numărători pe minut
10 ADN	Acid dezoxiribonucleic
TDT	DL-Ditiotreitol
FB	Fund Plat
mg	milli gram
mM	milli molar
15 NAD	Dinucleotidă nicotinamidă-adenină
nM	nano molar
ng	nano gram
PARP 1	Poli (ADP-riboză) polimerază-1
SPA	Test de Scintilație de Proximitate
20 μ Ci	micro curie
μ L	microlitru
T3P	anhidridă propilfosfonică
NMM	4-metilmorfolină
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
25 EtOAc	acetat de etil
TEMPO	2,2,6,6-Tetrametil-1-piperidiniloxi
MTBE	terț-butil metil eter
HATU	1-[Bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridiniu
3-	hexafluorofosfat oxidant
30 IPA	alcool izopropilic
DMA	N,N- dimetilacetamidă
BINAP	1,1'-binaftalen-2,2'-diil)bis(difenilfosfină
NMP	1-metil-2-pirolidinonă
Dppf	1,1'-bis(difenilfosfino)ferocen
35 DMAP	4-(dimetilamino)piridină
DIEA	N,N- diizopropiletilamină

Exemplul 1 - Sinteză 3-clor-4-(4-(3-(8-clor-4-oxo-3,4-dihidrochinazolin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)-N-ciclopropilbenzamidă

Etapa 1:

40

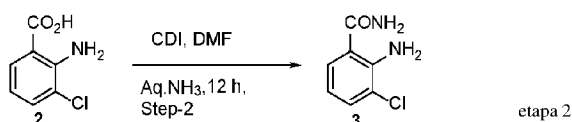


La o soluție agitată de acid 3-clor-2-nitro-benzoic (15 g, 0,074 mol) în apă (105 ml), 30% apos. NH_3 (6 ml) și o soluție apoasă de ditionit de sodiu (52 g, 0,298 mol) s-a adăugat la TC și se agită timp de 1 oră (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost

45 acidificat cu conc. HCl (30 ml) până la pH = 3, extras cu EtOAc (2 X 500 ml), spălat cu apă (2 X 100 ml) și soluție salină (150 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 , concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost spălat cu Et_2O (50 ml) pentru a se obține acid 2-amino-3-clor-benzoic (9 g, 70%) sub forma unui solid aproape alb.

50 **LCMS:** m/z : 172,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Etapa 2:

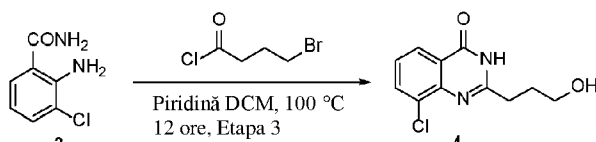


Soluția agitată de acid 2-amino-3-clor-benzoic (9g, 0,052 mol) și CDI (9 g, 0,055 mol) în DMF (180 ml) a fost încălzită la 70 °C timp de 1 oră. Apoi 30% NH_3 apos (144 ml) s-a adăugat,

menținând temperatura la 70 °C și se agită timp de 16 ore (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost adus la TC, turnat în apă cu gheață (1 L) și extras cu EtOAc (2 X 250 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (2 X 100 ml), soluție salină (100 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost spălat cu Et₂O (2 X 30 ml) pentru a furniza 2-amino-3-clor-benzamidă (5,4 g, 60%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS: *m/z*: 171,3 [M+H]⁺.

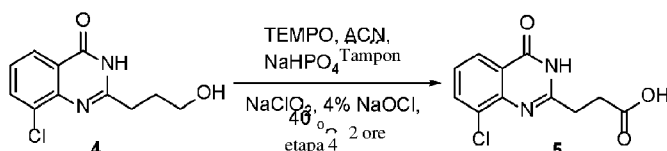
Etapa: 3



La o soluție agitată de 2-amino-3-clor-benzamidă (2 g, 11,76 mmol) dizolvată în piridină (15 ml), luată într-un tub închis, clorură de 4-bromobutanoil (3,3 g, 17,64 mmol) în DCM (5 ml) s-a adăugat la 0 °C. Amestecul de reacție a fost încălzit la 100 °C și agitat timp de 12 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus la TC, diluat cu apă (150 ml) și extras cu EtOAc (2 X 150 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl (2 X 50 ml), soluție salină (50 ml), uscat pe Na₂SO₄, concentrat sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost spălat cu toluen (20 ml), eter (2 X 10 ml) pentru a da 8-clor-2-(3-hidroxiopropil)-3H-chinazolin-4-onă (600 mg, 21%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS: *m/z*: 239,4 [M+1]⁺.

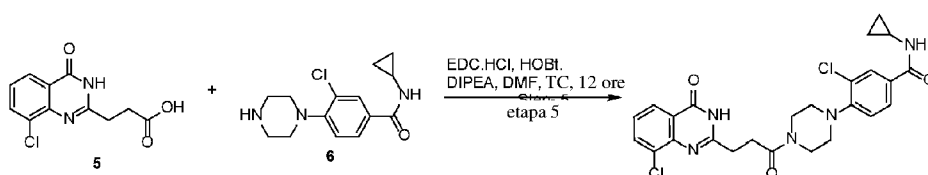
Etapa 4



La o soluție agitată de 8-clor-2-(3-hidroxiopropil)-3H-chinazolin-4-onă (500 mg, 2,10 mmol) în ACN (10 ml), TEMPO (65 mg, 0,414 mmol) și tampon fosfat de sodiu soluție (8 ml, pH = 6,5) s-au adăugat la TC și s-au încălzit la 40 °C. Apoi clorit de sodiu (3,75 g în 15 ml apă) și soluție de clorit de sodiu (4% în H₂O, 15 ml) s-a adăugat în porțiuni, la 40 °C. Amestecul de reacție a fost adus la TC, alcalinizat cu soluție de NaOH 1 N până la pH = 8, turnat în soluție Na₂S₂O₃ 1 N (50 ml), spălat cu MTBE (2 X 25 ml). Stratul apos a fost acidificat cu HCl 1 N până la pH = 1 și extras cu EtOAc (3 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (50 ml), uscat pe Na₂SO₄, concentrat sub presiune redusă pentru a da acid 3-(8-clor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (250 mg, 47%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără nicio purificare suplimentară.

LCMS: *m/z*: 253,3 [M+1]⁺.

Etapa 5



La o soluție agitată de acid 3-(8-clor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (285 mg, 1,13 mmol) și 3-clor-N-ciclopropil-4-piperazin-1-il-benzamidă (308 mg, 1,1 mmol) în DMF (2,6 ml), EDC·HCl (432 mg, 2,26 mmol), HOBT (305 mg, 2,26 mmol) și DIPEA (0,96 ml, 5,65 mmol) au fost adăugate la RT și agitate pentru 12 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă rece (50 ml), extras cu EtOAc (3 X 25 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu apă (25 ml), soluție salină (25 ml), uscat pe Na₂SO₄, concentrat sub presiune redusă și reziduul a fost purificat prin Teledyne-ISCO Combiflash (5-7% MeOH-DCM, cartuș de 4 gm) pentru a obține 3-clor-4-(4-(3-(8-clor-4-oxo-3,4-dihidrochinazolin-2-il)propanoil)piperazin-1-il)-N-ciclopropilbenzamidă (100 mg, 85% LCMS) care a fost purificat în continuare prin Prep-HPLC pentru a da compusul pur (25 mg, 5%) sub forma unui solid alb.

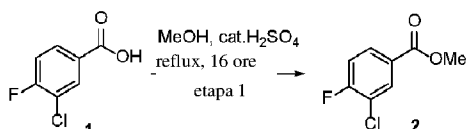
¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,54 (brs, 1H), 8,42 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 8,05 -8,02 (m, 1H), 7,93-7,88 (m, 2H), 7,76 (dd, *J* = 8,1, 1,8 Hz, 1H), 7,42 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H),

3,70 (m, 2H), 3,61 (m, 2H), 3,08-2,92 (m, 2H), 2,8-2,79 (m, 7H), 0,71-0,62 (m, 2H), 0,60-0,52 (m, 2H).

LCMS: m/z : 514,4 $[M+H]^+$.

Exemplul 2- Sinteză 3-clor-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă

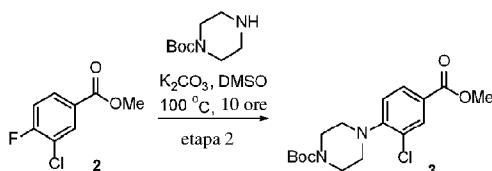
Etapa 1:



Un balon cu fund rotund a fost încărcat cu acid 3-clor-4-fluor-benzoic (2,0 g, 11,4 mmol), acid sulfuric (0,33 g, 3,4 mmol), MeOH (20 ml) și refluxat timp de 16 ore (TLC a indicat consumul complet a materialului de pornire). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă; reziduul a fost diluat cu apă (15 ml) și extras cu EtOAc (3 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (50 ml), uscat pe Na_2SO_4 și concentrate *sub vid* pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 40 g, 10% EtOAc-hexan) pentru a da 3-clor-4-fluor-benzoat de metil (1,5 g, 69%) sub forma unui ulei galben deschis.

1H RMN [300 MHz, $CDCl_3$]: δ 8,08 (dd, J = 6,9, 2,1 Hz, 1H), 7,94-7,89 (m, 1H), 7,18 (t, J = 8,7 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H).

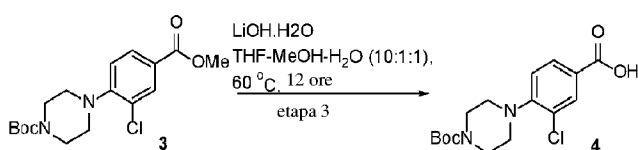
Etapa 2:



3-clor-4-fluor-benzoat de metil (1,5 g, 7,9 mmol) a fost luat într-un tub închis, ester *tert*-butilic al acidului piperazin-1-carboxilic (1,48 g, 7,9 mmol) urmat de K_2CO_3 (3,29 g, 23 mmoli) și DMSO (15 ml) au fost adăugați și agitați la 100 °C timp de 10 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece ca gheața (150 ml) și extras cu EtOAc (2 X 100 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (2 X 75 ml), uscat pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 30 g, 10% EtOAc-hexan) pentru a da 4-(2-clor-4-metoxycarbonil-fenil)piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (2,1 g, 74%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 355,4 $[M+H]^+$.

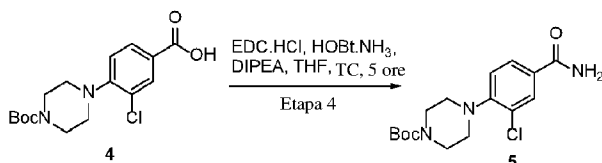
Etapa 3:



La o soluție agitată de 4-(2-clor-4-metoxycarbonil-fenil)piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (2 g, 5,6 mmol) în THF:MeOH:H₂O (10:1:1, 24 ml), s-a adăugat LiOH·H₂O (0,47 g, 11,2 mmoli), încălzit la 60 °C timp de 12 ore (TLC a indicat consumarea completă a materialului de pornire) și concentrat sub presiune redusă. Reziduul a fost dizolvat în apă (30 ml), răcit la 0 °C, acidificat cu HCl 1 N până la pH = 2-3. Solidul precipitat a fost filtrat și uscat *in vid* pentru a se obține acidul 4-(4-*tert*-butoxycarbonilpiperazin-1-il)-3-clorbenzoic (1,4 g, 73%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 341,4 $[M+H]^+$.

Etapa 4

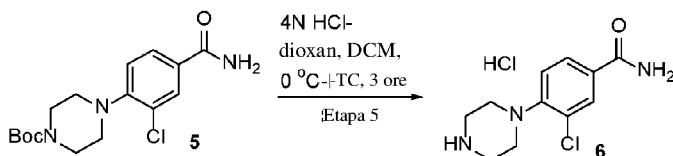


La o soluție agitată de acid 4-(4-*tert*-butoxycarbonilpiperazin-1-il)-3-clor-benzoic (0,5 g, 1,4 mmol) în THF (5 ml), EDC·HCl (0,42 g, 2,2 mmol), HOBT·NH₃ (0,33 g, 2,2 mmol) și DIPEA s-a adăugat sub atmosferă de argon și se agită la TC timp de 5 ore (0,75 ml, 4,4 mmoli) (TLC a indicat

consumul complet al materiei prime). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă și reziduul a fost diluat cu apă cu gheață (100 ml) și EtOAc (150 ml). Stratul organic a fost separat, spălat cu soluție salină (2 X 50 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrat sub presiune redusă. Reziduul brut a fost spălat cu Et₂O (3 X 5 ml), pentan (3 x 5 ml), uscat sub *vid* înalt pentru a obține 4-(4-carbamoil-2-clor-fenil)piperazină-1-carboxilat de *terț*-butil (0,4 g, 80%) sub forma unui solid alb.

LCMS: *m/z*: 340,4 [M+H]⁺.

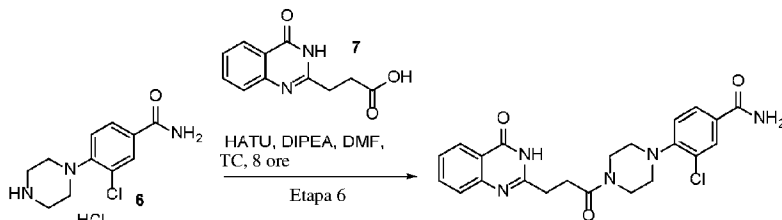
Etapă 5



La o soluție agitată de 4-(4-carbamoil-2-clor-fenil)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (0,4 g, 1,0 mmol) în DCM (4 ml), răcit la 0 °C, s-a adăugat 4 N HCl-dioxan (0,4 ml) și s-a agitat la TC timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet al materiei prime). Produsele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă și reziduul a fost spălat cu Et₂O (3 X 10 ml), pentan (2 X 5 ml) și uscat sub *vid* înalt pentru a obține 3-clor-4-piperazin-1-il-benzamidă (300 mg, cant.) sub forma unui solid alb.

LCMS: *m/z*: 240,4 [M+H]⁺.

Etapă 6



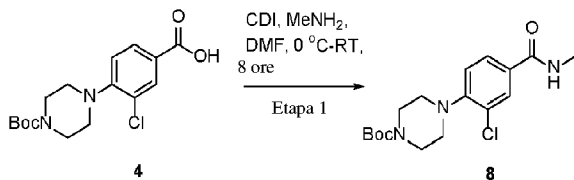
La o soluție agitată de 3-clor-4-piperazin-1-il-benzamidă (0,1 g, 0,45 mmol) în DMF (1 ml), acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (0,13 g, 0,50 mmol), HATU (0,26 g, 0,68 mmol) și DIPEA (0,23 ml, 1,37 mmol) au fost adăugate sub atmosferă de argon și agitate la TC timp de 8 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece ca gheața (10 ml), timp în care solid precipitat care a fost filtrat, spălat cu Et₂O (3 X 5 ml), pentan (3 X 5 ml), MeOH (2 X 5 ml), uscat sub *vid* ridicat pentru a furniza 3-clor-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă (0,04 g, 20%) sub forma unui solid aproape alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,22 (brs, 1H), 8,07 (dd, *J* = 8,1, 1,2 Hz, 1H), 7,98 (brs, 1H), 7,93 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,83-7,78 (m, 2H), 7,76 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 7,74-7,48 (m, 1H), 7,47 (brs, 1H), 7,44 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 3,69-3,61 (m, 4H), 3,07-2,97 (m, 4H), 2,89 (brs, 4H).

LCMS: *m/z*: 440,4 [M+H]⁺.

Exemplul 3 - Sinteză 3-clor-N-metil-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă

Etapă 1:

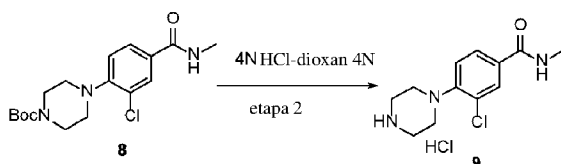


La o soluție agitată de acid 4-(4-*terț*-butoxicarbonilpiperazin-1-il)-3-clor-benzoic (0,5 g, 1,4 mmol) în DMF (5 ml), s-a adăugat CDI (0,35 g, 2,2 mmol), răcit la 0 °C, agitat la TC timp de 10 min și s-a adăugat soluție de metilamină (soluție 1 M în THF, 1,46 ml, 1,4 mmol). Amestecul de reacție a fost încălzit la TC, agitat timp de 8 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), turnat în apă rece ca gheața (50 ml) și extras în EtOAc (2 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (50 ml), soluție salină (2 X 50 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă. Reziduul brut a fost spălat cu Et₂O (3 X 10 ml) și pentan (3 X 10 ml), uscat sub *vid* înalt pentru a furniza 4-[2-clor-4-(metilcarbamoil)fenil]piperazina-1-carboxilat de *terț*-butil (0,4 g, 77%) sub forma unui solid maro deschis.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 8,44 (br, 1H), 7,88 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,78-7,75 (m, 1H), 7,19 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,47 (t, J = 4,2 Hz, 4H), 2,98 (d, J = 4,8 Hz, 4H), 2,75 (d, J = 4,5 Hz, 3H), 1,42 (s, 9H).

LCMS: m/z: 354,4 [M+H]⁺.

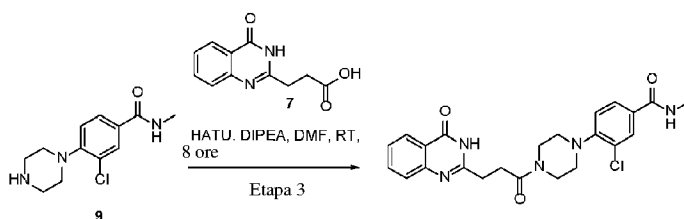
5 **Etapa 2:**



La o soluție agitată de 4-[2-clor-4-(metilcarbamoyl)fenil]piperazin-1-carboxilat de terț-butil (0,4 g, 1,0 mmol) în DCM (4 ml), răcit la 0 °C, s-a adăugat 4 N HCl-dioxan (1,1 ml), încălzit la TC și agitat timp de 5 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Produsele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă și reziduul a fost spălat cu Et₂O și (2 X 5 ml) și pentan (2 X 5 ml) și uscat sub *vid* pentru a da 3-clor-N-metil-4-piperazin-1-il-benzamidă (300 mg, 91%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z: 254,4 [M+H]⁺.

15 **Etapa 3:**



La o soluție agitată de 3-clor-N-metil-4-piperazin-1-il-benzamidă (0,1 g, 0,45 mmol) în DMF (1 ml), acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (0,14 g, 0,50 mmol), HATU (0,26 g, 0,68 mmol) și DIPEA (0,23 ml, 1,37 mmol) au fost adăugați sub atmosferă de Argon și agitați la TC timp de 8 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost turnat în apă cu gheață și extras cu EtOAc (2 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost separate, spălate cu apă (30 ml), soluție salină (50 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă. Reziduul brut a fost spălat cu Et₂O (3 X 5 ml), pentan (3 X 5 ml), 10% MeOH-DCM (3 X 5 ml) și uscat sub *vid* pentru a obține 3-clor-N-metil-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă (0,04 g, 19%) sub forma unui solid aproape alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,21 (brs, 1H), 8,45-8,44 (br, 1H), 8,07 (dd, J = 7,8, 1,2 Hz, 1H), 7,89 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,79-7,73 (m, 2H), 7,57 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,47-7,42 (m, 1H), 7,18 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,69-3,59 (m, 4H), 3,07-2,97 (m, 4H), 2,89 (br s, 4H), 2,76 (d, J = 4,5 Hz, 3H).

LCMS: m/z: 454,4 [M+H]⁺.

30 **Exemplul 4 - Sinteză 3-clor-N-ciclopropil-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă**

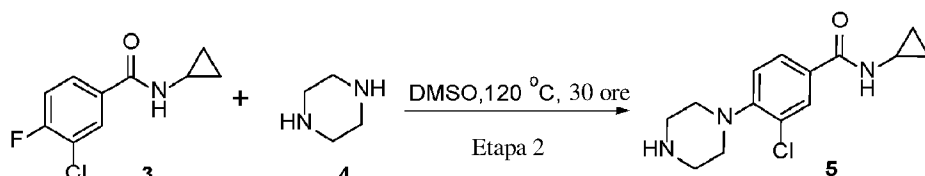
Etapa 1:



La o soluție agitată de acid 3-clor-4-fluor-benzoic (1 g, 5,73 mmol) și ciclopropanamină (0,47 ml, 6,76 mmol) în DMF uscat (10 ml), EDC·HCl (1,64 g, 8,56 mmol), HOBT (1,2 g, 8,89 mmol) și NMM (3,1 ml, 28,24 mmol) au fost adăugate la RT sub atmosferă de argon și agitate timp de 4 ore. După finalizarea reacției (monitorizată prin TLC), amestecul de reacție a fost diluat cu apă rece (25 ml) și agitat timp de 15 minute. Solidul format a fost filtrat, care a fost spălat cu apă (50 ml) și uscat sub *vid* pentru a da 3-clor-N-ciclopropil-4-fluor-benzamidă (0,85 g, randament 70%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z: 214,3 [M+H]⁺.

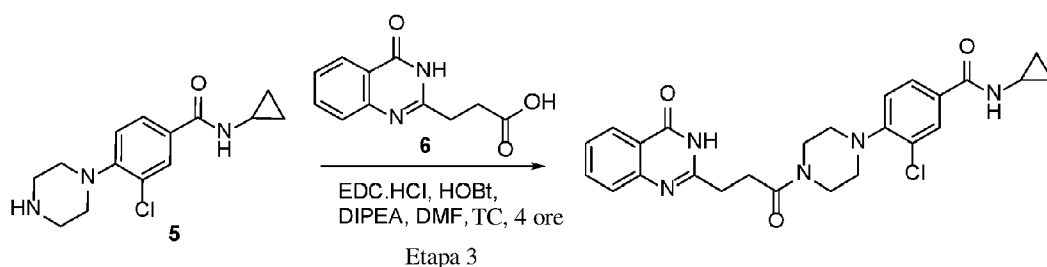
45 **Etapa 2:**



La o soluție agitată de 3-clor-N-ciclopropil-4-fluor-benzamidă (3,1 g, 14,55 mmol) în DMSO uscat (25 ml), s-a adăugat piperazină (6,26 g, 72,77 mmol) la RT sub atmosferă de argon și s-a agitat la 120 °C timp de 30 de ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). După răcire la TC, masa de reacție a fost diluată cu apă (20 ml) și extrasă cu IPA-DCM 10% (5 X 100 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu anhidru Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă. Reziduul a fost spălat cu Et₂O (2 X 20 ml) pentru a se obține 3-clor-N-ciclopropil-4-piperazin-1-il-benzamidă (3,9 g, randament 96%) sub forma unui solid alb.

LCMS: *m/z*: 280,4 [M+H]⁺.

Etapa 3:



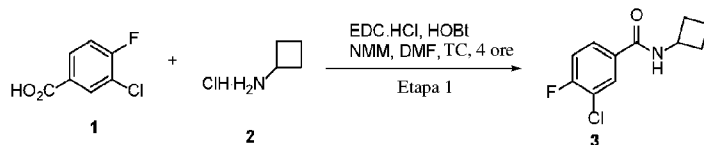
La o soluție agitată de 3-clor-N-ciclopropil-4-piperazin-1-il-benzamidă (100 mg, 0,36 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (94 mg, 0,43 mmol) în DMF uscat (2 ml), EDC·HCl (103 mg, 0,54 mmol), HOBt (73 mg, 0,54 mmol) și DIPEA (0,2 ml, 1,15 mmol) au fost adăugate la RT sub atmosferă de argon și agitate pentru 4 ore. După finalizarea reacției (monitorizată prin TLC), amestecul de reacție a fost stins cu apă rece (20 ml) și agitat timp de 15 minute. Solidul format a fost filtrat, spălat cu apă (50 ml) urmat de Et₂O (2 X 5 ml) pentru a da compusul 3-clor-N-ciclopropil-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă (80 mg, randament 47%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,31 (brs, 1H), 8,41 (brs, 1H), 8,08 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,79-7,40 (m, 2H), 7,57 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,45 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,17 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,69 (s, 2H), 3,62 (s, 2H), 3,07 (s, 2H), 2,97 (s, 2H), 2,88 (s, 4H), 2,85-2,81 (m, 1H), 0,71-0,65 (m, 2H), 0,56-0,55 (m, 2H).

LCMS: *m/z*: 480,5 [M+H]⁺.

Exemplul 5 - Sinteză 3-clor-N-ciclobutil-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă

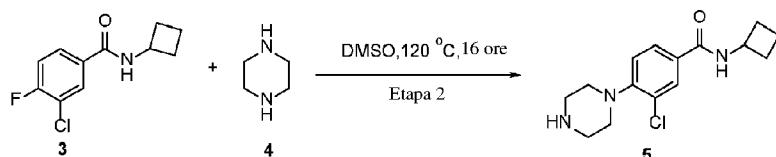
Etapa 1:



La soluția agitată de acid 3-clor-4-fluor-benzoic (500 mg, 2,865 mmol) în DMF (5 ml), clorhidrat de ciclobutanamină (369 mg, 3,438 mmol), EDC·HCl (820 mg, 4,297 mmol), HOBt (580 mg, 4,297 mmol) și NMM (1,6 ml, 14,325 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă rece (60 ml) și extras cu EtOAc (3 X 60 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (50 ml), uscat pe Na₂SO₄, concentrat sub presiune redusă pentru a se obține 3-clor-N-ciclobutil-4-fluor-benzamidă (550 mg, 84%), care a fost efectuat la etapa următoare fără nicio altă purificare.

LCMS: *m/z*: 228,22 [M+H]⁺.

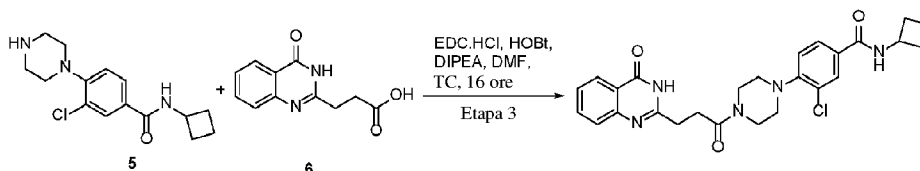
Etapa 2:



La soluția agitată de 3-clor-N-ciclobutil-4-fluor-benzamidă (550 mg, 2,422 mmol) în DMSO (5,5 ml), s-a adăugat piperazină (1,04 g, 12,114 mmol) la TC și s-a încălzit la 120 °C timp de 16 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece cu gheață (40 ml), a fost precipitat solidul care a fost filtrat sub atmosferă de argon pentru a da 3-clor-N-ciclobutil-4-piperazin-1-il-benzamidă brută (410 mg, 58 %). Materialul brut a fost transportat la etapa următoare fără nicio purificare.

LCMS: m/z : 294,39 $[M+H]^+$.

Etapa 3



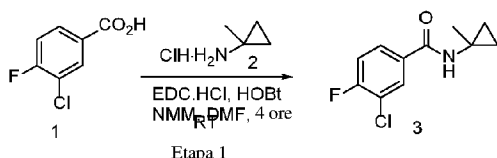
La soluția agitată de acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (100 mg, 0,458 mmol) în DMF (2 ml), 3-clor-N-ciclobutil-4-piperazin-1-il-benzamidă (134 mg, 0,458 mmol), EDC·HCl (131 mg, 0,687 mmol), HOBT (92 mg, 0,687 mmol) și DIPEA (0,16 ml, 0,916 mmol) s-au adăugat la TC și s-au agitat timp de 16 ore (TLC indicat consumul complet al materiei prime). Amestecul de reacție a fost turnat în apă cu gheață (20 ml), timp în care solidul a fost precipitat care a fost filtrat, spălat cu Et₂O (20 ml) și uscat sub vid pentru a obține 3-clor-N-ciclobutil-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic]piperazin-1-il]benzamidă (90 mg, 40%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,2 (s, 1H), 8,60 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 8,07 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,80-7,73 (m, 2H), 7,56 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,45 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,17 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,42-4,37 (m, 1H), 3,65 (d, J = 22,5 Hz, 4H), 3,07 (brs, 2H), 2,97 (brs, 2H), 2,89 (s, 4H), 2,18 (brs, 2H), 2,07-1,98 (m, 2H), 1,67-1,65 (m, 2H).

LCMS: m/z : 494,70 $[M+H]^+$.

Exemplul 6 - Sinteză 3-clor-N-(1-metilciclopropil)-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic]piperazin-1-il]benzamidă

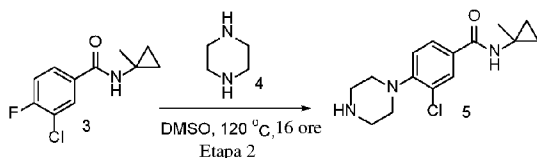
Etapa 1:



La o soluție agitată de acid 3-clor-4-fluor-benzoic (50 mg, 0,29 mmol) în DMF (2 ml), clorhidrat de 1-metilciclopropanamină (36 mg, 0,34 mmol), EDC·HCl (82 mg, 0,429 mmol), HOBT (58 mg, 0,429 mmol) și NMM (0,16 ml, 1,43 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (25 ml), timp în care a precipitat solidul care a fost filtrat. Solidul a fost spălat cu apă (20 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a da 3-clor-4-fluor-N-(1-metilciclopropil)benzamidă (50 mg, 78%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS: m/z : 228,19 $[M+H]^+$.

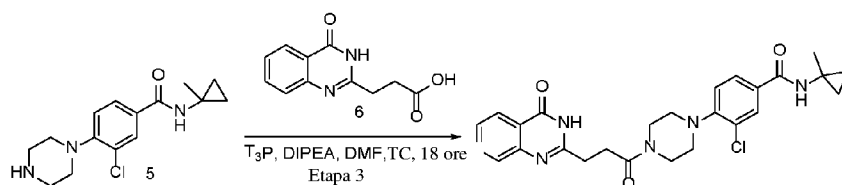
Etapa 2:



O soluție agitată de 3-clor-4-fluor-N-(1-metilciclopropil)benzamidă (500 mg, 2,21 mmol) și piperazină (951 mg, 11,06 mmol) în DMSO (5 ml) a fost încălzită la 120 °C timp de 16 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (200 ml), spălat cu apă (1 × 100 ml) și soluție salină (1 X 100 ml). Stratul organic a fost separat, uscat pe Na₂SO₄, substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a se obține produsul brut 3-clor-N-(1-metilciclopropil)-4-piperazin-1-il-benzamidă (800 mg) care a fost dus la etapa următoare fără purificare.

LCMS: m/z : 294,35 $[M+H]^+$.

Etapa 3:



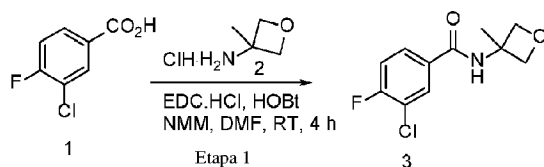
La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (300 mg, 1,37 mmol) in DMF (5 ml), 3-clor-N-(1-metilciclopropil)-4-piperazin-1-il-benzamidă (604 mg, 2,06 mmol), T₃P (0,87 ml, 2,75 mmol, 50% in DMF) și DIPEA (0,75 ml, 4,12 mmol) au fost adăugate la temperatura camerei și agitate la TC timp de 18 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (200 ml), spălat cu apă (1 × 100 ml) și soluție salină (1 X 100 ml). Stratul organic a fost separat, uscat pe Na₂SO₄, substanțele volatile au fost evaporate sub presiune redusă pentru a se obține compusul brut care a fost purificat prin HPLC preparativă pentru a se obține 3-clor-N-(1-metilciclopropil)-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă (140 mg, 20%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,20 (brs, 1H), 8,64 (brs, 1H), 8,07 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,76-7,75 (m, 2H), 7,57 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,45 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,69 (brs, 2H), 3,61 (brs, 2H), 3,06 (brs, 2H), 2,96 (brs, 2H), 2,89 (s, 4H), 1,34 (s, 3H), 0,71 (brs, 2H), 0,60 (brs, 2H).

LCMS: m/z: 494,50 [M+H]⁺.

Exemplul 7 - Sinteză 3-clor-N-(3-metiloxetan-3-il)-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă

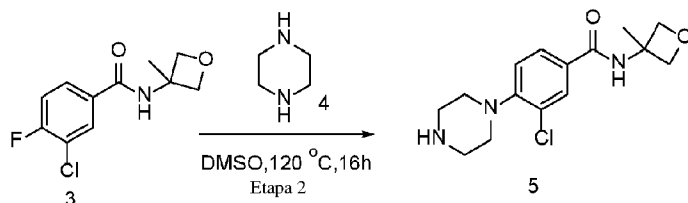
Etapa 1:



La o soluție agitată de acid 3-clor-4-fluor-benzoic (500 mg, 2,86 mmol) in DMF (5 ml), clorhidrat de 3-metiloxetan-3-amină (420 mg, 3,43 mmol), EDC·HCl (820 mg, 4,29 mmol), HOBT (580 mg, 4,29 mmol) și NMM (1,6 ml, 14,32 mmol) au fost adăugate la TC și agitate timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet al materiei prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (200 ml), spălat cu apă (1 × 100 ml), soluție salină (1 X 100 ml). Stratul organic a fost separat, uscat pe Na₂SO₄, substanțele volatile au fost evaporate sub presiune redusă și reziduul a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 7 g, 70% EtOAc-hexan) pentru a se obține 3-clor-4-fluor-N-(3-metiloxetan-3-il)benzamidă (610 mg, 87%) sub forma unui solid crem.

LCMS: m/z: 244,14 [M+H]⁺.

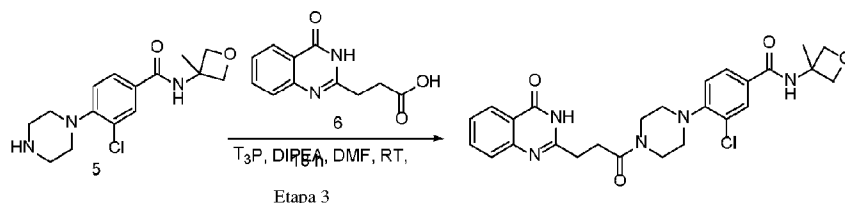
Etapa 2:



La o soluție agitată de 3-clor-4-fluor-N-(3-metiloxetan-3-il)benzamidă (600 mg, 2,46 mmol) in DMSO (6 ml), s-a adăugat piperazină (1 g, 12,34 mmol) la RT și încălzită la 120 °C timp de 16 ore (TLC a indicat consumul complet al materiei prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (200 ml), spălat cu apă (1 × 100 ml), soluție salină (1 X 100 ml). Stratul organic a fost separat, uscat pe Na₂SO₄, substanțele volatile au fost evaporate sub presiune redusă pentru a obține produsul brut 3-clor-N-(3-methyloxetan-3-il)-4-piperazin-1-il-benzamidă (900 mg) care a fost dus la etapa următoare fără purificare.

LCMS: m/z: 310,34 [M+H]⁺.

Etapa 3:



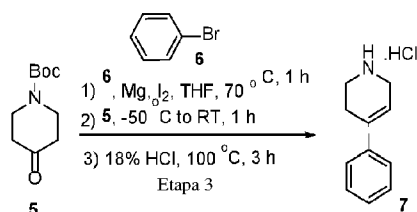
La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (200 mg, 0,917 mmol) in DMF (5 ml), 3-clor-N-(3-metiloxetan-3-il)-4-piperazin-1-il-benzamidă (425 mg, 1,37 mmol), T₃P (0,58 ml, 1,83 mmol, soluție 50% în DMF) și DIPEA (0,5 ml, 2,75 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 18 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (100 ml), spălat cu apă (1 X 100 ml), soluție salină (1 X 100 ml). Stratul organic a fost separat, uscat pe Na₂SO₄, substanțele volatile au fost evaporate sub presiune redusă pentru a produce compusul brut care a fost purificat prin HPLC preparativă pentru a se obține 3-clor-N-(3-metiloxetan-3-il)-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă (100 mg, 21%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,30 (brs, 1H), 8,86 (brs, 1H), 8,08 (dd, *J* = 8,1, 1,2 Hz, 1H), 7,92 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,81-7,73 (m, 2H), 7,57 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,47-7,42 (m, 1H), 7,19 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,69 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H), 4,36 (d, *J* = 6,3 Hz, 2H), 3,70 (brs, 2H), 3,62 (brs, 2H), 3,08 (brs, 2H), 2,98 (brs, 2H), 2,90 (s, 4H), 1,58 (s, 3H).

LCMS: *m/z*: 510,69 [M+H]⁺.

Exemplul 8 - Sinteză 2-[3-oxo-3-(4-fenil-1-piperidil)propil]-3H-chinazolin-4-onă

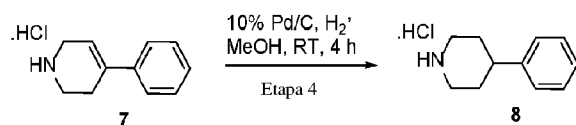
Etapa 1:



Balonul de 100 ml cu fund rotund, cu două gâturi, uscat la cuptor, a fost încărcat cu strunjituri de magneziu (600 mg, 25 mmol) și THF uscat (5 ml) la RT sub atmosferă de argon. La acest amestec, s-a adăugat iod (20 mg), s-a încălzit la 70 °C cu agitare puternică și s-a adăugat o soluție de bromobenzen (1,57 g, 10 mmol) în THF uscat (5 ml) menținând temperatura la 70 °C și a continuat timp de 1 oră sub atmosferă de argon. Amestecul de reacție a fost adus la RT și adăugat prin picurare la o soluție pre-răcită (-50 °C) de 4-oxopiperidin-1-carboxilat de *tert*-butil (1 g, 5,0 mmol) in THF uscat (5 ml) sub atmosferă de argon. Amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la TC, agitat timp de 1 oră (TLC a indicat consumarea completă a materialului de pornire), stins cu soluție apoasă saturată de NH₄Cl (10 ml) și s-a extras cu EtOAc (2 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (10 ml), soluție salină (25 ml) și se usucă pe sulfat de sodiu anhidru Na₂SO₄. Substanțele volatile au fost concentrate sub presiune redusă; produsul brut a fost luat în 18% apos. Soluție de HCl (15 ml) și încălzită la 100 °C timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet al materiei prime). Solventul a fost îndepărtat sub presiune redusă și reziduul a fost spălat cu Et₂O (20 ml) și EtOAc (20 ml) pentru a furniza clorhidrat de 4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridină (700 mg, 71%) sub forma unui solid aproape alb (higroscopic).

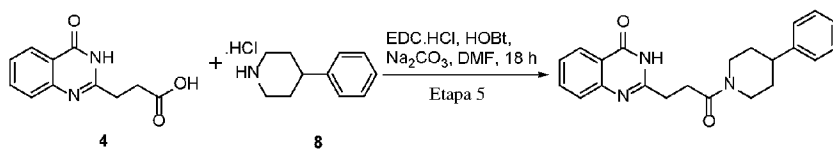
LCMS: *m/z*: 160,3 [M+H]⁺.

Etapa 2:



La o soluție agitată de clorhidrat de 4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridină (300 mg, 1,53 mmol) in MeOH (10 ml), s-a adăugat 10% Pd-C (100 mg) la RT sub atmosferă de argon. Amestecul de reacție a fost purjat cu H₂ (de 3 ori) și se agită sub atmosferă de H₂ (balon) timp de 4 ore. După finalizarea reacției (monitorizat prin LCMS), amestecul de reacție a fost filtrat printr-un strat scurt de Celită și spălat cu MeOH (5 ml). Filtratul a fost concentrat sub presiune redusă și reziduul a fost spălat cu eter uscat (2 X 5 ml) pentru a da clorhidrat de 4-fenilpiperidină (300 mg, 99%) sub forma unui solid aproape alb (higroscopic).

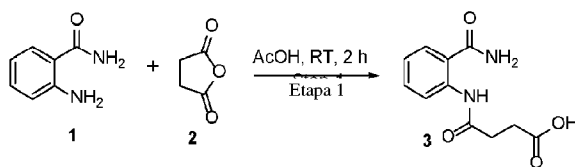
LCMS: *m/z*: 162,3 [M+H]⁺.

Etapă 3:

La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (200 mg, 0,917 mmol) și clorhidrat de 4-fenilpiperidină (217 mg, 1,1 mmol) în DMF uscat (1,5 ml), EDC·HCl (264 mg, 1,375 mmol), HOBT (187 mg, 1,38 mmol) și Na₂CO₃ (292 mg, 2,75 mmol) au fost adăugate la TC, sub atmosferă de argon. Amestecul de reacție a fost agitat la TC timp de 18 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), stins cu apă rece cu gheață (15 ml) și agitat timp de 30 de minute. Precipitatul a fost filtrat și solidul a fost spălat cu apă (10 ml) și uscat sub vid. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 25 g, 5% MeOH-DCM) pentru a furniza 2-[3-oxo-3-(4-fenil-1-piperidil)propil]-3H-chinazolin-4-onă (30 mg, 25%) sub forma unui solid aproape alb.

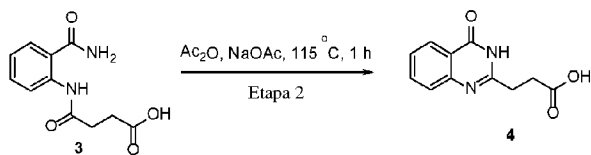
¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,21 (s, 1H), 8,08 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 7,79-7,73 (m, 1H), 7,57-7,52 (m, 1H), 7,48-7,43 (m, 1H), 7,38-7,22 (m, 5H), 4,51 (d, J = 12,6 Hz, 1H), 4,07 (d, J = 13,8 Hz, 1H), 3,14 (t, J = 12,6 Hz, 4H), 2,94-2,81 (m, 3H), 2,64-2,57 (m, 1H), 1,84-1,73 (m, 1H), 1,66-1,62 (m, 1H), 1,42-1,33 (m, 1H).

LCMS: m/z: 362,5 [M+H]⁺.

Exemplul 9 - Sinteză 2-[3-oxo-3-(4-fenilpiperazin-1-il)propil]-3H-chinazolin-4-onă**Etapă 1:**

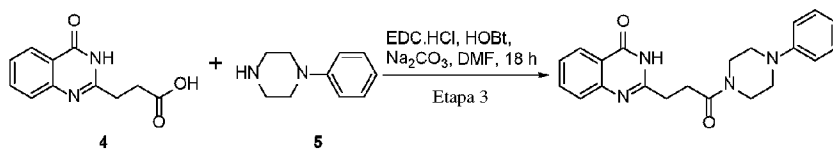
La o soluție agitată de 2-aminobenzamidă (5 g, 36,76 mmol) în AcOH (10 ml) s-a adăugat o soluție de anhidridă succinică (3,67 g, 36,76 mmol) în AcOH (10 ml) la TC. Amestecul de reacție a fost agitat la TC timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet al materiei prime), a fost diluat cu apă rece (100 ml) și agitat timp de 15 minute. Precipitatul a fost filtrat, spălat cu apă rece (30 ml) și uscat sub vid pentru a da acid 4-(2-carbamoylanilino)-4-oxo-butanoic (8 g, 92%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z: 237,4 [M+H]⁺.

Etapă 2:

O suspensie agitată de acid 4-(2-carbamoylanilino)-4-oxo-butanoic (8 g, 33,86 mmol) și NaOAc (2,78 g, 33,86 mmol) în Ac₂O (10 ml) a fost încălzit la 120 °C timp de 1 oră (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus la TC, stins cu apă (100 ml) și s-a adăugat încet soluție de NaOH 1 N până la pH = 10. Amestecul rezultat a fost spălat cu EtOAc (30 ml), stratul apos a fost separat și acidificat cu AcOH până la pH = 5, agitat timp de 1 oră și filtrat. Solidul a fost spălat cu hexani (3 X 20 ml) și uscat sub vid pentru a da acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (5,0 g, 68%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare.

LCMS: m/z: 219,3 [M+H]⁺.

Etapă 3:

La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (100 mg, 0,458 mmol) și 1-fenilpiperazină (90 mg, 0,55 mmol) în DMF uscat (1,5 ml), EDC·HCl (132 mg, 0,687 mmol), HOBT (93 mg, 0,688 mmol) și Na₂CO₃ (146 mg, 1,37 mmol) au fost adăugate la TC, sub atmosferă de argon.

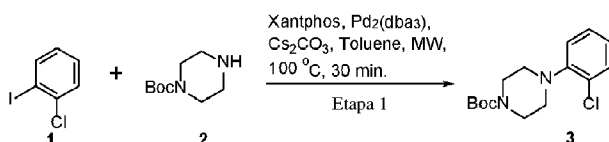
Amestecul de reacție a fost agitat la TC timp de 18 ore sub argon (TLC a indicat consumul complet de materie primă), stins cu apă rece ca gheața (15 ml) și agitat timp de 30 de minute. Precipitatul a fost filtrat, spălat cu apă (10 ml) și uscat sub vid. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 50 g, 5% MeOH-DCM) pentru a furniza 2-[3-oxo-3-(4-fenilpiperazin-1-il)propil]-3H-chinazolin-4-onă (33 mg, 20%) sub forma unui solid aproape alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,21 (s, 1H), 8,07 (dd, J = 1,2, 8,1 Hz, 1H), 7,77-7,71 (m, 1H), 7,54 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,47-7,42 (m, 1H), 7,23 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 6,92 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 6,81 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 3,67-3,57 (m, 4H), 3,20-3,06 (m, 4H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: m/z: 363,5 [M+H]⁺.

Exemplul 10 - Sinteză 2-[3-[4-(2-clorfenil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă

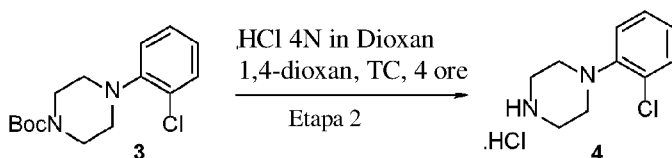
Etapa 1:



La o soluție agitată de 1-clor-2-iod-benzen (140 mg, 0,590 mmol) și piperazin-1-carboxilat de terț-butil (100 mg, 0,537 mmol) în toluen uscat (2 ml), xantfos (34 mg, 0,0590 mmol), Pd₂(dba)₃ (24 mg, 0,0262 mmol) și Cs₂CO₃ (261 mg, 0,80 mmol) au fost adăugate la RT sub atmosferă de argon. Amestecul rezultat a fost iradiat la 100 °C timp de 30 de minute în microunde CEM (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Solventul a fost evaporat sub presiune redusă și reziduu a fost diluat cu apă (20 ml), extras cu EtOAc (3 X 20 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (20 ml), uscat pe Na₂SO₄ anhidru și concentrate *sub vid*. Reziduu a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 10 g, EtOAc-hexan 5%) pentru a da 4-(2-clorfenil)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (100 mg, 63%)-alb solid.

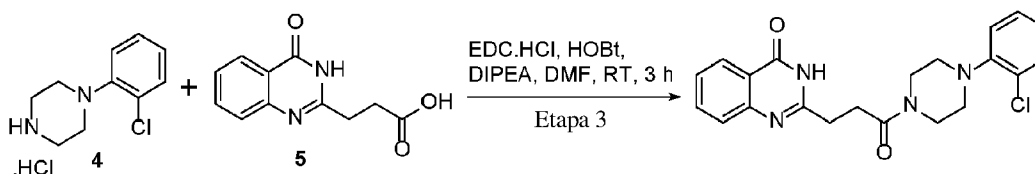
¹H RMN [300 MHz, CDCl₃]: δ 7,37 (dd, J = 7,8, 1,2 Hz, 1H), 7,22 (td, J = 7,8, 1,2 Hz, 1H), 7,02-6,96 (m, 2H), 3,60 (t, J = 5,1 Hz, 4H), 2,99 (t, J = 5,1 Hz, 4H), 1,48 (s, 9H).

Etapa 2:



La o soluție agitată de 4-(2-clorfenil)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (250 mg, 0,844 mmol) în 1,4-dioxan (2 ml), HCl 4 N în 1,4-dioxan (0,9 ml, 3,60 mmol) a fost adăugat prin picurare la 0 °C. Amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la TC și a fost agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a da compusul brut, care a fost spălat cu dietil eter (2 X 20 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a da clorhidrat de 1-(2-clorfenil)piperazină (165 mg, 84%) sub forma unui solid alb.

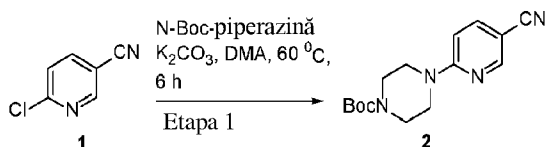
Etapa 3:



La o soluție agitată de clorhidrat de 1-(2-clorfenil)piperazină (119 mg, 0,510 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (111 mg, 0,509 mmol) în DMF uscat (2 ml) EDC·HCl (98 mg, 0,511 mmol), HOBt (69 mg, 0,510 mmol) și DIPEA (0,18 ml, 1,03 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă rece (20 ml) și agitat timp de 15 minute. Precipitatul rezultat a fost îndepărtat prin filtrare și solidul a fost spălat cu Et₂O (2 X 5 ml) pentru a obține 2-[3-[4-(2-clorfenil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (90 mg, 44%) sub forma unui solid alb.

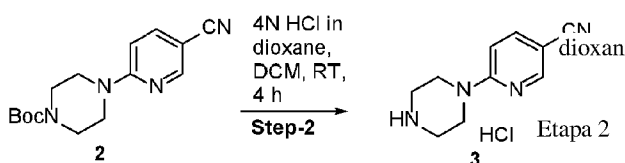
¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,20 (s, 1H), 8,08 (dd, J = 7,8, 1,2 Hz, 1H), 7,76-7,73 (m, 1H), 7,57 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,48-7,41 (m, 2H), 7,31-7,28 (m, 1H), 7,15-7,04 (m, 2H), 3,68 (s, 2H), 3,61 (s, 2H), 3,00 (s, 4H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: m/z: 397,30 [M+H]⁺.

Exemplul 11 - Sinteză 6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril**Etapa 1:**

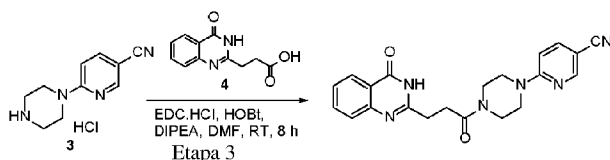
La o soluție agitată de 6-clorpiridin-3-carbonitril (2 g, 14,43 mmol) în DMA (20 ml), K_2CO_3 (3,4 g, 24,63 mmol), N-Boc-piperazină (2,7 g, 14,50 mmol) au fost adăugate la TC sub atmosferă de argon și agitate timp de 3 ore. Amestecul de reacție a fost încălzit la $60\text{ }^\circ\text{C}$ timp de 3 ore (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime) și a fost turnat în apă cu gheață (100 ml), în timpul căreia solid precipitat care a fost filtrat, spălat cu Et_2O (3 X 10 ml), pentan (3 X 10 ml) și uscat pentru a da 4-(5-ciano-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (3 g, 73%) care a fost utilizat fără purificare.

LCMS: m/z : 289,3 $[M+H]^+$.

Etapa 2:

La o soluție agitată de 4-(5-ciano-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (0,5 g, 1,736 mmol) în DCM, s-a adăugat prin picurare HCl 4 N în dioxan (0,5 ml) și s-a agitat la RT timp de 4 ore sub atmosferă de argon (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă pentru a da reziduu care a fost spălat cu Et_2O (2 X 5 ml), DCM (2 X 5 ml), pentan (2 X 5 ml) și uscat sub vid pentru a obține clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (0,3 g, randament 93%) care a fost transportat pentru etapa următoare fără purificare.

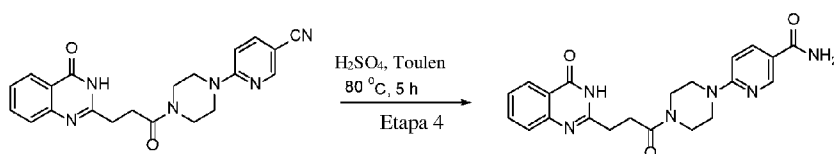
1H RMN [300 MHz, $DMSO-d_6$]: δ 9,58 (brs, 2H), 8,54 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 7,91-7,33 (dd, $J = 3,2$, 12,4 Hz, 1H), 7,02 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,91 (t, $J = 6,8$ Hz, 4H), 3,14 (brs, 4H).

Etapa 3:

La o soluție agitată de clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (0,2 g, 0,974 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (0,2 g, 0,913 mmol) în DMF (2 ml), EDCI·HCl (0,35 g, 1,83 mmol), HOBT (0,24 g, 1,83 mmol) și DIPEA (0,8 ml, 4,59 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 8 ore (TLC a indicat consumul complet de pornire material). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece cu gheață (30 ml) și agitat timp de 15 minute, timp în care a precipitat solidul care a fost filtrat și purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 10 g, MeOH 5% în DCM) pentru a se obține 6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (0,025 g, 20%) sub formă unui solid alb.

1H RMN [300 MHz, $DMSO-d_6$]: δ 12,02 (s, 1H), 8,51 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 8,08-8,05 (dd, $J = 1,6$, 10,4 Hz, 1H), 7,90-7,86 (dd, $J = 3,2$, 12,0 Hz, 1H), 7,77-7,71 (m, 1H), 7,54 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 7,47-7,41 (m, 1H), 6,94 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,77-3,75 (m, 2H), 3,64 (d, $J = 4,8$ Hz, 4H), 3,57-3,56 (m, 2H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: m/z : 389,61 $[M+H]^+$.

Exemplul 12 - Sinteză 6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carboxamidă

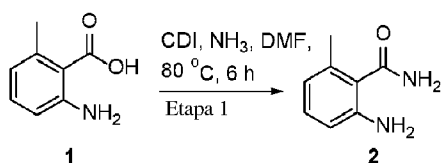
La o soluție agitată de 6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (100 mg, 0,257 mmol) în toluen (1 ml), H₂SO₄ (127 mg, 1,285 mmol) a fost adăugat la TC, sub atmosferă de argon și încălzit la 80 °C, timp de 5 ore (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă și co-distilat cu toluen (3 X 5 ml), alcalinizat cu soluție de NaOH 1 N până la pH = 9, extras cu 10% MeOH-DCM (3 X 10 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrat sub presiune redusă pentru a da reziduul care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 15 g, 10% MeOH în DCM) pentru a da 6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carboxamidă (0,025 g, 20%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,02 (s, 1H), 8,63 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 8,08-8,05 (dd, *J* = 1,6,10,4 Hz, 1H), 8,00-7,96 (dd, *J* = 3,2,12,0 Hz, 1H), 7,79-7,71 (m, 2H), 7,54 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 10,4 Hz, 1H), 7,17 (s, 1H), 6,86 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 3,69-3,64 (m, 4H), 3,56 (s, 4H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 407,5 [M+H]⁺.

Exemplul 13 - Sinteză 6-[4-[3-(5-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

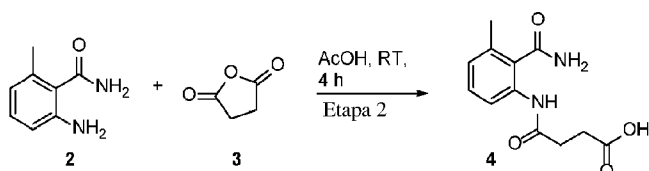
Etapa 1:



La o soluție agitată de acid 2-amino-6-metil-benzoic (0,5 g, 3,31 mmol) în DMF (5 ml) la TC, s-a adăugat CDI (0,53 g, 3,31 mmol). Amestecul de reacție a fost încălzit la 80 °C timp de 2 ore și amoniac apos (25%, 10 ml) a fost adăugat cu atenție la amestecul de reacție de mai sus menținând temperatura la 80 °C și a continuat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus încet la TC, diluat cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 X 100 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (2 X 50 ml), soluție salină (40 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost spălat cu Et₂O (10 ml) și se usucă sub vid ridicat pentru a da 2-amino-6-metil-benzamidă (200 mg, 40%) sub forma unui solid alb.

LCMS (ESI+): *m/z*: 151,09 [M+H]⁺.

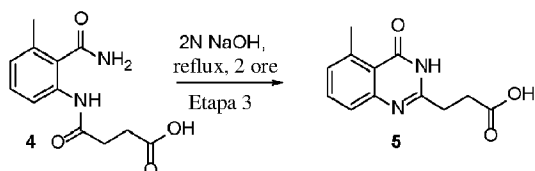
Etapa 2:



La o soluție agitată de 2-amino-6-metil-benzamidă (0,2 g, 1,33 mmol) în AcOH (3 ml), s-a adăugat anhidridă succinică la TC și s-a agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece cu gheață (5 ml) și agitat timp de 30 min., timp în care a precipitat solidul. Solidul a fost filtrat, spălat cu apă (20 ml), acetonă rece (5 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a da acid 4-(2-carbamoil-3-metil-anilino)-4-oxo-butanoic (250 mg, 75%) sub forma unui solid alb.

LCMS (ESI+): *m/z*: 251,50 [M+H]⁺.

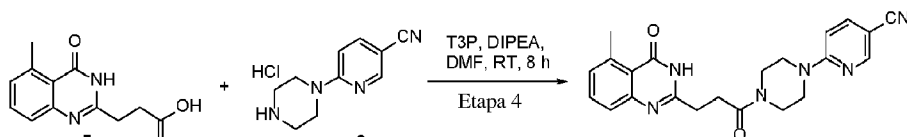
Etapa 3:



Acid 4-(2-carbamoil-3-metil-anilino)-4-oxo-butanoic (0,25 g, 1,0 mmol) a fost luat în soluție apoasă 2 N. NaOH (5 ml) și agitat la 100 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost răcit lent la 0 °C și acidificat la pH = 3-4 cu HCl 2 N apos în timpul ce a precipitat solidul alb. Suspensia a fost agitată la 0 °C timp de 30 min., filtrată, spălată cu apă (20 ml), acetonă rece (2 ml) și uscată sub vid ridicat pentru a furniza acid 3-(5-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (150 mg, 64%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS (ESI+): m/z : 233,49 $[M+H]^+$.

Etapa 4



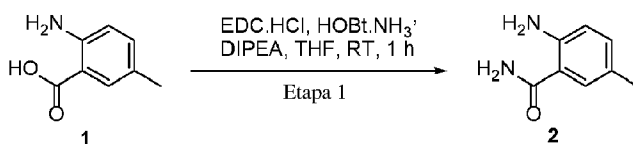
La o soluție agitată de acid 3-(5-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (150 mg, 0,65 mmol) și clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (145 mg, 0,77 mmol) în DMF (2 ml), DIPEA (0,3 ml, 1,94 mmol) și T₃P (soluție 50% în EtOAc, 0,4 ml, 1,29 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 8 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (10 ml) și extras cu EtOAc (3 X 40 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (3 X 30 ml), soluție salină (20 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 10 g, 5% MeOH-DCM) pentru a da 6-[4-[3-(5-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (60 mg, 27%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 11,98 (brs, 1H), 8,51 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,88 (dd, J = 9,0, 2,1 Hz, 1H), 7,55 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,34 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,16 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 3,77-3,76 (m, 2H), 3,64-3,62 (m, 4H), 3,57-3,55 (m, 2H), 2,88-2,83 (m, 4H), 2,75 (s, 3H).

LCMS (ESI+): m/z : 403,66 $[M+H]^+$.

Exemplul 14 - Sinteză 6-[4-[3-(6-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

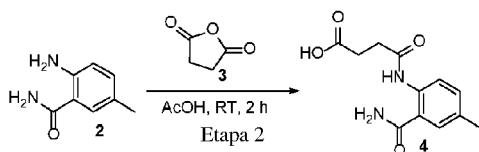
Etapa 1:



La o soluție agitată de acid 2-amino-5-metil-benzoic (100 mg, 0,66 mmol) în THF (2 ml), EDC·HCl (189 mg, 0,99 mmol), HOBT·NH₃ (149 mg, 0,99 mmol) și DIPEA (0,35 ml, 1,99 mmol) au fost adăugați la TC și agitați timp de 1 oră (TLC a indicat conversia completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (1 X 50 ml), spălat cu apă (1 X 20 ml) și soluție salină (1 X 20 ml). Stratul organic a fost separat, uscat pe Na₂SO₄, substanțele volatile au fost evaporate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin Combiflash R 200 Teledyne ISCO (100% EtOAc, cartuș de 12 gm) pentru a se obține 2-amino-5-metil-benzamidă (70 mg, 70%) sub forma unui solid alb.

LCMS (ESI+): m/z : 151,13 $[M+H]^+$.

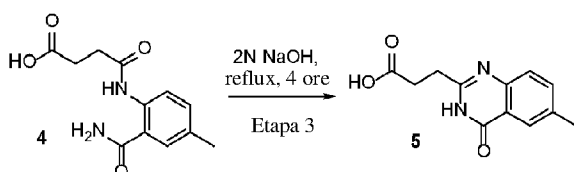
Etapa 2:



La o soluție agitată de 2-amino-5-metil-benzamidă (600 mg, 4,0 mmol) în AcOH (6 ml), s-a adăugat anhidridă succinică (480 mg, 4,80 mmol) la TC și s-a agitat timp de 2 ore (TLC indicat conversia completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă rece cu gheață (1 X 50 ml), agitat timp de 30 de minute, timp în care a precipitat solidul care a fost filtrat, spălat cu apă (1 X 50 ml), urmat de acetonă rece (1 X 20 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a da acid 4-(2-carbamoyl-4-metil-anilino)-4-oxo-butanoic (800 mg, 80%) sub forma unui solid alb.

LCMS (ESI+): m/z : 273,56 $[M+H]^+$.

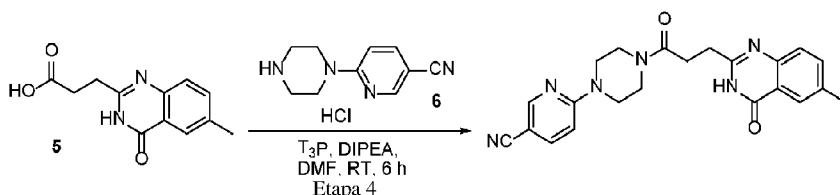
Etapa 3:



O soluție agitată de acid 4-(2-carbamoil-4-metil-anilino)-4-oxo-butanoic (480 mg, 2,07 mmol) în NaOH 2N apos (15 ml) a fost încălzită la 100 °C timp de 4 ore (TLC a indicat conversia completă a compusului 4). Amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C, acidificat cu AcOH până la pH = 5, timp în care a precipitat solidul. Solidul a fost filtrat, spălat cu apă (1 X 80 ml), urmat de acetonă rece (1 X 20 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a da acid 3-(6-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (380 mg, 85%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS (ESI+): m/z : 233,45 $[M+H]^+$.

Etapa 4



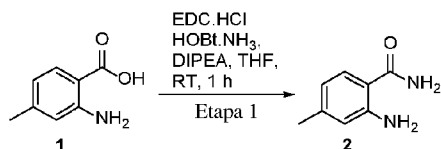
La o soluție agitată de acid 3-(6-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (250 mg, 1,077 mmol) în DMF (5 ml) la TC, clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (289 mg, 1,293 mmol), T₃P (50% în DMF, 0,68 ml, 2,15 mmol) și DIPEA (0,57 ml, 3,23 mmol) au fost adăugate și agitate timp de 6 ore (TLC a indicat consumul complet material). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (1 X 80 ml), agitat timp de 5 minute când a precipitat solidul care a fost filtrat. Solidul a fost spălat cu apă (1 X 70 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a furniza 6-[4-[3-(6-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic]]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (170 mg, 39%) sub forma unui solid aproape alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,10 (brs, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,90-7,87 (m, 2H), 7,56 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,44 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 3,79-3,72 (m, 2H), 3,68-3,62 (m, 4H), 3,59-3,54 (m, 2H), 2,87 (s, 4H), 2,41 (s, 3H).

LCMS (ESI+): m/z : 403,66 $[M+H]^+$.

Exemplul 15 - Sinteză 6-[4-[3-(7-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic]]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

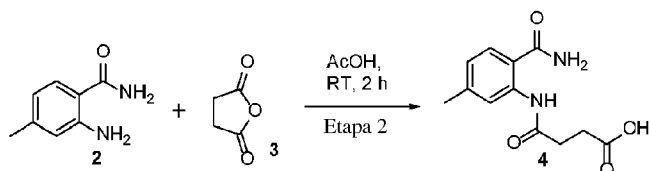
Etapa 1:



La o soluție agitată de acid 2-amino-4-metil-benzoic (300 mg, 1,99 mmol) în THF (6 ml), EDC.HCl (569 mg, 2,98 mmol), HOBT.NH₃ (447 mg, 2,98 mmol) și DIPEA (1,06 ml, 5,96 mmol) au fost adăugate la TC și agitate timp de 1 oră (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (30 ml), extras cu EtOAc (3 X 25 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost purificat prin cromatografie rapidă pe coloană (100-200 silicagel, 5 g, 50% EtOAc-hexan) pentru a se obține 2-amino-4-metil-benzamidă (190 mg, 64%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 7,62 (brs, 1H), 7,42 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,93 (brs, 1H), 6,54-6,46 (m, 3H), 6,30-6,27 (m, 1H), 2,15 (s, 3H).

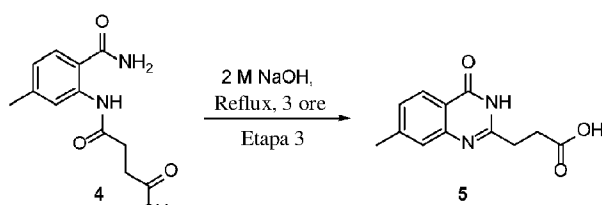
Etapa 2:



La o soluție agitată de 2-amino-4-metil-benzamidă (190 mg, 1,27 mmol) în AcOH (5 ml), s-a adăugat anhidridă succinică (151 mg, 1,52 mmol) la TC și s-a agitat timp de 2 ore (TLC indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (20 ml), solidul a fost precipitat, filtrat și uscat sub vid pentru a obține acid 4-(2-carbamoil-5-metil-anilino)-4-oxo-butanoic necesar (250 mg, 89%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare ulterioară.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,37 (brs, 1H), 11,88 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 7,70 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,64 (s, 1H), 6,91 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 2,53-2,50 (m, 4H), 2,31 (s, 3H).

LCMS: m/z : 273,50 $[M+Na]^+$.

Etapa 3:

Acid 4-(2-carbamoyl-5-metil-anilino)-4-oxo-butanoic (250 mg, 1 mmol) a fost luat în NaOH 2 N (10 ml) și refluxat timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), răcit la 0 °C și acidificat cu AcOH până la pH = 4, timp în care a precipitat solidul. Solidul a fost filtrat și uscat sub vid pentru a da acid 3-(7-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (220 mg, 95%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare suplimentară.

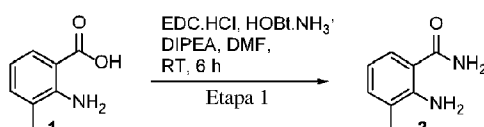
LCMS: m/z : 233,45 $[M+H]^+$.

Etapa 4:

La o soluție agitată de acid 3-(7-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (150 mg, 0,65 mmol) și clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (173 mg, 0,78 mmol) în DMF (4 ml), EDC·HCl (185 mg, 0,97 mmol), HOBT (130 mg, 0,97 mmol) și DIPEA (0,46 ml, 2,58 mmol) au fost adăugați la RT și agitați timp de 4 ore (TLC indicat consum complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece (25 ml), agitat timp de 10 minute, timp în care a fost precipitat solidul. Solidul a fost filtrat, uscat sub vid, se spală cu Et₂O (20 ml) și hexan (20 ml) pentru a se obține 6-[4-[3-(7-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (75 mg, 29%) sub forma unui solid aproape alb.

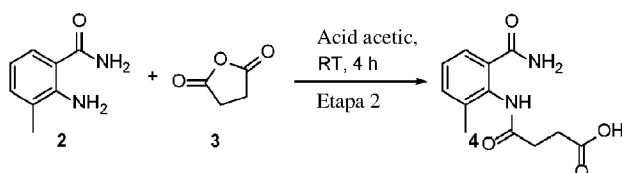
¹H RMN [300 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,1 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,96-7,87 (m, 2H), 7,33 (s, 1H), 7,26 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 3,78 (brs, 2H), 3,65 (brs, 4H), 3,57 (brs, 2H), 2,87 (brs, 4H), 2,39 (s, 3H).

LCMS: m/z : 403,69 $[M+H]^+$.

Exemplul 16 - Sinteză 6-[4-[3-(8-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril**Etapa 1:**

La o soluție agitată de acid 2-amino-3-metil-benzoic (0,5 g, 3,31 mmol) în THF (15 ml), EDC·HCl (0,948 g, 4,97 mmol), HOBT·NH₃ (0,745 g, 4,97 mmol) și DIPEA (1,76 ml, 9,93 mmol) s-au adăugat la RT și s-au agitat timp de 6 ore (TLC indică conversia completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 X 100 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (2 X 50 ml), soluție salină (40 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 20 g, 50% EtOAc-hexan) pentru a da 2-amino-3-metil-benzamidă (0,3 g, 60%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 151,09 $[M+H]^+$.

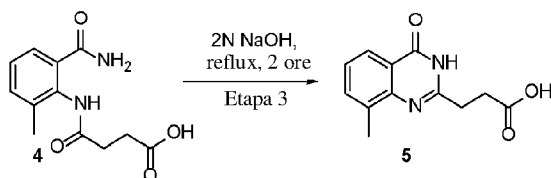
Etapa 2:

La o soluție agitată de 2-amino-3-metil-benzamidă (0,3 g, 2,0 mmol) în AcOH (3 ml), s-au adăugat anhidridă succinică la TC și s-a agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de

materie primă). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece cu gheață (10 ml) și agitat timp de 30 min., timp în care a precipitat solidul. Solidul a fost filtrat, spălat cu apă (20 ml), acetonă rece (5 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a da acid 4-(2-carbamoil-6-metil-anilino)-4-oxo-butanoic (280 mg, 56%) sub forma unui solid alb.

5 **LCMS:** m/z : 251,48 $[M+H]^+$.

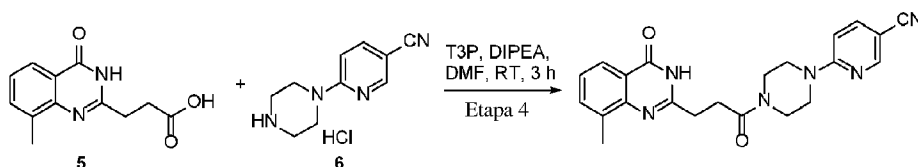
Etapa 3:



10 Acid 4-(2-carbamoil-6-metil-anilino)-4-oxo-butanoic (0,28 g, 1,12 mmol) în NaOH 2 N apos (5 ml) a fost agitat la 100 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C și acidificat cu HCl 2 N apos până la pH = 3-4, timp în care a precipitat solidul alb. Suspensia a fost agitată la 0 °C timp de 30 min., filtrată, spălată cu apă (20 ml), acetonă rece (5 ml) și uscată sub vid ridicat pentru a furniza acid 3-(8-metil-4-oxo-3H-chinazolină-2-il)propanoic (180 mg, 69%) sub forma unui solid aproape alb.

15 **LCMS:** m/z : 233,45 $[M+H]^+$.

Etapa 4:



20 La o soluție agitată de acid 3-(8-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (100 mg, 0,43 mmol) și clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (97 mg, 0,52 mmol) în DMF (3 ml), DIPEA (0,23 ml, 1,29 mmol) și T₃P (0,27 ml, 0,86 mmol) au fost adăugate la TC și se agită timp de 3 ore (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (10 ml) și extras cu EtOAc (3 X 60 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (3 X 30 ml), soluție salină (20 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut. Materialul brut a fost recristalizat din Acetonitril (5 ml) pentru a da 6-[4-[3-(8-metil-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridină-3-carbonitril (60 mg, 34%) sub forma unui solid alb.

30 **¹H RMN [300 MHz, DMSO-*d*₆]:** δ 12,20 (brs, 1H), 8,51 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,92-7,86 (m, 2H), 7,60 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,31 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 3,77-3,75 (m, 2H), 3,66-3,65 (m, 4H), 3,59-3,57 (m, 2H), 2,90 (s, 4H), 2,46 (s, 3H).

LCMS: m/z : 403,68 $[M+H]^+$.

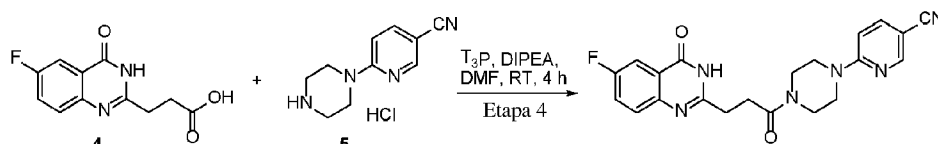
Exemplul 17 - Sinteză 6-[4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril



35 La o soluție agitată de acid 3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (250 mg, 1,054 mmol) în DMF (5 ml), clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (283 mg, 1,265 mmol), EDC·HCl (302 mg, 1,582 mmol), HOBT (213 mg, 1,582 mmol) și DIPEA (0,56 ml, 3,164 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 7 ore (TLC indicat consum complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (1 X 80 ml), agitat timp de 5 minute la TC, timp în care a precipitat solidul care a fost filtrat, spălat cu apă (1 X 70 ml), uscat sub vid ridicat pentru a furniza 6-[4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridină-3-carbonitril (120 mg, 23%) sub forma unui solid galben pal.

45 **¹H RMN [300 MHz, DMSO-*d*₆]:** δ 12,20 (brs, 1H), 8,51 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,88 (dd, J = 9,3, 2,4 Hz, 1H), 7,73-7,67 (m, 1H), 7,35 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,21-7,15 (m, 1H), 6,94 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 3,81-3,74 (m, 2H), 3,68-3,62 (m, 4H), 3,58-3,53 (m, 2H), 2,87 (s, 4H).

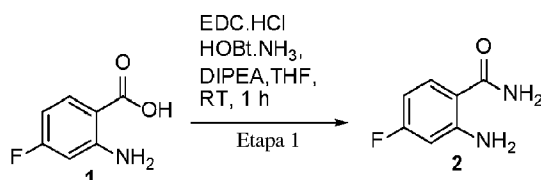
LCMS: m/z : 407,60 $[M+H]^+$.

Exemplul 18 - Sinteză 6-[4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

La o soluție agitată de acid 3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (100 mg, 0,42 mmol) și clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (95 mg, 0,51 mmol) în DMF (2 ml), DIPEA (0,2 ml, 1,27 mmol) și T₃P (0,3 ml, 0,85 mmol) s-au adăugat la TC și se agită timp de 4 ore (TLC indică un consum complet al materiei prime). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (10 ml) și extras în EtOAc (3 X 40 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (3 X 30 ml), soluție salină (20 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 10 g, 5% MeOH-DCM) pentru a da 6-[4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (60 mg, 35%) sub forma unui solid alb.

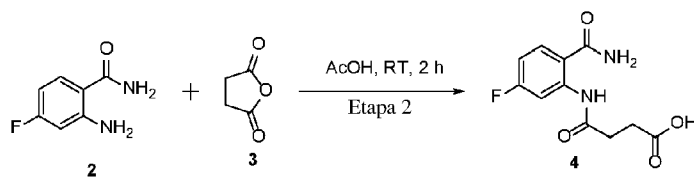
¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,33 (brs, 1H), 8,51 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,88 (dd, J = 9,0, 2,1 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,64-7,62 (m, 2H), 6,93 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 3,77-3,56 (m, 8H), 2,88 (s, 4H).

LCMS: m/z: 407,61 [M+1⁺].

Exemplul 19 - Sinteză 6-[4-[3-(7-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril**Etapa 1:**

La o soluție agitată de acid 2-amino-4-fluor-benzoic (300 mg, 1,93 mmol) în THF (6 ml), EDC·HCl (553 mg, 2,90 mmol), HOBT·NH₃ (435 mg, 2,90 mmol), DIPEA (1,03 ml, 5,79 mmol) s-au adăugat la TC și s-au agitat timp de 1 oră (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (25 ml) și extras cu EtOAc (3 x 20 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie rapidă pe coloană (silicagel 100-200 mesh, 5g, 50% EtOAc-Hexan) pentru a se obține 2-amino-4-fluor-benzamidă (195 mg, 65%) sub forma unui solid alb.

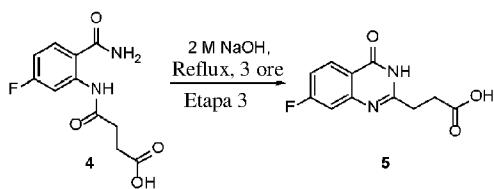
¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 7,71 (brs, 1H), 7,61-7,56 (m, 1H), 7,07 (brs, 1H), 6,89 (s, 2H), 6,42 (dd, J = 2,7, 12,0 Hz, 1H), 6,30-6,23 (m, 1H).

Etapa 2:

La o soluție agitată de 2-amino-4-fluor-benzamidă (195 mg, 1,26 mmol) în AcOH (4 ml), s-a adăugat anhidridă succinică (151 mg, 1,51 mmol) la TC și s-a agitat timp de 2 ore (TLC indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (20 ml), timp în care a fost precipitat solidul. Solidul a fost filtrat, uscat sub vid pentru a obține acid 4-(2-carbamoyl-5-fluor-anilino)-4-oxo-butanoic (260 mg, 81%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare ulterioară.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,10 (s, 1H), 8,40-8,26 (m, 3H), 7,92-7,87 (m, 1H), 7,79 (brs, 1H), 7,00-6,93 (m, 1H), 2,56-2,49 (m, 4H).

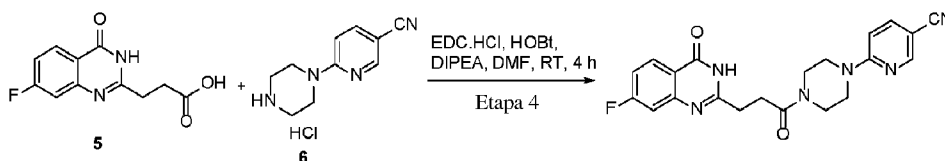
Etapa 3:



O soluție agitată de acid 4-(2-carbamoyl-5-fluor-anilino)-4-oxo-butanoic (250 mg, 0,98 mmol) în NaOH 2 N (10 ml) a fost refluxată timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C, acidificat cu AcOH până la pH = 4 în timpul căruia a fost precipitat solidul. Solidul a fost filtrat și uscat sub vid pentru a se obține acid 3-(7-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (210 mg, 90%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare ulterioară.

LCMS: m/z : 237,43 [M+H]⁺.

Etapa 4:



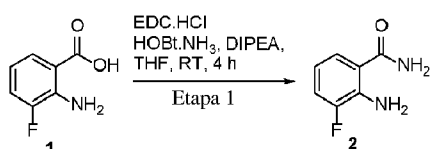
La o soluție agitată de acid 3-(7-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (150 mg, 0,63 mmol) și clorhidrat de 6-piperazin-1-ilpiridin-3-carbonitril (174 mg, 0,76 mmol) în DMF (4 ml), EDC·HCl (181 mg, 0,95 mmol), HOBT (130 mg, 0,95 mmol) și DIPEA (0,45 ml, 2,54 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 4 ore (TLC consumul complet indicat de materie primă). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece (25 ml) în timpul căreia a fost precipitat solidul. Solidul a fost filtrat, uscat sub vid și se spală cu Et₂O (20 ml), hexan (20 ml), pentan (20 ml), EtOAc (15 ml) și din nou uscat sub vid pentru a se obține 6-[4-[3-(7-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (110 mg, 43%) sub forma unui solid aproape alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,30 (s, 1H), 8,51 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 8,15-8,10 (m, 1H), 7,88 (dd, J = 2,4, 9,6 Hz, 1H), 7,33-7,27 (m, 2H), 6,94 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 3,80-3,73 (m, 2H), 3,69-3,61 (m, 4H), 3,59-3,53 (m, 2H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: m/z : 407,61 [M+H]⁺.

Exemplul 20 - Sinteză 6-[4-[3-(8-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

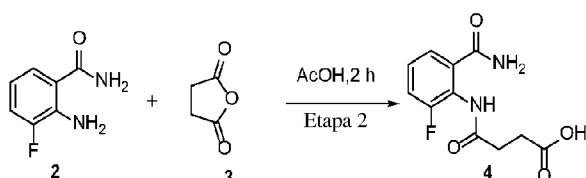
Etapa 1:



La o soluție agitată de acid 2-amino-3-fluor-benzoic (400 mg, 2,57 mmol) în THF (10 ml), EDC·HCl (738 mg, 3,86 mmol), HOBT·NH₃ (580 mg, 3,86 mmol) și DIPEA (1,38 ml, 7,73 mmol) au fost adăugate la TC și agitate timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 x 40 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a obține compusul brut care a fost purificat prin cromatografie rapidă pe coloană (silicagel 100-200 mesh, 5g, 50% EtOAc-hexan) pentru a furniza 2-amino-3-fluor-benzamidă (250 mg, 63%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 155,42 [M+H]⁺.

Etapa 2:



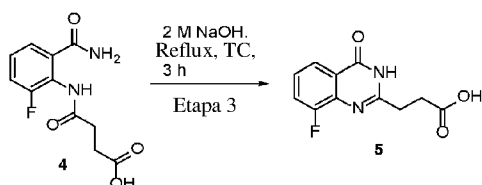
La o soluție agitată de 2-amino-3-fluor-benzamidă (250 mg, 1,62 mmol) în AcOH (5 ml), s-a adăugat anhidridă succinică (389 mg, 3,89 mmol) la TC și s-a agitat timp de 2 ore (TLC indicat consumul materiei prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (20 ml), timp în care a fost precipitat solidul. Solidul a fost filtrat și uscat sub vid pentru a obține acid 4-(2-carbamoyl-6-fluor-

anilino)-4-oxo-butanoic (400 mg, 97%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare ulterioară.

LCMS: m/z : 255,42 $[M+H]^+$.

Etapa 3:

5

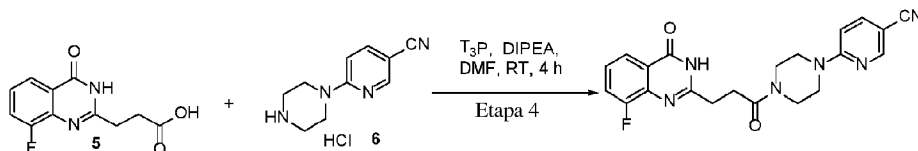


Acid 4-(2-carbamoyl-6-fluor-anilino)-4-oxo-butanoic (400 mg, 1,57 mmol) a fost luat în NaOH 2 N (10 ml) și încălzit la 100 °C timp de 3 ore (TLC indicat complet consumul de materie primă). După finalizarea reacției, amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C, acidificat cu AcOH până la pH = 4, timp în care a fost precipitat solidul. Solidul a fost filtrat și uscat sub vid pentru a se obține acid 3-(8-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (250 mg, 67%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare ulterioară.

LCMS: m/z : 237,39 $[M+H]^+$.

Etapa 4:

15



La o soluție agitată de acid 3-(8-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (150 mg, 0,63 mmol) și clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (170 mg, 0,76 mmol) în DMF (4 ml), T₃P (0,3 ml, 0,95 mmol) și DIPEA (0,45 ml, 2,54 mmol) au fost adăugate la TC și se agită timp de 4 ore (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece (25 ml) în timpul căreia a fost precipitat solidul. Solidul a fost filtrat, uscat sub vid, spălat cu hexan (30 ml), clorform (30 ml) și uscat din nou sub vid pentru a furniza 6-[4-[3-(8-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (80 mg, 23%) sub forma unui solid aproape alb.

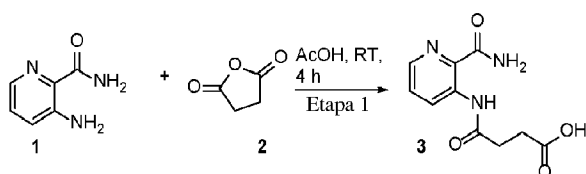
¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 8,51 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,90-7,87 (m, 2H), 7,65-7,59 (m, 1H), 7,46-7,39 (m, 1H), 6,93 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 3,77 (brs, 2H), 3,64 (brs, 4H), 3,57 (brs, 2H), 2,90 (s, 4H).

LCMS: m/z : 407,61 $[M+H]^+$.

Exemplul 21 - Sinteză 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pirido[3,2-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

Etapa 1:

30

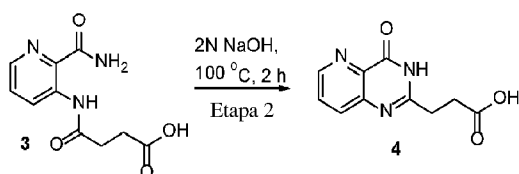


La o soluție agitată de 3-aminopiridin-2-carboxamidă (0,3 g, 2,19 mmol) în AcOH (3 ml), s-a adăugat anhidridă succinică (0,26 g, 2,63 mmol) la TC și s-a agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie prima). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece cu gheață (5 ml) și agitat timp de 30 de minute, timp în care a precipitat solidul. Solidul a fost filtrat, spălat cu apă (10 ml), acetonă rece (5 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a furniza acid 4-[(2-carbamoyl-3-piridil)amino]-4-oxo-butanoic (320 mg, 61%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără nicio purificare.

LCMS: m/z : 238,41 $[M+H]^+$.

Etapa 2:

40

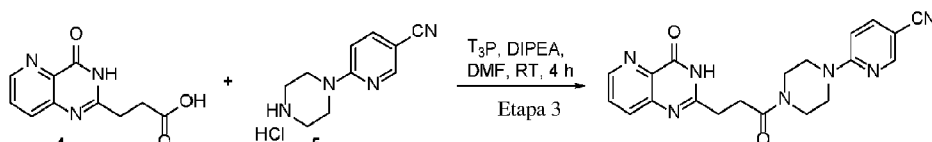


Acid 4-[(2-carbamoil-3-piridil)amino]-4-oxo-butanoic (300 mg, 1,27 mmol) a fost luat in NaOH 2 N apos (5 ml) și agitat la 100 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C și acidificat cu HCl 2 N apos până la pH = 3-4, timp in care a precipitat solidul alb. Amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 30 min. Solidul a fost

filtrat, spălat cu apă (10 ml), acetonă rece (4 ml) și uscat sub vid înalt pentru a da acid 3-(4-oxo-3H-pirido[3,2-d]pirimidin-2-il)propanoic (200 mg, 72%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără nicio purificare.

LCMS: m/z : 220,46 [M+H]⁺.

Etapa 3:



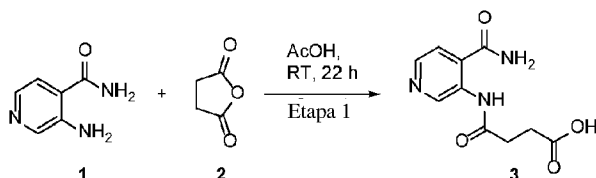
La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-pirido[3,2-d]pirimidin-2-il)propanoic (100 mg, 0,46 mmol) și clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (104 mg, 0,55 mmol) in DMF (3 ml), DIPEA (0,3 ml, 1,37 mmol) și T₃P (0,23 ml, 0,92 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 4 ore (TLC indică consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (10 ml) și extras cu EtOAc (3 X 40 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (3 X 20 ml), soluție salină (20 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 10 g, 5% MeOH-DCM pentru a da 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pirido[3,2-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (60 mg, 36%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz DMSO-d₆]: δ 12,50 (brs, 1H), 8,71 (dd, J = 4,0, 1,2 Hz, 1H), 8,50 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,95 (dd, J = 8,4, 1,6 Hz, 1H), 7,88 (dd, J = 9,2, 1,6 Hz, 1H), 7,73 (dd, J = 8,0, 4,0 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 3,77-3,75 (m, 2H), 3,66-3,63 (m, 4H), 3,57-3,55 (m, 2H), 2,90 (s, 4H).

LCMS: m/z : 390,69 [M+H]⁺.

Exemplul 22 - Sinteză 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pirido[3,4-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

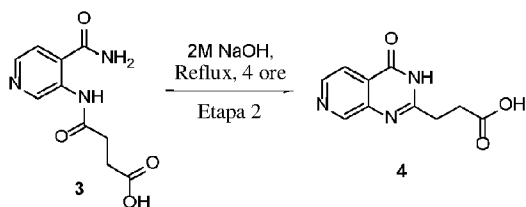
Etapa 1:



La o soluție agitată de 3-aminopiridin-4-carboxamidă (300 mg, 2,18 mmol) în AcOH (6 ml) anhidridă succinică (262 mg, 2,62 mmol) s-a adăugat la TC și s-a agitat timp de 22 ore (TLC a indicat consumul complet de pornire material). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (20 ml) în timpul căreia a precipitat solidul. Solidul a fost filtrat și uscat sub vid pentru a obține acid 4-[(4-carbamoil-3-piridil)amino]-4-oxo-butanoic (430 mg, 83%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare ulterioară.

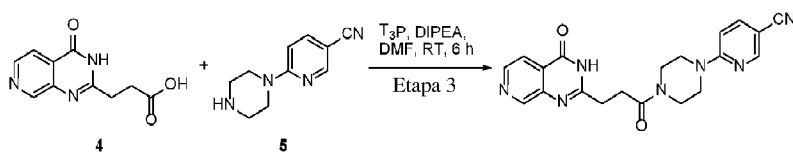
LCMS: m/z : 238,52 [M+H]⁺.

Etapa 2:



Acid 4-[(4-carbamoil-3-piridil)amino]-4-oxo-butanoic (430 mg, 1,81 mmol) a fost luat in NaOH 2 N (8,6 ml) și refluxat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie prima). După finalizarea reacției, amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C, acidificat cu AcOH până la pH = 4, timp in care a fost precipitat solidul. Solidul a fost filtrat și uscat sub vid pentru a furniza acid 3-(4-oxo-3H-pirido[3,4-d]pirimidin-2-il)propanoic (380 mg, 96%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare ulterioară.

LCMS: m/z : 220,42 [M+H]⁺.

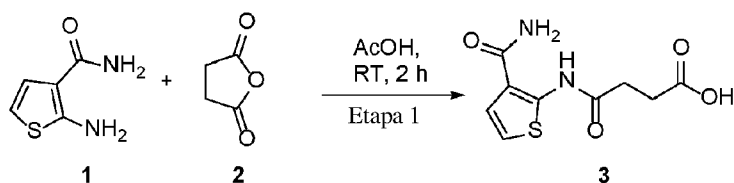
Etapă 3:

La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-pirido[3,4-d]pirimidin-2-il)propanoic (200 mg, 0,91 mmol) și clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (245 mg, 1,09 mmol) în DMF (5 ml), T₃P (0,87 ml, 1,36 mmol), DIPEA (0,64 ml, 3,65 mmol) s-au adăugat la RT și s-au agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de pornire material). Amestecul de reacție a fost diluat (30 ml), extras cu EtOAc (3 x 15 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200 mesh, 4 g, 5% MeOH-DCM) pentru a se obține 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pirido[3,4-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (45 mg, 13%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,55 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,59 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 8,51-8,50 (m, 1H), 7,91-7,87 (m, 2H), 6,94 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 3,77 (brs, 2H), 3,65 (brs, 4H), 3,56 (brs, 2H), 2,92 (brs, 4H).

LCMS: m/z: 390,70 [M+H]⁺.

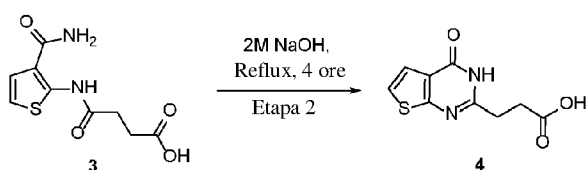
Exemplul 23 - Sinteză 6-[4-[3-(4-oxo-3H-tieno[2,3-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

Etapă 1:

La o soluție agitată de 2-aminotien-3-carboxamidă (300 mg, 2,11 mmol) în acid acetic (3 ml) s-a adăugat anhidridă succinică (253 mg, 2,53 mmol) la TC. Amestecul de reacție a fost agitat la TC timp de 2 ore. (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu apă (20 ml) și s-au format precipitați. Amestecul a fost filtrat și solidul obținut a fost uscat sub vid pentru a furniza acid 4-[(3-carbamoil-2-tienil)amino]-4-oxo-butanoic (410 mg, 69%), care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare ulterioară.

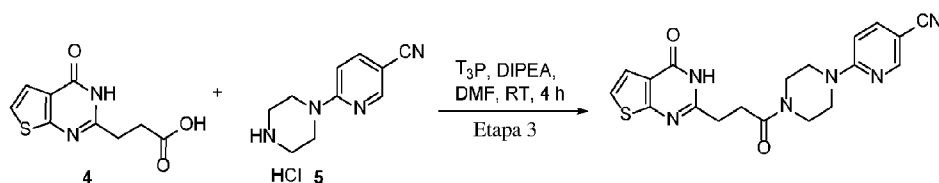
¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,20 (s, 1H), 12,14 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,50 (brs, 1H), 7,39 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 60 Hz, 1H), 2,67 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,56 (t, J = 6,8 Hz, 2H).

LCMS: m/z: 265,40 [M+Na]⁺.

Etapă 2:

Acid 4-[(3-carbamoil-2-tienil)amino]-4-oxo-butanoic (350 mg, 1,44 mmol) a fost suspendat în NaOH 2 N (7 ml) la TC. Amestecul rezultat a fost încălzit la 100 °C timp de 4 ore. (TLC a indicat consumul complet de materie primă). După finalizarea reacției, amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C, acidificat cu AcOH (pH = 4). Solidele au fost formate, colectate prin filtrare și uscate sub vid pentru a da acid 3-(4-oxo-3H-tieno[2,3-d]pirimidin-2-il)propanoic (290 mg, 90%), care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare ulterioară.

LCMS: m/z: 225,38 [M+H]⁺.

Etapă 3:

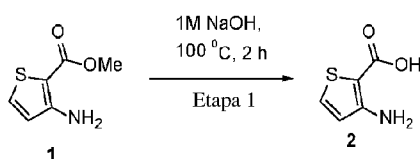
La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-tieno[2,3-d]pirimidin-2-il)propanoic (200 mg, 0,89 mmol) și clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (239 mg, 1,07 mmol) în DMF (5 ml), s-a adăugat T₃P (0,85 ml, 1,33 mmol), DIPEA (0,62 ml, 3,568 mmol) la TC. Amestecul de reacție a fost agitat la TC timp de 4 ore. (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat (30 ml), extras cu EtOAc (3 x 30 ml). Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, se evaporă solventul sub presiune redusă pentru a se obține compusul brut. Brutul obținut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 4 g, MeOH-DCM 5%) pentru a da 6-[4-[3-(4-oxo-3H-tieno[2,3-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (80 mg, 22%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,38 (s, 1H), 8,50 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,88 (dd, J = 2,4, 9,2 Hz, 1H), 7,45 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 7,32 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 3,77-3,74 (m, 2H), 3,65-3,62 (m, 4H), 3,57-3,55 (m, 2H), 2,92-2,84 (m, 4H).

LCMS: m/z: 395,62 [M+H]⁺.

Exemplul 24 - Sinteză 6-[4-[3-(4-oxo-3H-tieno[3,2-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

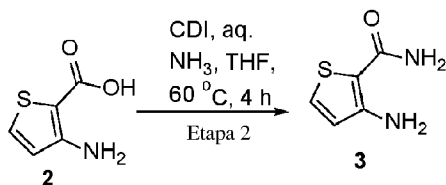
Etapa 1:



O soluție agitată de 3-aminotiofen-2-carboxilat de metil (2 g, 12,72 mmol) în hidroxid de sodiu 1 M (14 ml, 14 mmoli) a fost încălzită la 100 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus la TC, acidificat cu HCl 1 N până la pH = 2 și extras cu 50% THF-EtOAc (2 X 100 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost spălat cu n-pentan (2 X 20 ml), pentru a obține acid 3-aminotiofen-2-carboxilic (1,4 g, 77%) care a fost folosit pentru etapa următoare fără nicio purificare.

LCMS (ESI⁺): m/z: 144,30 [M+H]⁺.

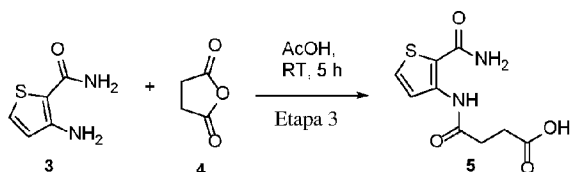
Etapa 2:



O soluție de acid 3-aminotiofen-2-carboxilic (1 g, 6,99 mmol) și CDI (1,24 g, 7,69 mmol) în THF (20 ml) a fost încălzită la 60 °C timp de 1 oră, apoi 25% soluție apoasă de amoniac (16 ml) s-a adăugat și s-a continuat la 60 °C timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus la RT și extras cu EtOAc (2 X 75 ml); extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (40 ml), uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a se obține rezidul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 20 g, 50-75% EtOAc-Hexan) pentru a furniza 3-aminotiofen-2-carboxamidă (400 mg, 40%) sub forma unui solid aproape alb.

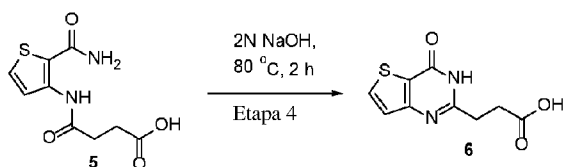
LCMS (ESI⁺): m/z: 143,33 [M+H]⁺.

Etapa 3:



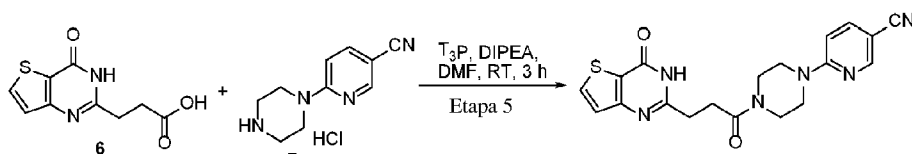
La o suspensie agitată de 3-aminotiofen-2-carboxamidă (390 mg, 2,74 mmol) în AcOH (10 ml), s-a adăugat anhidridă succinică (277 mg, 2,77 mmol) și s-a agitat la RT timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (40 ml), agitat timp de 15 minute, precipitatul a fost filtrat, spălat cu apă (10 ml) și uscat pentru a obține acid 4-[(2-carbamoyl-3-thienyl)amino]-4-oxobutanoic (585 mg, 88%) sub forma unui solid alb.

LCMS (ESI⁺): m/z: 243,40 [M+H]⁺.

Etapă 4:

O soluție de acid 4-[(2-carbamoyl-3-tienil)amino]-4-oxo-butanoic (500 mg, 2,07 mmoli) în soluție 2 N de hidroxid de sodiu (16 ml, 32 mmoli) a fost agitată la 80 °C timp de 2 ore (LCMS a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus la TC, acidificat cu AcOH până la pH = 5, precipitatul alb a fost filtrat, spălat cu apă (20 ml), uscat sub presiune redusă pentru a da acid 3-(4-oxo-3H-tieno[3,2-d]pirimidin-2-il)propanoic (330 g, 72%) sub forma unui solid alb.

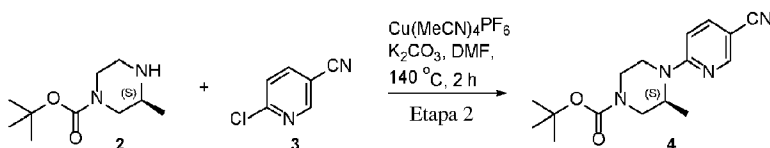
LCMS (ESI+): m/z : 225,42 $[M+H]^+$.

Etapă 5

La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-tieno[3,2-d]pirimidin-2-il)propanoic (200 mg, 0,89 mmol), clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (240 mg, 1,07 mmol) și DIPEA (0,31 ml, 1,78 mmol) în DMF (10 ml), soluție T₃P 50% în EtOAc (0,85 ml, 1,34 mmol) au fost adăugate la TC și s-au agitat timp de 3 ore (LCMS indicat consum complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (60 ml) și extras cu DCM (2 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (20 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 20 g, 2-4% MeOH-DCM) pentru a da 6-[4-[3-(4-oxo-3H-tieno[3,2-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (60 mg, 17%) sub forma unui solid aproape alb.

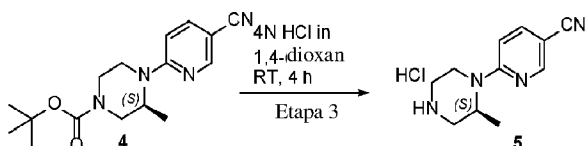
¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,37 (s, 1H), 8,50 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,12 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 7,88 (dd, J = 5,6, 9,2 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 3,80-3,72 (m, 2H), 3,68-3,61 (m, 4H), 3,59-3,55 (m, 2H), 2,92-2,85 (m, 4H).

LCMS (ESI+): m/z : 395,63 $[M+H]^+$.

Exemplul 25 - Sinteză 6-[(2S)-2-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril**Etapă 1:**

La o soluție agitată de (3S)-3-metilpiperazin-1-carboxilat DE *tert*-butil (500 mg, 2,50 mmol) și 6-clorpiridin-3-carbonitril (415 mg, 3,0 mmol) în DMSO (10 ml), K₂CO₃ (863 mg, 6,25 mmol) și Cu(MeCN)₄PF₆ (18 mg, 0,05 mmol). Amestecul de reacție a fost încălzit la 140 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus la TC, diluat cu apă (20 ml) și extras cu EtOAc (3 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (2 X 30 ml) și soluție salină (40 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține rezidul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 15 g, 30% EtOAc-hexan) pentru a furniza (3S)-4-(5-ciano-2-piridil)-3-metil-piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (260 mg, 34%) sub forma unui solid aproape alb.

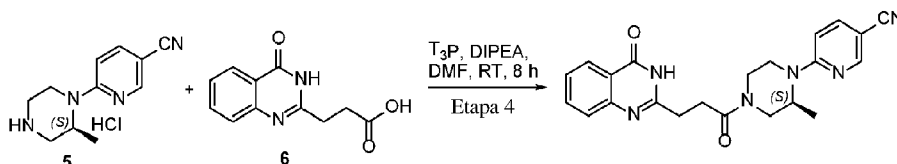
LCMS: m/z : 303,60 $[M+H]^+$.

Etapă 2:

La o soluție agitată de (3S)-4-(5-ciano-2-piridil)-3-metil-piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (260 mg, 0,86 mmol) în DCM (5 ml), răcită la 0 °C, s-a adăugat HCl 4 N în dioxan (5 ml). Amestecul de reacție a fost adus la TC și agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost spălat cu Et₂O (5 ml) și uscat sub vid înaintat pentru a se obține clorhidrat de 6-[(2S)-2-metilpiperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (120 mg, 68%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS: *m/z*: 203,45 [M+H]⁺.

Etapa 3:



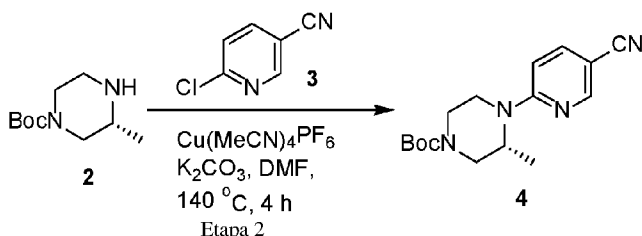
La o soluție agitată de clorhidrat de 6-[(2S)-2-metilpiperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (100 mg, 0,46 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (111 mg, 0,55 mmol) în DMF (5 ml), răcită la 0 °C, T₃P (0,3 ml, 0,92 mmoli, 50% în DMF) și DIPEA (0,25 ml, 1,38 mmoli) s-au adăugat. Amestecul de reacție a fost încălzit la TC și agitat timp de 8 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (20 ml) și extras cu EtOAc (3 X 60 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (3 X 30 ml), soluție salină (40 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 8 g, 5% MeOH-EtOAc) pentru a da 6-[(2S)-2-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (40 mg, 21%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,28 (s, 1H), 8,52 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,06 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,88 (dd, *J* = 1,8 Hz, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,76-7,17 (m, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,66-4,58 (m, 1H), 4,25-4,14 (m, 2H), 4,05-3,87 (m, 1H), 3,47 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 3,12-2,99 (m, 2H), 2,91-2,84 (m, 4H), 1,20-0,98 (m, 3H).

LCMS: *m/z*: 403,66 [M+H]⁺.

Exemplul 26 - Sinteză 6-[(2R)-2-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

Etapa 1:

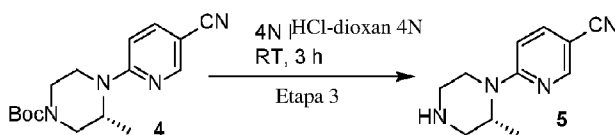


La o soluție agitată de (3R)-3-metilpiperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (500 mg, 2,5 mmol), 6-clorpiridin-3-carbonitril (415 mg, 3 mmol) în DMSO (10 ml), carbonat de potasiu (690 mg, 5 mmol), Cu (MeCN)₄PF₆ (18 mg, 0,05 mmol) au fost adăugate la RT. Amestecul de reacție a fost încălzit la 140 °C timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet al materiilor prime), adus la TC, diluat cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 X 40 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (30 ml), soluție salină (40 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține compusul brut. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel de 100-200 ochiuri, 7 g, 30% EtOAc-hexan) pentru a se obține (3R)-4-(5-ciano-2-piridil)-3-metil-piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (415 mg, 55%) sub forma unui solid aproape alb.

¹H RMN [300 MHz, CDCl₃]: δ 8,39 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,62-7,58 (m, 1H), 6,54 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,51 (brs, 1H), 4,13-3,89 (m, 3H), 3,27-3,13 (m, 2H), 3,00 (brs, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,23-1,16 (m, 3H).

LCMS: *m/z*: 247,46 [M+H]⁺.

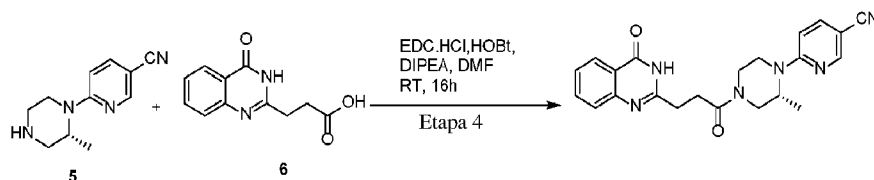
Etapa 2:



La o soluție agitată de (3R)-4-(5-ciano-2-piridil)-3-metil-piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (410 mg, 1,35 mmol) în 1,4-dioxan (4 ml), răcit la 0 °C, s-a adăugat HCl 4 N în dioxan (1,35 ml, 5,43 mmol). Reacția a fost adusă încet la TC și agitată timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a da 6-[(2R)-2-metilpiperazin-1-il]piridin-3-carbonitril brut (310 mg, 96%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără nicio purificare.

LCMS: *m/z*: 203,41 [M+H]⁺.

Etapa 3:



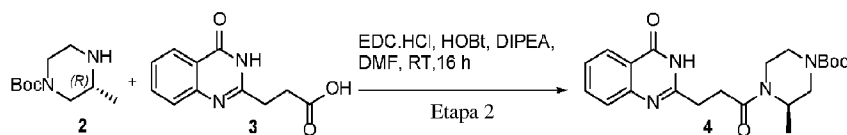
La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (100 mg, 0,45 mmol), 6-[(2R)-2-metilpiperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (93 mg, 0,45 mmol) în DMF (2 ml), EDC·HCl (131 mg, 0,68 mmol), HOBt (92 mg, 0,68 mmol) și DIPEA (0,16 ml, 0,91 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 16 ore (TLC a indicat consumul complet de materii prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă rece (20 ml) și extras cu EtOAc (3 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (1 X 30 ml), soluție salină (40 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul brut. Reziduul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel de 100-200 mesh, 4 g, 3% MeOH-DCM) pentru a furniza 6-[(2R)-2-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (60 mg, 33%) sub forma unui solid roz pal.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,30 (brs, 1H), 8,52 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 8,06 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,88 (dd, *J* = 9,0, 2,1 Hz, 1H), 7,76 - 7,71 (m, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,66-4,58 (m, 1H), 4,24-4,14 (m, 2H), 4,05-3,87 (m, 1H), 3,34-3,31 (m, 1H), 3,05-2,72 (m, 6H), 1,20-0,98 (m, 3H).

LCMS: *m/z*: 403,66 [M+H]⁺.

Exemplul 27 - Sinteză 6-[(3R)-3-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

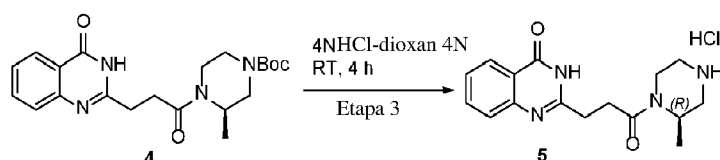
Etapa 1:



La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (1 g, 4,58 mmol), (3R)-3-metilpiperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (917 mg, 4,58 mmol) în DMF (20 ml), EDC·HCl (1,3 g, 6,88 mmol), HOBt (928 mg, 6,88 mmol) și DIPEA (1,6 ml, 9,17 mmol) au fost adăugate și agitate la TC timp de 16 ore (TLC indicat complet consumul de materii prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă rece (40 ml) și extras cu EtOAc (3 X 40 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (50 ml), soluție salină (40 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține compusul brut. Compusul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200 mesh, 10 g, 3% MeOH în DCM) pentru a se obține (3R)-3-metil-4-[3-(4-oxo-3H)-chinazolin-2-il]propanoil]piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (410 mg, 22%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS: *m/z*: 401,67 [M+H]⁺.

Etapa 2:



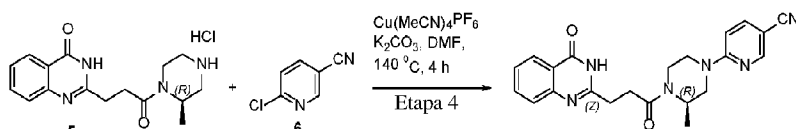
La o soluție agitată de (3R)-3-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (410 mg, 1 mmol) în 1,4-dioxan (4 ml), răcit la 0 °C, HCl 4N în dioxan (1,0 ml, 4 mmol) s-a adăugat. Reacția a fost încălzită la TC și agitată timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă

pentru a da clorhidratul de 2-[3-[(2R)-2-metilpiperazin-1-il]-3-oxopropil]-3H-chinazolin-4-onă brut (310 mg, cantitativ) care a fost folosit pentru etapa următoare fără nicio purificare.

LCMS: m/z : 301,61 $[M+H]^+$.

Etapa 3:

5



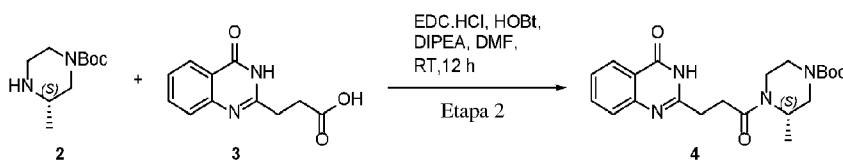
La o soluție agitată de clorhidrat de 2-[3-[(2R)-2-metilpiperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (200 mg, 0,66 mmol), 6-clorpiridin-3-carbonitril (110 mg, 0,79 mmol) în DMSO (4 ml), carbonat de potasiu (183 mg, 1,33 mmol), Cu (MeCN)₄PF₆ (5 mg, 0,013 mmol) a fost adăugat la RT. Amestecul de reacție a fost încălzit la 140 °C timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet al materiilor prime), adus încet la TC, diluat cu apă rece (30 ml), extras cu EtOAc (3 X 40 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (30 ml), soluție salină (40 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține compusul brut. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200 mesh, 4g, 5% MeOH-DCM) pentru a da 6-[(3R)-3-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (65 mg, 24%) sub forma unui solid aproape alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,20 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,06 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,73 (brs, 1H), 7,52 (m, 1H), 7,44 (t, J = 2,0 Hz, 1H), 6,93 (brs, 1H), 4,56 (brs, 1H), 4,37 - 4,14 (m, 3H), 3,52-3,31 (m, 2H), 2,98-2,88 (m, 5H), 1,20-1,00 (m, 3H).

LCMS: m/z : 403,62 $[M+H]^+$.

Exemplul 28 - Sinteză 6-[(3S)-3-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

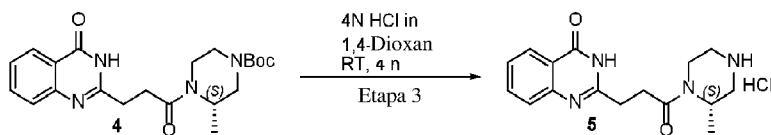
Etapa 1:



La o soluție agitată de (2R)-2-metilpiperazin-1-carboxilat de terț-butil (0,55 g, 2,75 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (0,5 g, 2,29 mmol) în DMF (10 ml), răcit la 0 °C, s-au adăugat EDC·HCl (0,657 g, 3,44 mmol), HOBT (0,464 g, 3,44 mmol) și DIPEA (1,2 ml, 6,88 mmol). Amestecul de reacție a fost încălzit la TC, agitat timp de 12 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), stins cu apă (20 ml) și extras cu EtOAc (3 X 60 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (3 X 30 ml), soluție salină (40 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține compusul brut. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 15 g, MeOH-EtOAc 5%) pentru a furniza (3S)-3-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-carboxilat de terț-butil (0,3 g, 32%).

LCMS: m/z : 401,67 $[M+H]^+$.

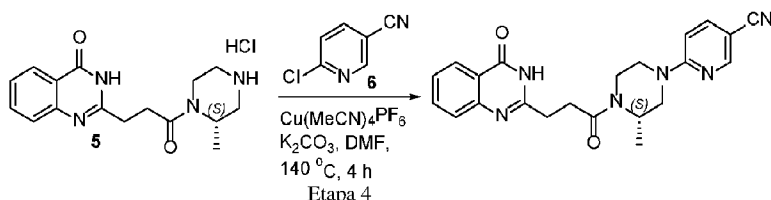
Etapa 2:



La o soluție agitată de (3S)-3-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-carboxilat de terț-butil (0,2 g, 0,5 mmol) în DCM (5 ml), răcit la 0 °C, s-a adăugat HCl 4 N în dioxan (5 ml). Amestecul de reacție a fost încălzit încet la TC și agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost concentrat sub vid pentru a da reziduul brut care a fost spălat cu Et₂O (5 ml) și uscat sub vid înaintat pentru a furniza clorhidrat de 2-[3-[(2S)-2-metilpiperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (120 mg, 80%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS: m/z : 301,61 $[M+H]^+$.

Etapa 3:



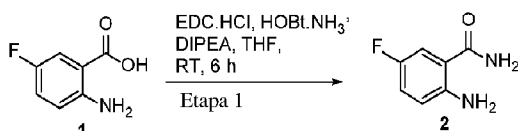
O soluție de clorhidrat de 2-[3-[(2S)-2-metilpiperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (100 mg, 0,33 mmoli), 6-clorpiridin-3-carbonitril (55 mg, 0,39 mmol), K₂CO₃ (138 mg, 0,10 mmol) și Cu(MeCN)₄PF₆ (2 mg, 0,006 mmol) în DMSO (3 ml) a fost agitat la 140 °C timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus la TC, diluat cu apă (20 ml) și extras cu EtOAc (3 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (2 X 30 ml), soluție salină (1 X 30 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 10 g, 5% MeOH-EtOAc) pentru a da 6-[(3S)-3-metil-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (30 mg, 22%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,24 (s, 1H), 8,49 (d, J = 2,1, 1H), 8,06 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,87 (dd, J = 9,0, 2,4 Hz, 1H), 7,78-7,70 (m, 1H), 7,55-7,42 (m, 2H), 7,01-6,91 (m, 1H), 4,61-4,51 (m, 1H), 4,38-4,15 (m, 2H), 3,95-3,85 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 3,51-3,40 (m, 1H), 3,25-3,17 (m, 1H), 3,05 -2,81 (m, 5H), 1,22-0,99 (m, 3H).

LCMS: m/z: 403,63 [M+H]⁺.

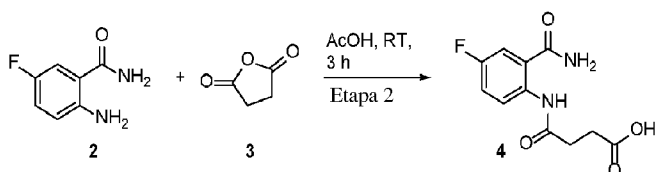
Exemplul 29 - Sinteză 6-[(3S)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metilpiperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

Etapa 1:



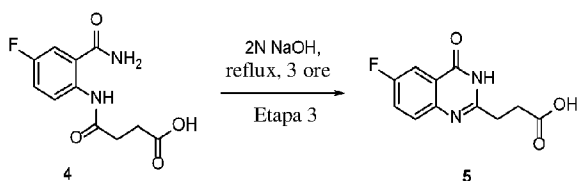
La o soluție agitată de acid 2-amino-5-fluor-benzoic (15 g, 96,69 mmol) în THF (300 ml), EDC·HCl (27,70 g, 145,03 mmol), HOBT·NH₃ (21,75 g, 145,03 mmol) și DIPEA (51,0 ml, 290,07 mmol) au fost adăugate la TC și agitate timp de 6 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă pentru a da reziduul brut care a fost diluat cu apă (150 ml) și extras cu EtOAc (3 X 150 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (2 X 100 ml), soluție salină (1 x 100 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 300 g, 40% EtOAc-hexan) pentru a furniza 2-amino-5-fluor-benzamidă (10,0 g, 67%) sub forma unui solid galben pal. LCMS: m/z: 155,38 [M+H]⁺.

Etapa 2:



La o soluție agitată de 2-amino-5-fluor-benzamidă (7,0 g, 45,45 mmol) în AcOH (35 ml), s-a adăugat anhidridă succinică (5,45 g, 54,54 mmol) la TC și s-a agitat timp de 3 ore (TLC indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece cu gheață (250 ml), solidul precipitat a fost agitat timp de 30 min la TC, filtrat, spălat cu apă (50 ml), acetonă rece (20 ml) și uscat sub vid înalt pentru a furniza acid 4-(2-carbamoyl-4-fluor-anilino)-4-oxo-butanoic (9,0 g, 77%) sub forma unui solid alb. LCMS: m/z: 255,57 [M+H]⁺.

Etapa 3:



O soluție agitată de acid 4-(2-carbamoyl-4-fluor-anilino)-4-oxo-butanoic (9,0 g, 35,43 mmol) în NaOH 2 N apos (100 ml) a fost încălzit la 100 °C timp de 3 ore (TLC a indicat consumul

complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C și acidificat cu HCl 2 N apos până la pH = 4-5, timp în care s-a format precipitat alb. Suspensia a fost agitată la 0 °C timp de 30 min., filtrată, spălată cu apă (2 X 50 ml) și acetonă rece (20 ml). Solidul a fost uscat sub vid ridicat pentru a da acid 3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (7,0 g, 83%) sub forma unui solid aproape alb.

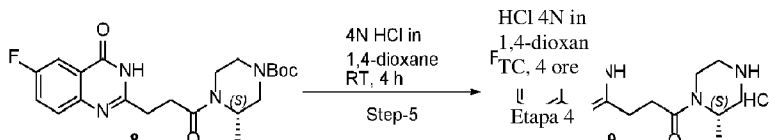
LCMS: m/z : 237,43 $[M+H]^+$.

Etapa 4:



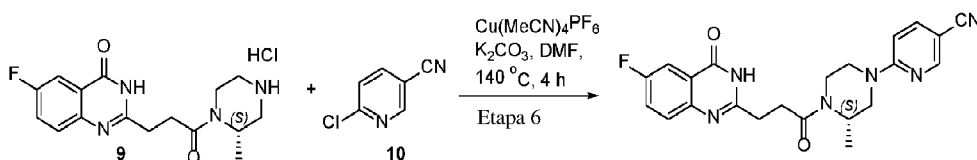
La o soluție agitată de acid 3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (5,0 g, 21,19 mmol) și (3S)-3-metilpiperazină-1-carboxilat de *terț*-butil (4,2 g, 21,19 mmol) în DMF (50 ml), răcit la 0 °C, EDC·HCl (6,06 g, 31,78 mmol), HOBT (4,29 g, 31,78 mmol) și DIPEA (11,2 ml, 63,56 mmol) s-au adăugat. Amestecul de reacție a fost încălzit la TC, agitat timp de 12 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), stins cu apă (100 ml) și extras cu EtOAc (3 X 200 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (3 X 50 ml), soluție salină (50 ml), uscat pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 80 g, 5% MeOH-DCM) pentru a da (3S)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (4,0 g, 45%) sub forma unui solid aproape alb. LCMS: m/z : 419,73 $[M+H]^+$.

Etapa 5



La o soluție agitată de (3S)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (4,0 g, 9,57 mmol) în 1,4-dioxan (20 ml), răcit la 0 °C, s-a adăugat HCl 4 N în dioxan (10 ml, 40,0 mmol). Amestecul de reacție a fost adus la TC și agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Produsele volatile au fost concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost spălat cu Et_2O (10 ml), uscat sub vid înaintat pentru a se obține clorhidrat 6-fluor-2-[3-[(2S)-2-metilpiperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (2,0 g, 65%) și utilizat pentru etapa următoare fără nicio purificare. LCMS: m/z : 319,63 $[M+H]^+$.

Etapa 6



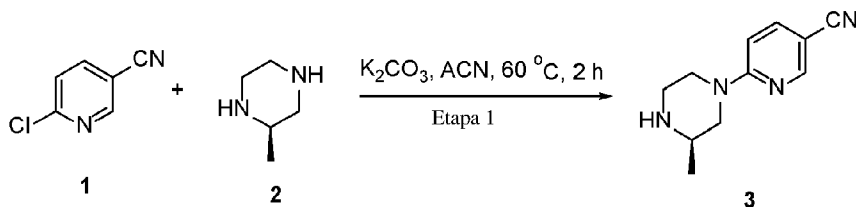
La o soluție agitată de clorhidrat 6-fluor-2-[3-[(2S)-2-metilpiperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (2,5 g, 7,86 mmol), 6-clorpiridin-3-carbonitril (1,08 g, 7,86 mmol) și K_2CO_3 (3,2 g, 23,58 mmol) în DMSO (20 ml), $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{PF}_6$ (58 mg, 0,16 mmol) a fost adăugat și agitat la 140 °C timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus la TC, diluat cu apă (50 ml) și extras cu EtOAc (3 X 150 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (2 X 100 ml), soluție salină (1 x 10 ml), uscat pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 40 g, 5% MeOH-DCM) pentru a furniza compusul 6-[(3S)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (1,3 g, 40%) sub forma unui solid alb.

^1H RMN [400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$]: δ 12,31 (s, 1H), 8,48 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,86 (dd, $J = 8,8, 2,0$ Hz, 1H), 7,73 (dd, $J = 8,8, 2,8$ Hz, 1H), 7,68-7,55 (m, 2H), 6,97-6,88 (s, 1H), 4,56-4,36 (m, 1H), 4,30-4,14 (m, 3H), 3,51-3,44 (m, 1H), 3,24-3,17 (m, 1H), 2,98 (s, 1H), 2,95-2,80 (s, 4H), 1,25-0,94 (m, 3H).

LCMS: m/z : 421,72 $[M+H]^+$.

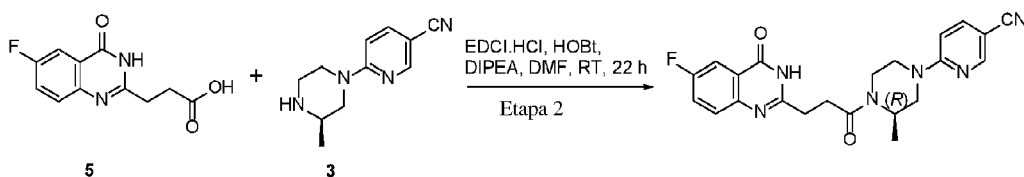
Exemplul 29a - Sinteză 6-[(3R)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

Etapa 1:



La un amestec de 6-clorpiridin-3-carbonitril (10 g, 0,06 mol) și (2R)-2-metilpiperazină (6,35 g, 0,06 mol) în acetonitril (80 ml), K_2CO_3 (12,0 g, 0,09 mol) a fost adăugat la RT. Amestecul rezultat a fost agitat la 60 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Reacția a fost adusă la TC, stinsă cu apă (150 ml) și extrasă cu EtOAc (3 X 80 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu anhidru Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 5% MeOH-DCM) pentru a da 6-[(3R)-3-metilpiperazin-1-il]-piridin-3-carbonitril (10,0 g, randament 69%).

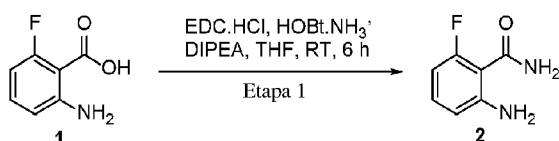
Etapa 2:



La o soluție agitată de acid 3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (5,0 g, 21,19 mmol, obținut din Exemplul 29, etapa 3) în DMF uscat (40 ml, □8 vol), 6-[(3R)-3-metilpiperazin-1-il]-piridin-3-carbonitril (4,06 g, 20 mmol), EDCI·HCl (6,08 g, 31,6 mmol), HOBT (3,43 g, 25,4 mmol) și DIPEA (14,5 ml, 84,5 mmol) au fost adăugate la 10-15 °C și agitate timp de 22 ore. Amestecul de reacție a fost stins cu apă rece ca gheața (500 ml) și extras cu EtOAc (3 X 70 ml). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu anhidru Na_2SO_4 și concentrat sub presiune redusă pentru a obține compusul brut. Compusul brut a fost agitat cu EtOAc (50 ml) timp de 1 oră la TC, filtrat și aspirat. Solidul obținut s-a făcut din nou suspensie cu EtOAc. Solidul a fost filtrat și spălat cu EtOAc (50 ml) pentru a da (50 ml) 6-[(3R)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metilpiperazin-1-il]piridin-3-carbonitril cu randament 43% (3,8 g). HPLC chirală a fost utilizată pentru a confirma că compusul este enantiomerul compusului 29. Coloană utilizată: Lux, 5 microni, celuloză-4 (250 X 4,6 mm, 5 microni, fază mobilă: 50:50 n-hexan: (0,1% HCOOH în 1:1 etanol:metanol), Debit: 1,0 ml/min, Temperatura: 25 °C. Timp de retenție pentru enantiomerul R = 12,9 min; Timp de retenție pentru compusul 29 = 13,4 min.

Exemplul 30 - Sinteză 6-[(3S)-4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metilpiperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

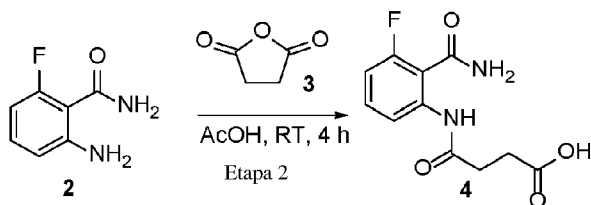
Etapa 1:



La o soluție agitată de acid 2-amino-6-fluor-benzoic (15 g, 96,77 mmol) în THF (150 ml), EDCI·HCl (27 g, 145,16 mmol), HOBT·NH₃ (21 g, 145,16 mmol) și DIPEA (52 ml, 290,32 mmol) au fost adăugați la TC și agitați timp de 6 ore (TLC a indicat conversia completă a compusului 1). Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (300 ml) și spălat cu apă (3 X 100 ml), soluție salină (1 X 150 ml). Stratul organic a fost separat, uscat pe Na_2SO_4 , substanțele volatile au fost evaporate sub presiune redusă pentru a se obține produsul brut care a fost spălat cu 10% EtOAc-hexani (2 X 150 ml), uscat sub vid inaintat pentru a se obține 2-amino-6-fluor-benzamidă (12,2 g, 80%) sub forma unui solid galben pal.

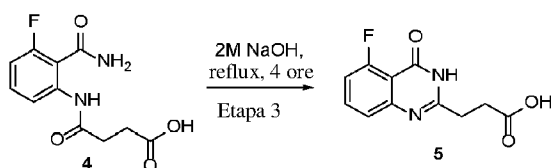
LCMS: m/z : 155,42 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Etapa 2:



La o soluție agitată de 2-amino-6-fluor-benzamidă (12 g, 77,92 mmol) în AcOH (120 ml), s-a adăugat anhidridă succinică (9,3 g, 93,50 mmol) la TC și s-a agitat timp de 4 ore (TLC indicat complet conversia materiei prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă rece cu gheață (1 X 200 ml), agitat timp de 30 min când solidul a fost precipitat. Solidul a fost filtrat, spălat cu apă (1 X 150 ml), urmat de acetonă rece (1 X 100 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a furniza acid 4-(2-carbamoyl-3-fluor-anilino)-4-oxo-butanoic (16 g, 81%) sub forma unui solid aproape alb. **LCMS:** m/z : 277,46 $[M+Na]^+$, 238,49 $[M-NH_2]^+$.

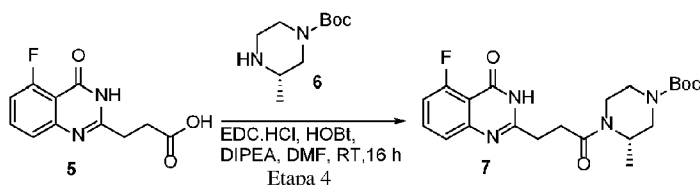
Etapa 3:



La o soluție agitată de acid 4-(2-carbamoyl-3-fluor-anilino)-4-oxo-butanoic (15,5 gm, 6,10 mmol) în NaOH 2 N apos (160 ml), s-a încălzit la 100 °C timp de 4 ore (TLC a indicat conversia completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C, acidificat cu AcOH până la pH = 5, timp în care a precipitat solidul. Solidul a fost filtrat, spălat cu apă (250 ml), urmat de acetonă rece (1 X 100 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a da acid 3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-yl)propanoic (11 g, 80%) sub forma unui solid aproape alb.

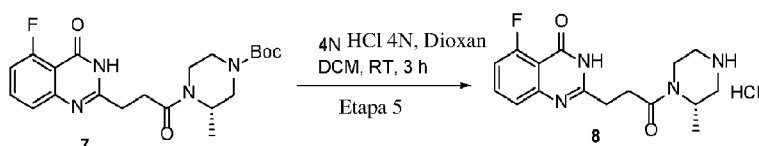
LCMS: m/z : 237,47 $[M+H]^+$.

Etapa 4:



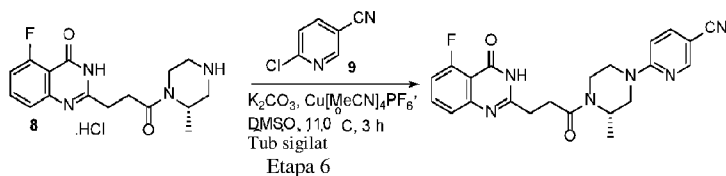
La o soluție agitată de acid 3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-yl)propanoic (5,2 g, 22 mmol) în DMF (52 ml), (3S)-3-metilpiperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (6,6 g, 33,05 mmol), EDC·HCl (6,2 g, 33,05 mmol), HOBt (4,4 g, 33,05 mmol) și DIPEA (12 ml, 66,10 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 16 ore (TLC indică conversia completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost stins cu apă rece ca gheața (160 ml), s-a agitat 30 min când a fost precipitat solidul care a fost filtrat. Filtratul a fost extras cu EtOAc (3 X 200 ml) și extractele organice combinate au fost spălate cu apă (1 X 200 ml), soluție salină (1 X 200 ml), uscat pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a da reziduu brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 60 g, MeOH-DCM 5%) pentru a se obține (3S)-4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-yl)propanoil]-3-metil-piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (4 g, 43%) sub forma unui solid crem. **LCMS:** m/z : 419,73 $[M+H]^+$.

Etapa 5



La o soluție agitată de (3S)-4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-yl)propanoil]-3-metil-piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (6 g, 14,35 mmol) în DCM (60 ml), s-a adăugat HCl 4 N în dioxan (60 ml) la TC și s-a agitat timp de 3 ore (TLC a indicat conversia completă a materiei prime). Substanțele volatile au fost evaporate sub presiune redusă, reziduu brut a fost co-distilat cu toluen (2 X 100 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a da clorhidrat de 5-fluor-2-[3-[(2S)-2-metilpiperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (4,7 g, 94%) sub forma unui solid alb. **LCMS:** m/z : 319,59 $[M+H]^+$.

Etapa 6:

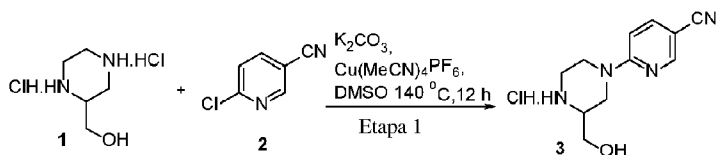


La o soluție agitată de clorhidrat de 5-fluor-2-[3-[(2S)-2-metilpiperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (5,2 g, 14,73 mmol) în DMSO (52 ml), preluat într-un tub sigilat, K_2CO_3 (4 g, 29,40 mmol), 6-clorpiridin-3-carbonitril (2 g, 14,73 mmol) și tetrakis(acetonitril)cupru (I) hexafluorofosfat (109 mg, 0,29 mmol) s-au adăugat la RT. Amestecul de reacție a fost degazat cu Argon timp de 5 min și agitat la 110 °C timp de 3 ore (LCMS a indicat conversia completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (300 ml) și extras cu EtOAc (3 X 200 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (1 X 200 ml), soluție salină (1 X 200 ml), stratul organic a fost separat, uscat pe Na_2SO_4 și concentrat sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin coloană cromatografie (100-200 silicagel, 60 g, 5% MeOH-DCM) pentru a obține un solid alb. Acest solid a fost spălat cu MeOH-EtOAc 5% pentru a furniza 6-[(3S)-4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (1,4 g, 23%) sub forma unui solid alb.

1H RMN [400 MHz, $DMSO-d_6$]: δ 12,22 (s, 1H), 8,47 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,85 (dd, $J = 9,2, 2,4$ Hz, 1H), 7,73-7,65 (m, 1H), 7,32 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,19-7,14 (m, 1H), 6,91 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,55-4,35 (m, 1H), 4,29-4,11 (m, 3H), 3,48 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,26-3,18 (m, 1H), 3,04-2,94 (m, 1H), 2,91-2,84 (m, 4H), 1,21-0,98 (m, 3H). LCMS: m/z : 421,72 $[M+H]^+$.

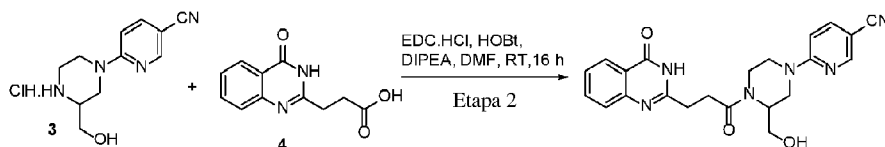
Exemplul 31 - Sinteză 6-[3-(hidroximetil)-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

Etapa 1:



La o soluție agitată de diclorhidrat de piperazin-2-ilmetanol (100 mg, 0,53 mmol) în DMSO (3 ml), 6-clorpiridin-3-carbonitril (88 mg, 0,63 mmol), K_2CO_3 (146 mg, 1,062 mmol) și $Cu(MeCN)_4PF_6$ (3,9 mg, 0,01 mmol) au fost adăugate la TC. Amestecul de reacție a fost încălzit la 140 °C timp de 12 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), stins cu apă (10 ml) și extras cu EtOAc (3 X 10 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 , concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 5 g, 5% MeOH-DCM) pentru a furniza clorhidrat de 6-[3-(hidroximetil)piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (50 mg, 32%) sub forma unui solid alb. LCMS: m/z : 219 $[M+H]^+$.

Etapa 2:

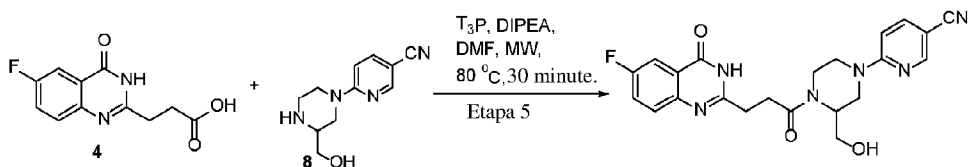


La o soluție agitată de clorhidrat de 6-[3-(hidroximetil)piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (120 mg, 0,55 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (120 mg, 0,55 mmol) în DMF uscat (2 ml), EDC·HCl (157 mg, 0,825 mmol), HOBt (113 mg, 0,825 mmol) și DIPEA (0,2 ml, 1,1 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 16 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă rece (20 ml) și extras cu EtOAc (3 X 10 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 , concentrate sub presiune redusă pentru a da reziduul care a fost purificat prin HPLC preparativă pentru a se obține 6-[3-(hidroximetil)-4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (26 mg, 11%) sub forma unui solid alb.

1H RMN [400 MHz, $DMSO-d_6$]: δ 12,17 (s, 1H), 8,49 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 8,08-8,06 (m, 1H), 7,88-7,85 (m, 1H), 7,74 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,46-7,42 (m, 1H), 6,93-6,86 (m, 1H), 5,0-4,82 (m, 2H), 4,42-3,88 (m, 4H), 3,56-3,47 (m, 2H), 2,99-2,89 (m, 6H).

LCMS: m/z : 419,76 $[M+H]^+$.

Exemplul 32 - Sinteză 6-[4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

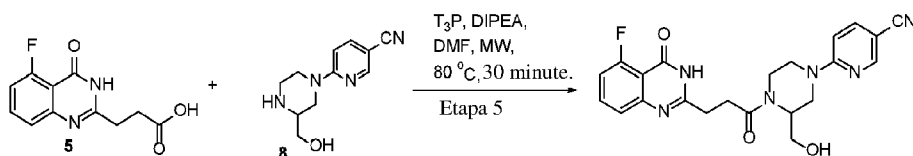


La o soluție agitată de acid 3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (300 mg, 1,27 mmol) și 6-[3-(hidroximetil)piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (277 mg, 1,27 mmol) în DMF (4 ml), s-a adăugat DIPEA (0,68 ml, 3,81 mmoli), T₃P (0,8 ml, 2,54 mmoli) la TC. Amestecul de reacție a fost încălzit la 80 °C în cuptorul cu microunde CEM timp de 30 min (TLC a indicat consumul complet al materiei prime), adus încet la TC, stins cu apă (10 ml) și extras cu EtOAc (3 X 60 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (3 X 30 ml), soluție salină (20 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut. Reziduul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 15 g, 5-10% MeOH-DCM) pentru a furniza 6-[4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (90% LCMS, 300 mg) care a fost repurificat prin HPLC Prep pentru a da compus pur (154 mg, 27%) sub formă de alb Solid.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,31 (brs, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,85 (dd, *J* = 9,2, 2,4 Hz, 1H), 7,74 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,66-7,61 (m, 2H), 6,92-6,86 (m, 1H), 5,07-4,84 (m, 2H), 4,44-4,37 (m, 1H), 4,33-4,16 (m, 4H), 3,94-3,86 (m, 1H), 3,12-2,78 (m, 6H).

LCMS: *m/z*: 437,75 [M+H]⁺.

Exemplul 33 - Sinteză 6-[4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril



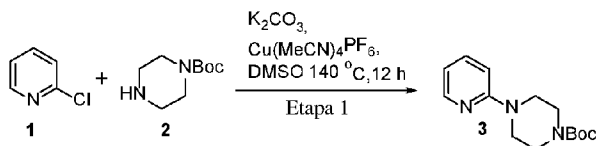
La o soluție agitată de acid 3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (400 mg, 1,69 mmol) și 6-[3-(hidroximetil)piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (369 mg, 1,69 mmol) în DMF (4 ml) la TC, s-a adăugat DIPEA (0,88 ml, 5,08 mmol) urmat de T₃P (1,0 ml, 3,39 mmoli). Amestecul de reacție a fost încălzit la 80 °C timp de 30 de minute în cuptorul cu microunde CEM (TLC a indicat consumul complet al materiei prime), adus încet la TC, stins cu apă (10 ml) și extras cu EtOAc (3 X 60 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (3 X 30 ml), soluție salină (20 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 15 g, 5-10% MeOH-DCM) pentru a da 6-[4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-(hidroximetil)piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (90% LCMS, 300 mg) care a fost purificat prin Prep-HPLC pentru a da compusul pur (160 mg, 21%) sub formă de alb Solid.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,36 (brs, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,86 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 7,70 (q, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,34 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,20-7,15 (m, 2H), 6,93-6,86 (m, 1H), 5,02-4,81 (m, 1H), 4,42-4,39 (m, 1H), 4,33-3,88 (m, 3H), 3,53-3,41 (m, 2H), 2,95-2,87 (m, 6H).

LCMS: *m/z*: 437,75 [M+H]⁺.

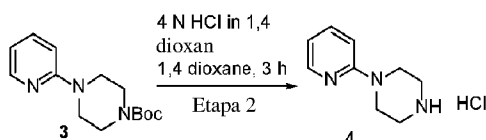
Exemplul 34 - Sinteză 2-[3-oxo-3-[4-(2-piridil)piperazin-1-il]propil]-3H-chinazolin-4-onă

Etapa 1:



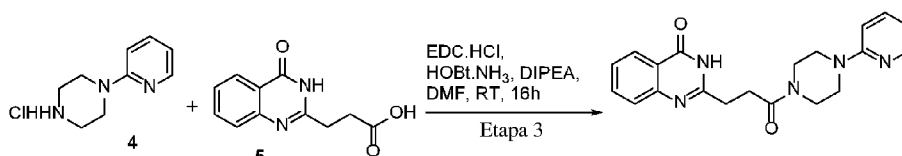
La o soluție agitată de 2-clorpiridină (750 mg, 6,60 mmol) în DMSO (10 ml), piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (1,4 g, 7,92 mmol), K₂CO₃ (1,8 g, 13,27 mmol) și Cu(MeCN)₄PF₆ (49 mg, 0,132 mmol) S-au adăugat la TC și încălzit la 140 °C timp de 12 ore (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (40 ml) și extras cu EtOAc (3 X 60 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost purificat prin cromatografie rapidă (silicagel, 100-200, 8 g, 20% EtOAc-hexani) pentru a furniza 4-(2-piridil)piperazin-1-carboxilat DE *terț*-butil (350 mg, 20%) sub formă de ulei galben.

LCMS: *m/z*: 264,55 [M+H]⁺.

Etapa 2:

La soluția agitată de 4-(2-piridil)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (350 mg, 1,32 mmol) în 1,4-dioxan (4 ml), HCl 4 N în dioxan (1,3 ml, 5,30 mmol) a fost adăugat la 0 °C sub atmosferă de argon. Amestecul de reacție a fost încălzit încet la TC și agitat timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Produsele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost spălat cu Et₂O (50 ml) pentru a se obține clorhidrat de 1-(2-piridil)piperazină (210 mg, 96%) sub forma unui solid alb.

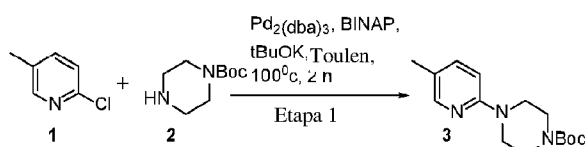
LCMS: *m/z*: 164,48 [M+H]⁺.

Etapa 3:

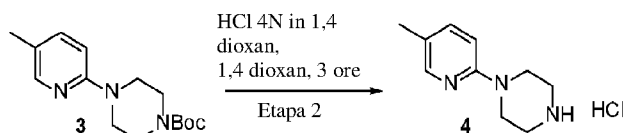
La o soluție agitată de clorhidrat de 1-(2-piridil)piperazină (100 mg, 0,609 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (121 mg, 0,609 mmol) în DMF uscat (2 ml), EDC·HCl (174 mg, 0,913 mmol), HOBT (123 mg, 0,913 mmol) și DIPEA (0,2 ml, 1,2 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 16 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă rece (20 ml), agitat timp de 15 min, precipitat un solid, care a fost filtrat, spălat cu Et₂O (2 X 5 ml) și uscat sub vid pentru a da 2-[3-[4-(2-piridil)piperazin-1-il]propil]-3H-chinazolin-4-onă (55 mg, 24%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,20 (s, 1H), 8,13-8,11 (dd, *J* = 4,8, 1,5 Hz, 1H), 8,08 (dd, *J* = 7,8, 1,2 Hz, 1H), 7,76-7,74 (m, 1H), 7,58-7,52 (m, 2H), 7,46-7,41 (m, 1H), 6,84 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,68-6,64 (m, 1H), 3,62 (s, 2H), 3,59-3,51 (m, 4H), 3,46-3,46 (m, 2H), 2,89 (brs, 4H).

LCMS: *m/z*: 364,62 [M+H]⁺.

Exemplul 35 - Sinteză 2-[3-[4-(5-metil-2-piridil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă**Etapa 1:**

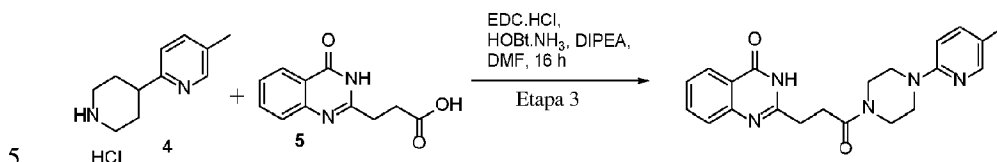
La o soluție agitată de 2-clor-5-metil-piridină (500 mg, 2,68 mmol) în toluen (10 ml), piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (409 mg, 3,22 mmol), Pd₂(dba)₃ (122 mg, 0,13 mmol), BINAP (167 mg, 0,27 mmol) și *t*-BuOK (903 mg, 8,06 mmol) au fost adăugate la RT și încălzite la 100 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrat sub presiune redusă și reziduul a fost purificat prin cromatografie rapidă (silicagel, 100-200, 8 g, 30% EtOAc-hexani) pentru a furniza 4-(5-metil-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (560 mg, 92%) sub formă de ulei galben.

Etapa 2:

La o soluție agitată de clorhidrat de 1-(5-metil-2-piridil)piperazină (560 mg, 1,80 mmol) în 1,4-dioxan (5 ml), răcit la 0 °C, HCl 4N în dioxan (1,8 ml, 7,22 mmol) s-a adăugat sub atmosferă de argon și s-a agitat timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Produsele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a da reziduul care a fost spălat cu Et₂O (50 ml) și se uscă pentru a da clorhidrat de 1-(5-metil-2-piridil)piperazină (350 mg, 98%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 9,64 (brs, 2H), 7,95 (s, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,25 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 3,90 (m, 4H), 3,22 (m, 4H), 2,22 (s, 3H).

Etapa 3:



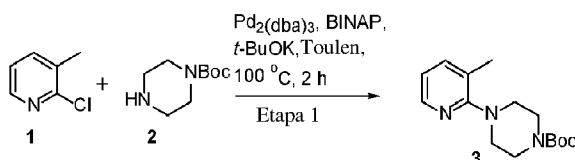
La o soluție agitată de clorhidrat de 1-(5-metil-2-piridil)piperazină (100 mg, 0,56 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (135 mg, 0,67 mmol) în DMF uscat (2 ml), EDC·HCl (161 mg, 0,84 mmol), HOBT (114 mg, 0,84 mmol) și DIPEA (0,2 ml, 1,1 mmol) s-au adăugat la RT și s-au agitat timp de 16 ore (TLC a indicat completul consumul de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (10 ml) și extras cu DCM (3 X 10 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă și reziduul a fost purificat prin cromatografie rapidă (silicagel 100-200, 4 g, 5% MeOH-DCM) pentru a se obține compusul 2-[3-[4-(5-metil-2-piridil)piperazin-1-il]-3-oxopropil]-3H-chinazolin-4-onă (50 mg, 23%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,18 (s, 1H), 8,07 (dd, *J* = 6, 0,9 Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,75-7,71 (m, 1H), 7,54 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 7,46-7,38 (m, 2H), 6,78 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 3,62-3,61 (m, 2H), 3,59-3,51 (m, 4H), 3,39-3,38 (m, 2H), 2,88 (brs, 4H), 2,14 (brs, 3H).

LCMS: *m/z*: 378,37 [M+H]⁺.

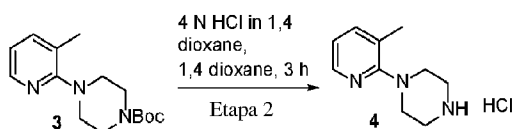
Exemplul 36 - Sinteză 2-[3-[4-(3-metil-2-piridil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă

Etapa 1:



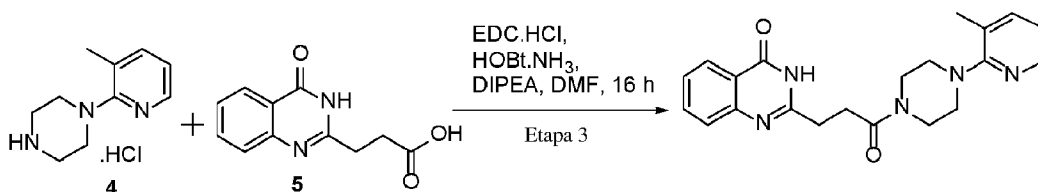
La o soluție agitată de 2-clor-3-metil-piridină (500 mg, 2,68 mmol) în toluen (10 ml), piperazin-1-carboxilat de terț-butil (409 mg, 3,22 mmol), Pd₂(dba)₃ (122 mg, 0,13 mmol), BINAP (167 mg, 0,26 mmol) și *t*-BuOK (903 mg, 8,06 mmol) au fost adăugate la RT și încălzite la 100 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a da reziduul care a fost purificat prin cromatografie rapidă (silicagel, 100-200, 8 g, 30% EtOAc-hexan) pentru a da 4-(3-metil-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (560 mg, 92%) sub formă de ulei galben.

Etapa 2:



La soluția agitată de 4-(3-metil-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de terț-butil (560 mg, 1,80 mmol) în 1,4-dioxan (5 ml), răcit la 0 °C, 4 N HCl în dioxan (1,8 ml, 7,2 mmol) s-a adăugat sub atmosferă de argon. Amestecul de reacție a fost încălzit încet la TC și agitat timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Produsele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă și reziduul a fost spălat cu Et₂O (50 ml) pentru a da clorhidrat de 1-(3-metil-2-piridil)piperazină (350 mg, 98%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără orice purificare.

Etapa 3:



La o soluție agitată de clorhidrat de 1-(3-metil-2-piridil)piperazină (100 mg, 0,46 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (135 mg, 0,67 mmol) în DMF uscat (2 ml), EDC·HCl

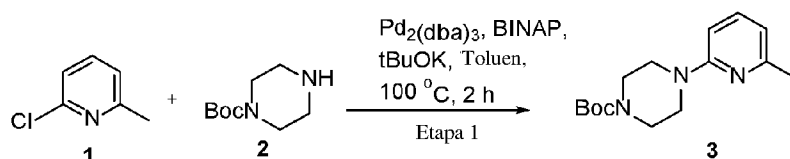
(161 mg, 0,84 mmol), HOBt (114 mg, 0,84 mmol) și DIPEA (0,2 ml, 1,1 mmol) s-au adăugat la RT și s-au agitat timp de 16 ore (TLC a indicat completul consumul de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (10 ml) și extras cu EtOAc (3 X 10 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a da reziduul care a fost purificat prin cromatografie rapidă (100-200 silicagel, 3 g, 5% MeOH-DCM) pentru a se obține compusul 2-[3-[4-(3-metil-2-piridil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (50 mg, 23%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,18 (s, 1H), 8,12-8,06 (m, 2H), 7,77-7,73 (m, 1H), 7,59-7,57 (m, 1H), 7,53-7,51 (m, 1H), 7,46-7,42 (m, 1H), 6,96-6,93 (m, 1H), 3,66 (brs, 2H), 3,59 (brs, 2H), 3,11 (brs, 2H), 2,98 (brs, 2H), 2,89 (s, 4H), 2,26 (s, 3H),

LCMS: *m/z*: 378,61 [M+H]⁺.

Exemplul 37 - Sinteză 2-[3-[4-(6-metil-2-piridil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă

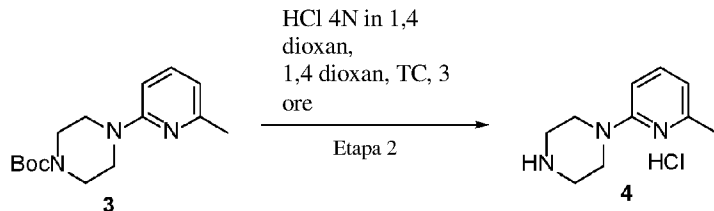
Etapa 1:



La o soluție agitată de 2-clor-6-metil-piridină (500 mg, 2,68 mmol) în toluen (10 ml), piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (409 mg, 3,22 mmol), Pd₂(dba)₃ (122 mg, 0,13 mmol), BINAP (167 mg, 0,26 mmol), tBuOK (903 mg, 8,06 mmol) au fost adăugate la RT. Amestecul de reacție a fost încălzit la 100 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), diluat cu apă (20 ml), extras cu EtOAc (3 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost purificat prin cromatografie rapidă (silicagel, 100-200, 8 g, 30% EtOAc-hexan) pentru a da 4-(6-metil-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (560 mg, 75%) sub forma unui solid galben.

LCMS: *m/z*: 278,59 [M+H]⁺.

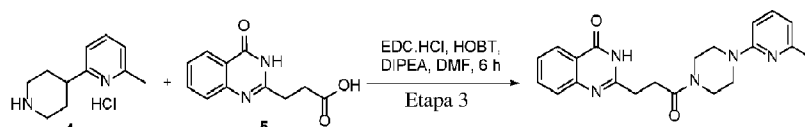
Etapa 2:



La soluția agitată de 4-(6-metil-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (560 mg, 1,80 mmol) în 1,4-dioxan (5 ml), răcit la 0 °C, HCl 4 N în dioxan (1,8 ml, 7,22 mmol) s-a adăugat sub atmosferă de argon. Amestecul de reacție a fost adus încet la TC și agitat timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Produsele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă și reziduul a fost spălat cu Et₂O (50 ml) și EtOAc (50 ml) pentru a se obține clorhidrat de 1-(6-metil-2-piridil)piperazină (350 mg, 98%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS: *m/z*: 178,48 [M+H]⁺.

Etapa 3:



La o soluție agitată de compus 5 (100 mg, 0,45 mmol), clorhidrat de 1-(6-metil-2-piridil)piperazină (81 mg, 0,45 mmol) în DMF (2 ml), EDC·HCl (131 mg, 0,68 mmol), HOBt (92 mg, 0,68 mmol) și DIPEA (0,16 ml, 0,91 mmol) au fost adăugate. Amestecul de reacție a fost agitat la TC timp de 6 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), a fost diluat cu apă rece (30 ml) și agitat timp de 10 minute, timp în care a fost precipitat solidul. Solidul a fost filtrat, spălat cu EtOAc (3 X 10 ml) și uscat sub vid pentru a da 2-[3-[4-(6-metil-2-piridil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (62 mg, 36%) sub forma unui solid alb.

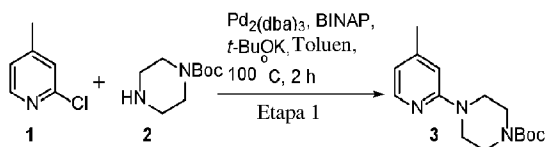
¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,19 (s, 1H), 8,07 (dd, *J* = 7,6, 1,2 Hz, 1H), 7,76-7,72 (m, 1H), 7,545 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 6,62 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,53 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 3,63-3,61 (m, 2H), 3,57-3,53 (m, 4H), 3,45-3,43 (m, 2H), 2,89 (s, 4H), 2,31 (s, 3H).

LCMS: m/z : 378,57 $[M+H]^+$.

Exemplul 38 - Sinteză 2-[3-[4-(4-metil-2-piridil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă

Etapa 1:

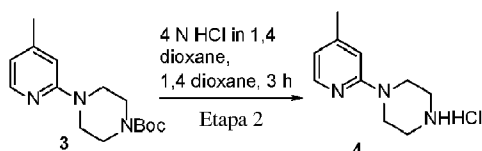
5



La o soluție agitată de 2-clor-4-metil-piridină (200 mg, 1,07 mmol) in DMSO (3 ml), piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (161 mg, 1,29 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (49 mg, 0,05 mmol), BINAP (66 mg, 0,107 mmol) și *t*-BuOK (360 mg, 3,22 mmol) au fost adăugate la RT. Amestecul de reacție a fost încălzit la 100 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), stins cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 , concentrate sub presiune redusă și reziduul a fost purificat prin cromatografie rapidă (silicagel 100-200, 10 g, 30% EtOAc-hexan) pentru a furniza 4-(4-metil-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (240 mg, 80%) sub formă de ulei galben.

15

Etapa 2:

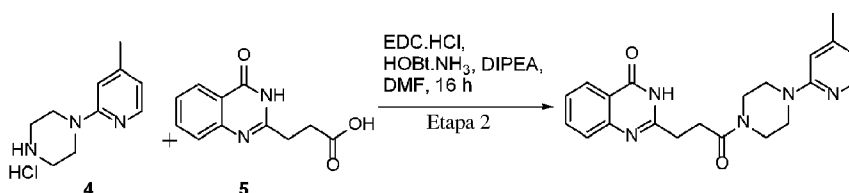


La soluția agitată de 4-(4-metil-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (560 mg, 1,805 mmol) in 1,4-dioxan (5 ml), răcit la 0 °C, HCl 4 N în dioxan (1,8 ml, 7,220 mmol) s-a adăugat sub atmosferă de argon. Amestecul de reacție a fost încălzit la TC și agitat timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Produsele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă, reziduul a fost spălat cu Et_2O (50 ml) și se usucă pentru a se obține clorhidrat de 1-(4-metil-2-piridil)piperazină (350 mg, randament 98%) sub forma unui solid alb.

20

Etapa 3:

25



La o soluție agitată de clorhidrat de 1-(4-metil-2-piridil)piperazină (100 mg, 0,564 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (135 mg, 0,677 mmol) in DMF uscat (2 ml), EDC·HCl (161 mg, 0,84 mmol), HOBt (114 mg, 0,84 mmol) și DIPEA (0,2 ml, 1,1 mmol) s-au adăugat la RT și s-au agitat timp de 16 ore (TLC a indicat completul consumul de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (10 ml) și extras cu DCM (3 X 10 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 , concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie rapidă (silicagel, 100-200, 8 g, 5% MeOH-DCM) pentru a obține 2-[3-[4-(4-metil-2-piridil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (50 mg, 23%) sub forma unui solid alb.

30

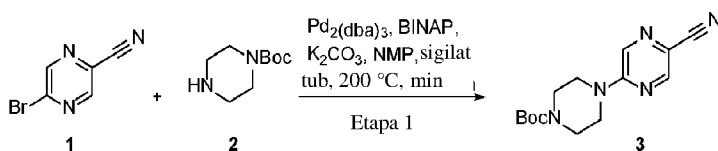
1H RMN [400 MHz, $DMSO-d_6$]: δ 12,18 (s, 1H), 8,08-8,06 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,99-7,97 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 7,77-7,73 (m, 1H), 7,54 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7,46-7,42 (m, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,51 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 3,62-3,43 (m, 8H), 2,89 (s, 4H), 2,22 (s, 3H).

LCMS: m/z : 378,63 $[M+H]^+$.

Exemplul 39 - Sinteză 5-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]pirazin-2-carbonitril

40

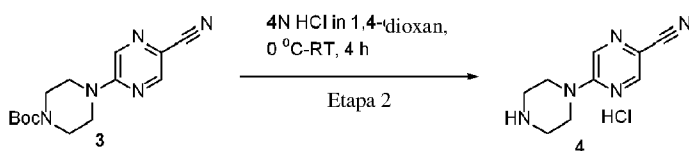
Etapa 1:



La o soluție agitată de 5-bromopirazin-2-carbonitril (350 mg, 1,90 mmol) în NMP (4 ml), piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (424 mg, 2,28 mmol), Pd₂(dba)₃ (35 mg, 0,04 mmol), X-Phos (72 mg, 0,152 mmol) și K₂CO₃ (367 mg, 2,66 mmol) au fost adăugate la TC. Amestecul de reacție a fost încălzit la 200 °C timp de 20 min (TLC a indicat consumul complet al materiei prime). După terminarea reacției, amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (50 ml), se spală cu apă rece (2 X 20 ml), stratul organic a fost uscat pe Na₂SO₄ și concentrat sub presiune redusă pentru a da compusul brut. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie rapidă (100-200 silicagel, 5 g, 30% EtOAc-hexan) pentru a furniza 4-(5-cianopirazin-2-il)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (320 mg, 58 %) sub forma unui solid alb.

LCMS: *m/z*: 290,61 [M+H]⁺.

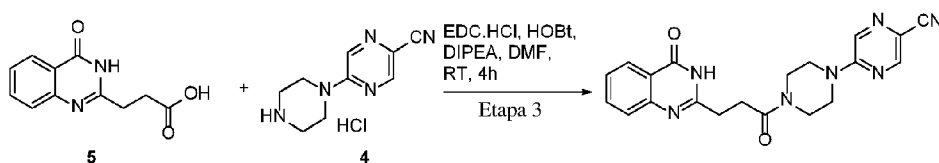
Etapa 2:



La o soluție agitată de 4-(5-cianopirazin-2-il)piperazin-1-carboxilat *terț*-butil (310 mg, 1,07 mmol) în 1,4-dioxan (4 ml), răcit la 0 °C, HCl 4 N în 1,4-dioxan (1,07 ml, 4,29 mmol) s-a adăugat. Amestecul de reacție a fost încălzit la TC și agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub vid pentru a da clorhidrat de 5-piperazin-1-ilpirazin-2-carbonitril brut (210 mg, cantitativ) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare suplimentară.

LCMS: *m/z*: 190,46 [M+H]⁺.

Etapa 3:



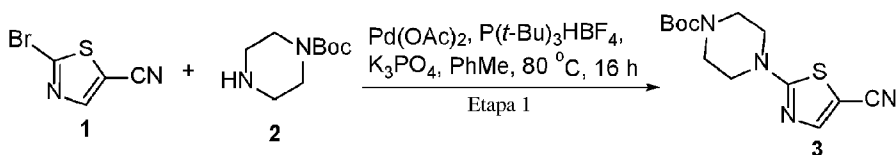
La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (200 mg, 0,917 mmol) și clorhidrat de 5-piperazin-1-ilpirazin-2-carbonitril (208 mg, 1,10 mmol) în DMF (4 ml), EDCI·HCl (262 mg, 1,37 mmol), HOBT (185 mg, 1,37 mmol) și DIPEA (0,64 ml, 3,66 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de pornire material). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă rece (40 ml) și extras cu EtOAc (3 X 40 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost purificat prin cromatografie rapidă (100-200 silicagel, 5 g, 5% MeOH-DCM) pentru a se obține 5-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]pirazin-2-carbonitril (70 mg, 20%) sub forma unui solid aproape alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,19 (s, 1H), 8,58 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 8,43 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 8,07 (dd, *J* = 1,6, 8,0 Hz, 1H), 7,77-7,72 (m, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,47-7,43 (m, 1H), 3,87-3,83 (m, 2H), 3,76-3,66 (m, 4H), 3,63-3,57 (m, 2H), 2,90 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 390,68 [M+H]⁺.

Exemplul 40 - Sinteză 2-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]tiazol-5-carbonitril

Etapa 1:



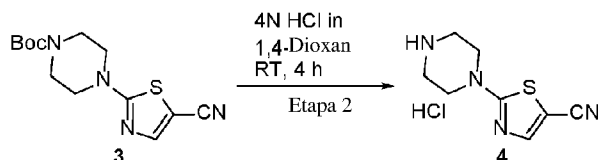
La o soluție agitată de 2-bromotiazol-5-carbonitril (200 mg, 1,05 mmol), piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (800 mg, 4,3 mmol), fosfat de potasiu tribazic (260 mg, 1,22 mmol), trimer acetat de paladiu (40 mg, 0,06 mmol), tetrafluorborat de tri-*terț*-butilfosfină (20 mg, 0,06 mmol) în toluen (4 ml), luat într-un flacon de microunde sub atmosferă de argon a fost iradiat timp de 30 de minute la 80 °C (TLC a indicat consumul complet al materialului de pornire). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (10 ml) și extras cu EtOAc (3 x 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (10 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă. Produsul brut obținut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 20 g, 10-30% EtOAc-hexan)

pentru a se obține 4-(5-cianotiazol-2-il)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (200 mg, 64%) sub forma unui solid alb.

LCMS (ESI+): m/z : 295,60 $[M+H]^+$.

Etapa 2:

5



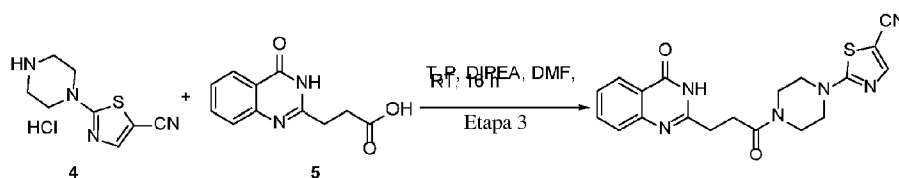
La o soluție agitată de 4-(5-cianotiazol-2-il)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (200 g, 0,680 mmol) în dioxan (10 ml), s-a adăugat HCl 4 N în dioxan (5 ml) la RT și agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost spălat cu EtOAc (2 X 15 ml), urmat de dietil eter (15 ml) pentru a da clorhidrat de 2-piperazin-1-iltiazol-5-carbonitril (155 mg, 98%) sub forma unui solid alb.

10

LCMS (ESI+): m/z : 195,44 $[M+H]^+$.

Etapa 3:

15



La o soluție agitată de clorhidrat de 2-piperazin-1-iltiazol-5-carbonitril (155 mg, 0,55 mmol) în DMF anhidru, DIPEA (0,3 ml, 1,74 mmol), acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (120 mg, 0,67 mmol) și soluție 50% T₃P în EtOAc (0,53 ml, 0,82 mmol) au fost adăugați sub agitare la TC timp de 16 ore (LCMS a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu gheață-apă (60 ml), extras cu DCM (2 X 50 ml), extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (25 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă. Reziduul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 200 g, 2-5% MeOH-DCM) pentru a da 2-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]tiazol-5-carbonitril (50 mg, 23%) sub forma unui solid galben pal.

20

25

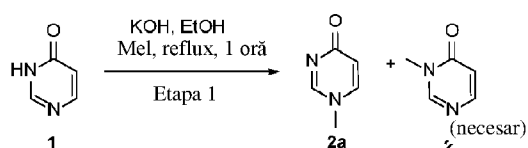
¹H RMN [400 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,18 (brs, 1H), 8,09-8,05 (m, 2H), 7,77-7,72 (m, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,45 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 3,75-3,55 (m, 6H), 3,53-3,50 (m, 2H), 2,89 (s, 4H).

LCMS (ESI+): m/z : 395,62 $[M+H]^+$.

Exemplul 41 - Sinteză 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

30

Etapa 1:



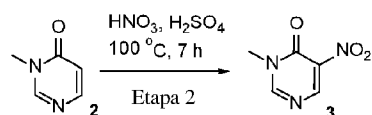
La o soluție agitată de KOH (5,82 g, 0,104 mol) în EtOH (80 ml), 1H-pirimidin-6-onă (10 g, 0,104 mol) urmată de MeI (7,20 ml, 0,114 mol) s-au adăugat la RT. Amestecul de reacție a fost refluxat timp de 2 ore (TLC a indicat 10-15% din materia primă nereacționată). O cantitate suplimentară de MeI (1,5 g, 0,01 mol) a fost adăugată la reflux timp de 1 oră (TLC a indicat consumul complet al materiei prime) și a fost adusă încet la TC. Amestecul de reacție a fost filtrat, spălat cu DCM (100 ml) și filtratul a fost concentrat sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 200 g, 2-5% MeOH-DCM) pentru a da 3-metilpirimidin-4-onă (4,5 g, 39%) sub forma unui solid aproape alb.

35

40

LCMS (ESI+): m/z : 111,30 $[M+H]^+$.

Etapa 2:

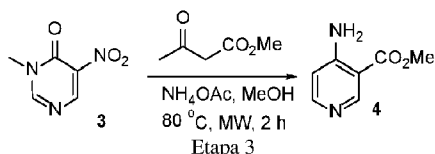


45

La acidul sulfuric (50 ml), răcit la 10 °C, s-a adăugat 3-metilpirimidin-4-onă (5,5 g, 50,00 mol) urmat de fumarea acidului azotic (6,6 ml, 157,15 mol). Amestecul de reacție a fost adus încet la TC, încălzit la 100 °C timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), a fost adus din nou la RT și turnat în gheață zdrobită (500 g); apoi s-a adăugat lent soluție apoasă 50% de hidroxid de sodiu până la pH = 5. Amestecul de reacție a fost extras cu CHCl₃ (3 X 250 ml); extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost recristalizat din EtOH (15 ml) pentru a se obține 3-metil-5-nitro-pirimidin-4-onă (2 g, 26 %) sub forma unui solid galben.

LCMS (ESI+): *m/z*: 156,36 [M+H]⁺.

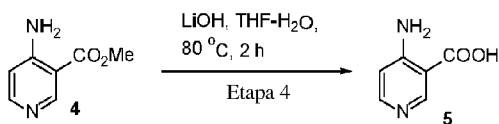
Etapa 3:



Intr-un flacon cu microunde CEM, 3-metil-5-nitro-pirimidin-4-onă (300 mg, 1,94 mmol), acetoacetat de metil (2,7 g, 23,27 mmol), acetat de amoniu (1,79 g, 23,22 mmol) și MeOH (8,0 ml) au fost adăugate și iradiate la 80 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 40 g, 5-10% MeOH-DCM) pentru a da 4-aminopiridin-3-carboxilat de metil; acest amestec de reacție a fost efectuat în 6 loturi (câte 300 mg fiecare), materialul brut după prelucrare a fost combinat și purificat pentru a da 4-aminopiridin-3-carboxilat de metil (900 mg, 51%) sub forma unui solid galben.

LCMS (ESI+): *m/z*: 153,43 [M+H]⁺.

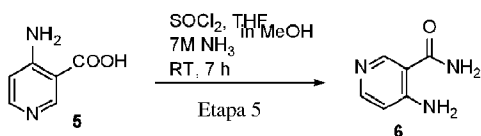
Etapa 4:



La o soluție agitată de metil 4-aminopiridină-3-carboxilat (2 g, 13,15 mmol) în EtOH-apă (120 ml, 1:1), s-a adăugat LiOH·H₂O (1,21 g, 28,80 mmol) la TC și încălzit la 80 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost dizolvat în apă (30 ml), spălat cu EtOAc (2 X 25 ml) pentru a îndepărta impuritățile nepolare. Stratul apos a fost acidificat cu HCl 1 N până la pH = 1 și extras cu EtOAc (2 X 10 ml). Extractele organice combinate au fost concentrate sub presiune redusă pentru a da rezidul brut care a fost cristalizat din MeOH (20 ml) pentru a obține acid 4-aminopiridin-3-carboxilic (1 g, 55%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS (ESI+): *m/z*: 139,31 [M+H]⁺.

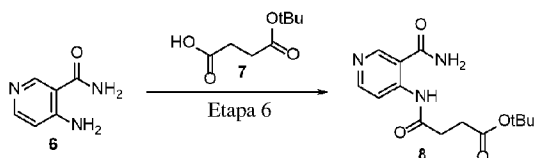
Etapa 5



La o soluție agitată de acid 4-aminopiridin-3-carboxilic (3 g, 0,013 mol) în THF (50 ml), SOCl₂ (3,6 ml, 0,045 mol) și DMF catalitic (30 μL) au fost adăugați la RT și agitați pentru 3 ore sub atmosferă de argon (TLC a indicat consumul complet al materiei prime). Produsele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost dizolvat în THF (30 ml), răcit la 0 °C și NH₃-metanol 7 N (22 ml) s-a adăugat. Amestecul de reacție a fost încălzit încet la TC și agitat timp de 4 ore, precipitatul a fost filtrat, filtratul a fost concentrat sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 60 g, 10% MeOH-10% NH₄OH-DCM) pentru a furniza 4-aminopiridină-3-carboxamidă (475 mg, 27%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără nici o purificare.

LCMS (ESI+): *m/z*: 138,33 [M+H]⁺.

Etapa 6:

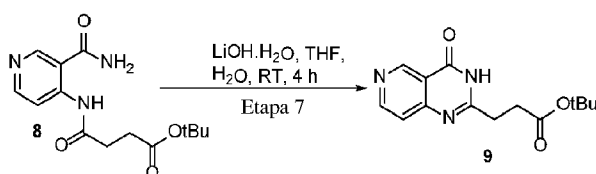


La o soluție agitată de 4-aminopiridin-3-carboxamidă (500 mg, 3,65 mmol), acid 4-*terț*-butoxi-4-oxo-butanoic (762 mg, 4,38 mmol), TEA (1 ml, 7,29 mmol) în DMF (10 ml), soluție T₃P 50% în EtOAc (3,5 ml, 5,5 mmol) a fost adăugată la RT și agitată timp de 12 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (50 ml) și extras cu DCM (2 X 35 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (30 ml), uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 20 g, 10% MeOH-10 % NH₄OH-DCM) pentru a se obține 4-[(3-carbamoyl-4-piridil)amino]-4-oxo-butanoat de *terț*-butil (500 mg, 47%) sub forma unui solid de culoare galbenă.

¹H RMN [400 MHz, CDCl₃] δ 11,74 (s, 1H), 9,07 (s, 1H), 8,69 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 8,52 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 7,11 (brs, 1H), 5,83 (brs, 1H), 2,75-2,70 (m, 2H), 2,68-2,63 (m, 2H), 1,44 (s, 9H).

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 316,59 [M+Na]⁺.

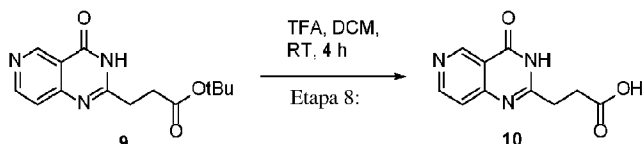
Etapa 7:



La o soluție agitată de 4-[(3-carbamoyl-4-piridil)amino]-4-oxo-butanoat de *terț*-butil (900 mg, 3,071 mmol) în THF (31 ml), apă (0,9 ml), LiOH·H₂O (645 mg, 15,35 mmol) au fost adăugate la 0 °C. Amestecul de reacție a fost adus încet la TC, agitat timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă) și extras cu EtOAc (2 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (30 ml), uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost spălat cu pentan (2 X 15 ml) pentru a obține *terț*-butil 3-(4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidin-2-il)propanoat (700 mg, 83%) sub forma unui solid galben pal.

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 276,48 [M+H]⁺.

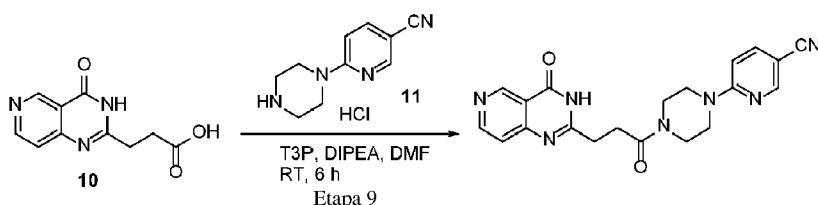
Etapa 8:



La o soluție agitată de 3-(4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidin-2-il)propanoat de *terț*-butil (700 mg, 2,545 mmol) în DCM (26 ml), TFA (5,7 ml), 74,50 mmol) s-a adăugat la TC și s-a agitat timp de 4 ore (LCMS a indicat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă, reziduul a fost co-distilat cu toluen (2 X 10 ml) pentru a da produsul brut care a fost triturat cu pentan (2 X 20 ml) pentru a da acid 3-(4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidin-2-il)propanoic (351 mg, 63%) sub forma unui solid galben pal.

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 220,42 [M+H]⁺.

Etapa 9



La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-pirido [4,3-d]pirimidin-2-il)propanoic (250 mg, 1,141 mmol), clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (256 mg, 1,361 mmol) în DMF (2,5 ml), DIPEA (0,4 ml, 2,325 mmol) și soluție 50% T₃P în EtOAc (0,75 ml, 1,711 mmol) s-au adăugat. Amestecul de reacție a fost agitat la RT timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (25 ml), extras cu DCM (3 X 30 ml), extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (10 ml) și uscate pe Na₂SO₄. Solventul a fost

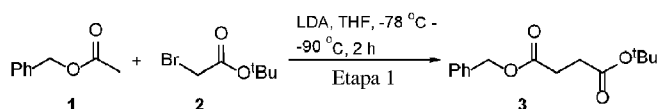
concentrat sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 10 g, 10% MeOH-5% NH₄OH-DCM) pentru a se obține 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pirido[4,3-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (45 mg, 10%) sub forma unui solid aproape alb.

- 5 ¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,57 (brs, 1H), 9,22 (s, 1H), 8,74 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 8,50 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,88 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 7,45 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,78-3,76 (m, 2H), 3,64 (t, *J* = 4,8 Hz, 4H), 3,57-3,54 (m, 2H), 3,31 (s, 4H).

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 390,63 [M+H]⁺.

Exemplul 42 - Sinteză 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pirido[2,3-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

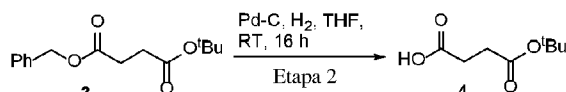
Etapa 1:



O soluție de DIPEA (4,16 ml, 29,3 mmol) în THF uscat (60 ml) a fost răcită la -78 °C într-o baie de gheață carbonică-acetonă. S-a adăugat prin picurare *n*-BuLi în hexani (1,6 M, 18,3 ml, 29,3 mmol) la -78 °C și s-a agitat timp de 30 min. Acetat de benzil (3,8 ml, 26,6 mmol) în THF uscat (30 ml) a fost adăugat prin picurare în balonul de reacție, menținând temperatura sub -78 °C. Când adăția a fost completă, balonul a fost transferat într-o baie de gheață carbonică-Et₂O și se agită până când temperatura scade sub -90 °C. 2-bromoacetat de *terț*-Butil (5,9 ml, 40,0 mmol) în THF (30 ml) a fost adăugat prin picurare la soluția de mai sus și agitat timp de 1 oră la -90 °C. Amestecul de reacție a fost stins prin adăugare lentă de apă (100 ml), încălzit la TC și se extrage cu Et₂O (2 X 150 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, filtrate și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 60 g, 5% EtOAc-hexan) pentru a se obține benzil butanedioat de *terț*-butil (2,3 g, 27%) sub formă de ulei galben pal.

LCMS: *m/z*: 287,6 [M+Na]⁺.

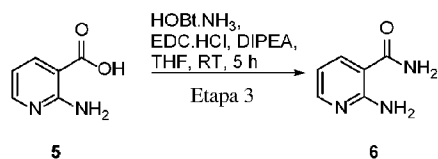
Etapa 2:



La o soluție agitată de benzil butandioat de *terț*-butil (2,3 g, 8,71 mmol) în THF uscat (30 ml), 10% s-a adăugat Pd-C (0,23 g) și se agită sub atmosferă de H₂ (balon) timp de 16 ore (TLC consumul complet indicat de materie primă). Amestecul de reacție a fost filtrat prin Celită și spălat cu CHCl₃ (100 ml). Filtratul a fost concentrat *in vid* pentru a da reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 30 g, 35% EtOAc-hexan) pentru a se obține acid 4-*terț*-butoxi-4-oxo-butanoic (0,8 g, 52%) ca un ulei incolor.

¹H RMN [400 MHz, CDCl₃]: δ 2,65-2,61 (m, 2H), 2,56-2,52 (m, 2H), 1,44 (s, 9H).

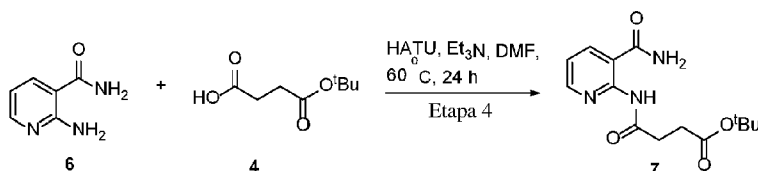
Etapa 3:



La o soluție agitată de acid 2-aminopiridin-3-carboxilic (0,9 g, 6,52 mmol) în THF (15 ml), s-a adăugat EDC·HCl (1,86 g, 9,78 mmol), HOBt·NH₃ (1,46 g, 9,78 mmol) și DIPEA (4,67 ml, 26,08 mmol) la RT. Amestecul de reacție a fost agitat la TC timp de 5 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), a fost diluat cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 X 75 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (2 X 40 ml), soluție salină (40 ml), separate, uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 20 g, 60% EtOAc-hexan) pentru a da 2-aminopiridin-3-carboxamidă (0,4 g, 45%) sub forma unui solid alb.

LCMS: *m/z*: 138,3 [M+H]⁺.

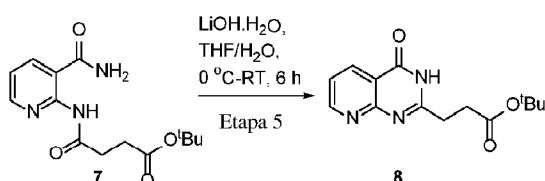
Etapa 4



La o soluție agitată de 2-aminopiridin-3-carboxamidă (0,35 g, 2,55 mmol) în DMF (15 ml), acid 4-*tert*-butoxi-4-oxo-butanoic (0,66 g, 3,83 mmol), HATU (1,45 g, 3,83 mmol) și Et₃N (0,7 ml, 5,04 mmol) au fost adăugate la TC. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la 60 °C timp de 24 de ore (TLC a indicat consumul complet de SM). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 x 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (2 X 30 ml), soluție salină (30 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 10 g, 2% MeOH-DCM) pentru a furniza 4-[(3-carbamoi-2-piridil)amino]-4-oxo-butanoat de *tert*-butil (0,22 g, 26%) sub forma unui solid galben pal.

LCMS: *m/z*: 294,6 [M+H]⁺.

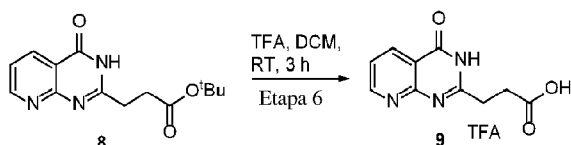
Etapa 5



La o soluție agitată de 4-[(3-carbamoi-2-piridil)amino]-4-oxo-butanoat de *tert*-butil (0,22 g, 0,75 mmol) în THF (8 ml) și apă (0,3 ml) la 0 °C, s- a adăugat LiOH·H₂O (0,16 g, 3,88 mmol). Amestecul de reacție a fost adus la TC, agitat timp de 6 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), a fost diluat cu apă (10 ml) și extras cu EtOAc (2 X 75 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (20 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a furniza 3-(4-oxo-3H-pirido[2,3-d]pirimidin-2-il)propanoat de *tert*-butil (140 mg, 63%) sub forma unui solid galben pal.

LCMS: *m/z*: 276,4 [M+H]⁺.

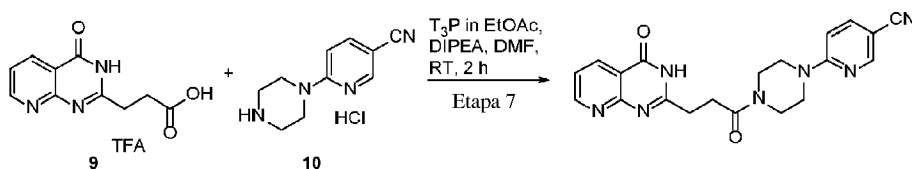
Etapa 6



La o soluție agitată de 3-(4-oxo-3H-pirido [2,3-d]pirimidin-2-il)propanoat de *tert*-butil (0,14 g, 0,50 mmol) în DCM (5 ml), TFA (1,1 ml, 15,0 mmol) s-a adăugat la TC și s-a agitat timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă pentru a da sare a acidului trifluoracetic al acidului 3-(4-oxo-3H-pirido [2,3-d]pirimidin-2-il)propanoic (0,14 g, 75%), care a fost transportată la etapa următoare fără purificare suplimentară ca lichid galben pal.

LCMS: *m/z*: 220,3 [M+H]⁺.

Etapa 7:



La o soluție agitată de sare a acidului trifluoracetic al acidului 3-(4-oxo-3H-pirido[2,3-d]pirimidin-2-il)propanoic (0,087 g, 0,39 mmol) și clorhidrat de 6-piperazin-1-il-piridin-3-carbonitril (0,133 g, 0,59 mmoli) în DMF (4 ml), DIPEA (0,14 ml, 0,79 mmoli) și soluție 50% T₃P în EtOAc (0,5 ml, 0,78 mmoli) au fost adăugați la RT și agitați timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (10 ml) și extras cu DCM (3 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (10 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate pentru a da produsul brut (150 mg, 54% LCMS) care a fost purificat preparativ pentru a

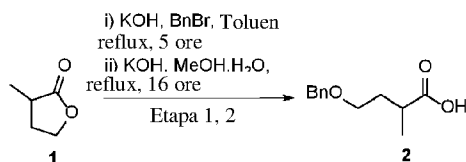
obține 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pirido[2,3-d]pirimidin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (29 mg, 18%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,49 (brs, 1H), 8,86 (dd, *J* = 4,0, 1,6 Hz, 1H), 8,50 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 8,45 (dd, *J* = 7,6, 1,6 Hz, 1H), 7,88 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 7,47 (dd, *J* = 8,0, 4,8 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,83-3,77 (m, 2H), 3,69-3,62 (m, 4H), 3,58-3,53 (m, 2H), 2,93 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 390,67 [M+H]⁺.

Exemplul 43 - Sinteză 6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)butanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

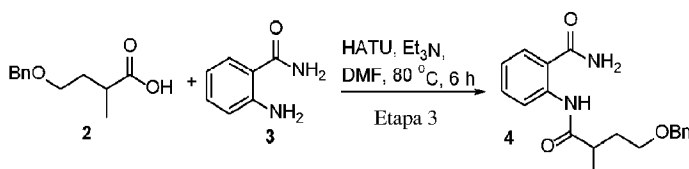
Etapa 1:



S-a adăugat pulbere de KOH (6,0 g, 0,10 mol) la o soluție de 3-metiltetrahidrofuran-2-onă (2,0 g, 0,02 mol) și bromură de benzil (14,0 g, 0,08 mol) în toluen (36 ml). Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la 110 °C timp de 5 ore și toluenul a fost îndepărtat sub vid pentru a da reziduul brut care a fost dizolvat în MeOH (40 ml). La soluția de mai sus s-au adăugat KOH (2,0 g, 0,035 mol) și apă (20 ml) și amestecul de reacție a fost refluxat timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost adus la TC, spălat cu Et₂O (2 X 50 ml), stratul apos se acidificat la pH = 2-3 cu HCl conc. și extras cu DCM (3 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, filtrate și concentrate sub vid pentru a obține acid 4-benziloxi-2-metil-butanoic (3,4 g, 81%) sub forma unui ulei galben pal.

¹H RMN [400 MHz, CDCl₃]: δ 7,37-7,26 (m, 5H), 4,53-4,50 (m, 2H), 3,54 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 2,73-2,64 (m, 1H), 2,09-2,00 (m, 1H), 1,76-1,68 (m, 1H), 1,21 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H).

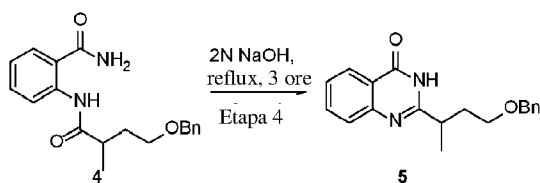
Etapa 2:



La o soluție agitată de 2-aminobenzamidă (0,3 g, 2,20 mmol) în DMF (5 ml), acid 4-benziloxi-2-metil-butanoic (0,59 g, 2,83 mmol), HATU (1,25 g, 3,28 mmol) și Et₃N (0,61 ml, 4,35 mmol) s-au adăugat la TC. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la 80 °C timp de 6 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 x 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (2 X 30 ml), soluție salină (30 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține un reziduu brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 20 g, 30% EtOAc-hexani) pentru a furniza 2-[(4-benziloxi-2-metil-butanoil)amino]benzamidă (0,63 g, 79%) sub formă de lichid incolor.

LCMS: *m/z*: 327,6 [M+H]⁺.

Etapa 3:

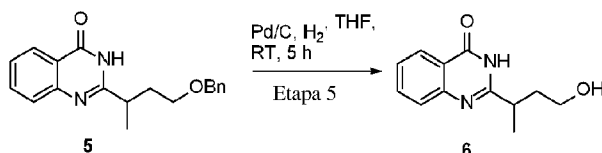


2-[(4-Benziloxi-2-metil-butanoil)amino]benzamidă (0,63 g, 1,93 mmol) în NaOH 2 N apos (12 ml) a fost agitat la 100 °C timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C și acidificat cu HCl 2 N apos până la pH = 3-4 și extras cu EtOAc (3 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (30 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a da 2-(3-benziloxi-1-metil-propil)-3H-chinazolin-4-onă (450 mg, 67%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără nicio purificare.

LCMS: *m/z*: 309,5 [M+H]⁺.

Etapa 4

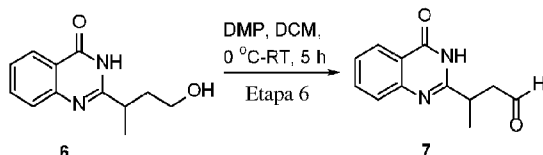
45



La o soluție agitată de 2-(3-benziloxi-1-metil-propil)-3H-chinazolin-4-onă (0,55 g, 1,78 mmol) în THF (15 ml) 10% catalizator Pd-C (50% umed, 1,0 g) s-a adăugat și se agită sub atmosferă de H₂ (balon) timp de 5 ore (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost filtrat prin Celită și a fost spălat cu THF (30 ml). Filtratul a fost concentrat *in vid* pentru a da 2-(3-hidroxi-1-metil-propil)-3H-chinazolin-4-onă (0,3 g, 78%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS: m/z : 219,49 [M+H]⁺.

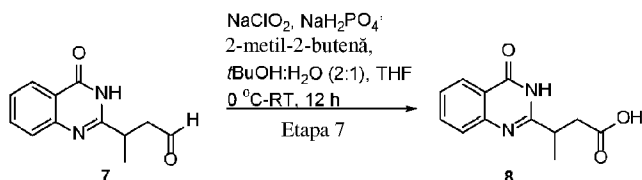
Etapa 5:



La o soluție agitată de 2-(3-hidroxi-1-metil-propil)-3H-chinazolin-4-onă (0,40 g, 1,83 mmol) în DCM (25 ml), răcită la 0 °C, periodinan Dess-Martin (0,85 g, 2,00 mmol) s-a adăugat. Amestecul de reacție a fost încălzit încet la TC și agitat timp de 5 ore (TLC a indicat consumul complet al materiei prime). Amestecul de reacție a fost stins cu Na₂S₂O₃ apos saturat și extras cu EtOAc (2 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (25 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate *sub vid* pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană cu silicagel (gel de silice 100-200, 10 g, 15% EtOAc- Hexan) pentru a furniza 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)butanal (220 mg, 56%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 217,5 [M+H]⁺.

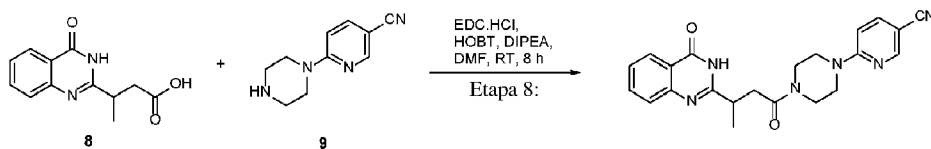
Etapa 6



La o soluție agitată de 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)butanal (0,20 g, 0,92 mmol) în THF (10 ml), la 5 °C, t-BuOH (5 ml), apă (1,5 ml) și 2-metil-2-butenă (0,51 g, 7,28 mmol) urmat de NaClO₂ (0,25 g, 2,77 mmol) și NaH₂PO₄·H₂O (0,43 g, 2,75 mmol). Amestecul de reacție a fost adus încet la TC, agitat timp de 12 ore, diluat cu apă (15 ml) și extras cu EtOAc (2 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (25 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate *sub vid* pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 10 g, 10% MeOH-DCM) pentru a furniza acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)butanoic (150 mg, 52%) care a fost dus la etapa următoare fără purificare ulterioară.

LCMS: m/z : 233,4 [M+H]⁺.

Etapa 7:



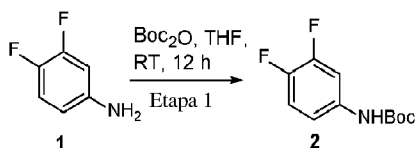
La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)butanoic (0,15 g, 0,64 mmol) și 6-piperazin-1-ilpiridin-3-carbonitril (0,15 g, 0,71 mmol) în DMF (5 ml), EDC·HCl (0,18 g, 0,96 mmol), HOBT (0,13 g, 0,96 mmol) și DIPEA (0,34 ml, 1,93 mmol) au fost adăugate sub atmosferă de argon și agitate la TC timp de 8 ore (TLC a indicat consumul complet a materialului de pornire). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă și reziduul a fost diluat cu apă (30 ml) și extras cu EtOAc (3 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (2 X 25 ml), soluție salină (20 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut (100 mg, 71% LCMS), care a fost purificat preparativ pentru a furniza 6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)butanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril (28 mg, 9%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,19 (brs, 1H), 8,50 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 8,06 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,87 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,75-7,70 (m, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,43 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,76-3,66 (m, 4H), 3,62-3,51 (m, 4H), 3,25-3,08 (m, 2H), 2,64-2,59 (m, 1H), 1,26 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H).

5 LCMS: *m/z*: 403,7 [M+H]⁺.

Exemplul 44 - Sinteză 6-[(3S)-4-[3-(5,6-difluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril

Etapa 1:

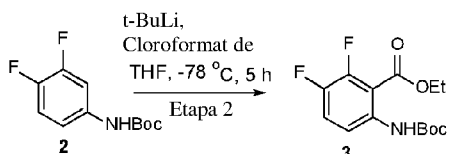


S-a adăugat dicarbonat de *tert*-butil (3,0 g, 23,2 mmol) la 3,4-difluoranilină (5,5 g, 25,2 mmol) în THF uscat (45 ml) și amestecul de reacție rezultat a fost agitat la TC timp de 12 ore (TLC indicat consum complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă și reziduul a fost spălat cu hexani (15 ml). Solidul alb obținut a fost uscat sub vid ridicat pentru a da N-(3,4-difluorfenil)carbamate de *tert*-butil (5 g, 93%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare.

¹H RMN [400 MHz, CDCl₃]: δ 7,45-7,40 (m, 1H), 7,08-7,01 (m, 1H), 6,92-6,89 (m, 1H), 6,45 (brs, 1H), 1,51 (s, 9H).

15 LCMS: *m/z*: 174,4 [M+H-56]⁺.

Etapa 2:

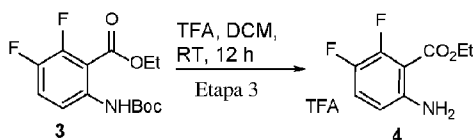


25 La o soluție agitată de N-(3,4-difluorfenil)carbamate de *tert*-butil (1 g, 4,36 mmol) în THF (30 ml) la -78 °C, s-a adăugat prin picurare *t*-BuLi (7,54 ml, 9,82 mmol) și agitat timp de 3 ore. S-a adăugat încet clorformiat de etil (0,48 g, 5,1 mmol) la amestecul de reacție la -78 °C și s-a agitat timp de 1 oră (TLC a indicat consumul complet al materiei prime). Amestecul de reacție a fost adus la 0 °C, tratat cu soluție apoasă saturată de clorură de amoniu (24 ml) pe o perioadă de 10 minute, apoi încălzit la TC și diluat cu EtOAc (100 ml) și apă (50 ml). Straturile au fost separate și faza apoasă a fost extrasă cu EtOAc (2 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (50 ml), uscat pe Na₂SO₄, filtrate și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 20 g, 2% EtOAc-Hexan) pentru a furniza 6-(*tert*-butoxycarbonylamino)-2,3-difluor-benzoat de etil (0,5 g, 38%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz, CDCl₃]: δ 9,44 (brs, 1H), 8,11-8,08 (m, 1H), 7,30-7,23 (m, 1H), 4,45 (q, *J* = 6,8 Hz, 2H), 1,51 (s, 9H), 1,41 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

35 LCMS: *m/z*: 202,4 [M+H-100]⁺.

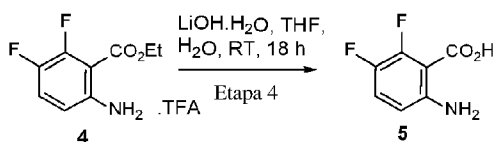
Etapa 3:



40 La o soluție agitată de etil 6-(*tert*-butoxycarbonylamino)-2,3-difluor-benzoat (0,5 g, 1,66 mmol) în DCM (14 ml), s-a adăugat prin picurare TFA (2,27 ml) la RT și s-a agitat timp de 12 ore (TLC a indicat consumul complet al materiei prime). Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă pentru a da 6-amino-2,3-difluor-benzoat de etil (0,43 g, 89%), care a fost dus la etapa următoare fără purificare suplimentară.

45 LCMS: *m/z*: 202,3 [M+H]⁺.

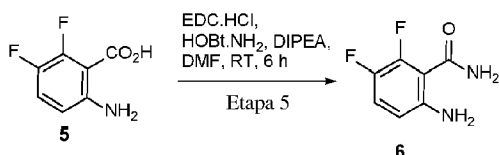
Etapa 4



La o soluție agitată de 6-amino-2,3-difluor-benzoat de etil (0,43 g, 1,44 mmol) în THF:H₂O (2:1, 15 ml), LiOH·H₂O (0,46 g, 14,3 mmoli) a fost adăugat. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la TC timp de 18 ore (TLC a indicat consumul complet al materiei prime), acidificat cu HCl 1 N până la pH = 4-5 și extras cu EtOAc (50 ml). Stratul organic se separă, se usucă pe Na₂SO₄ anhidru și concentrat sub presiune redusă pentru a se obține acid 6-amino-2,3-difluor-benzoic (0,2 g, 80%) care a fost dus în următoarea etapă fără purificare suplimentară.

LCMS: *m/z*: 174,39 [M+H]⁺.

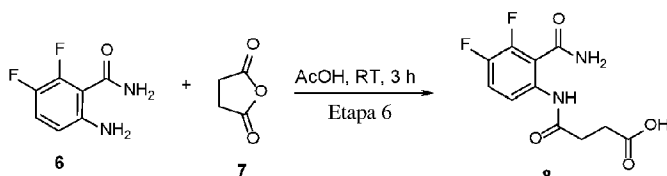
Etapa 5:



La o soluție agitată de acid 6-amino-2,3-difluor-benzoic (0,7 g, 4,0 mmol) în THF (15 ml), EDC·HCl (1,15 g, 6,0 mmol), HOBT·NH₃ (0,91 g, 6,0 mmoli) și DIPEA (2,17 ml, 12,0 mmoli) au fost adăugați sub atmosferă de argon și agitați la TC timp de 6 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă și reziduul a fost diluat cu apă rece (40 ml) și EtOAc (100 ml). Stratul organic se separă, se spală cu apă rece (2 X 20 ml), soluție salină (2 X 20 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100- 200 silicagel, 20 g, 25% EtOAc-hexan) pentru a da 6-amino-2,3-difluor-benzamidă (0,45 g, 65%) sub forma unui solid alb.

LCMS: *m/z*: 173,4 [M+H]⁺.

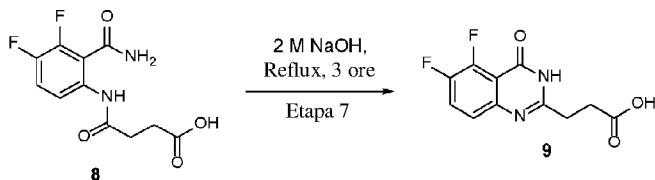
Etapa 6



La o soluție agitată de 6-amino-2,3-difluor-benzamidă (0,45 g, 2,61 mmol) în AcOH (4,5 ml) la TC, s-a adăugat anhidridă succinică (0,31 g, 3,13 mmol) și s-a agitat la TC timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost turnat în apă rece cu gheață (10 ml) și agitat timp de 30 min la TC. Solidul precipitat a fost filtrat, spălat cu apă (10 ml), acetonă rece (5 ml) și uscat sub vid ridicat pentru a da acid 4-(2-carbamoil-3,4-difluor-anilino)-4-oxo-butanoic (500 mg, 70%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare suplimentară.

LCMS: *m/z*: 273,5 [M+H]⁺.

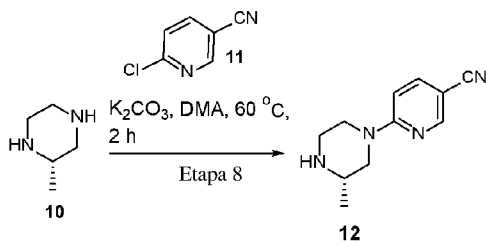
Etapa 7:



Acid 4-(2-carbamoil-3,4-difluor-anilino)-4-oxo-butanoic (0,50 g, 1,83 mmol) în NaOH 2 N apos (5 ml) a fost agitat la 100 °C timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C și acidificat cu HCl 2 N apos până la pH = 3-4, timp în care a precipitat solidul alb. Suspensia a fost agitată la 0 °C timp de 30 min., filtrată, spălată cu apă (10 ml), acetonă rece (2 ml) și uscată sub vid ridicat pentru a da acid 3-(5,6-difluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (300 mg, 65%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare.

LCMS: *m/z*: 255,46 [M+H]⁺.

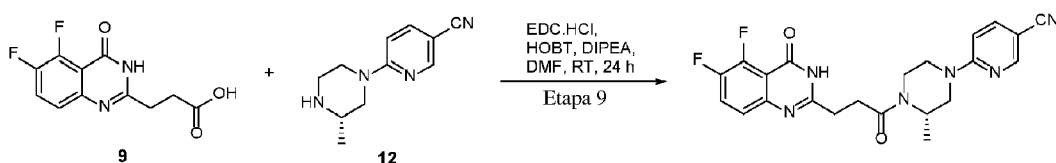
Etapa 8:



La o soluție agitată de (2S)-2-metilpiperazină (0,30 g, 2,1 mmol) în DMA (6 ml), s-a adăugat 6-clorpiridin-3-carbonitril (0,29 g, 2,3 mmoli) și K_2CO_3 . Amestecul de reacție rezultat a fost încălzit la 60 °C timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă rece (20 ml) și extras cu EtOAc (3 X 25 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (20 ml) și soluție salină (2 X 20 ml). Stratul organic a fost separat, uscat pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 10 g, 10% MeOH-DCM) pentru a se obține 6-[(3S)-3-metilpiperazin-1-yl]piridin-3-carbonitril (0,29 g, 67%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS: m/z : 203,4 $[M+H]^+$.

Etapa 9:



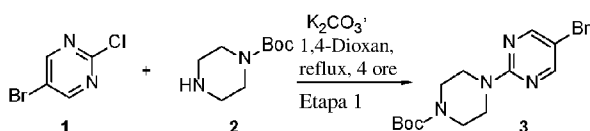
La o soluție agitată de acid 3-(5,6-difluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (0,25 g, 1,0 mmol) și 6-[(3S)-3-metilpiperazin-1-yl]piridin-3-carbonitril (0,19 g, 1,0 mmol) în DMF (5 ml), EDC·HCl (0,28 g, 1,4 mmol), HOBt (0,22 g, 1,4 mmol) și DIPEA (0,5 ml, 2,9 mmol) au fost adăugate sub atmosferă de Argon și agitate la TC timp de 24 de ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă și reziduul a fost diluat cu apă cu gheață (30 ml) și EtOAc (50 ml). Stratul organic se separă, se spală cu apă rece ca gheața (2 X 15 ml), soluție salină (2 X 15 ml), uscat pe Na_2SO_4 și concentrat sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut (200 mg, 47% LCMS), care a fost purificat preparativ pentru a furniza 6-[(3S)-4-[3-(5,6-difluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-yl]piridin-3-carbonitril (40 mg, 9%) sub forma unui solid alb.

1H RMN [400 MHz, $CDCl_3$]: δ 12,33 (brs, 1H), 8,48 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,86 (dd, $J = 9,2, 2,4$ Hz, 1H), 7,84-7,76 (m, 1H), 7,39-7,33 (m, 1H), 6,95-6,91 (m, 1H), 4,55-4,34 (m, 1H), 4,30-3,86 (m, 3H), 3,49-3,42 (m, 1H), 3,23-3,15 (m, 1H), 3,05-2,94 (m, 1H), 2,89-2,78 (m, 4H), 1,20-0,98 (m, 3H).

LCMS: m/z : 439,7 $[M+H]^+$.

Exemplul 45 - Sinteză 2-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-yl]pirimidin-5-carbonitril

Etapa 1:

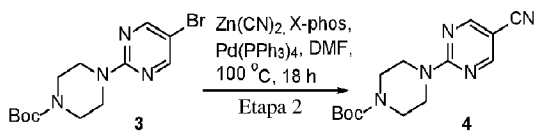


La o soluție de 5-bromo-2-clor-pirimidină (0,5 g, 2,58 mmol) în 1,4-dioxan (20 ml), piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (0,722 g, 3,88 mmol) și K_2CO_3 (0,713 g, 5,17 mmol) s-au adăugat la TC. Amestecul de reacție a fost refluxat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus la TC, diluat cu apă (20 ml) și extras cu EtOAc (3 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (2 X 40 ml), soluție salină (1 X 40 ml), uscate pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a da reziduu. Reziduul a fost purificat în continuare prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 15 g, 10% EtOAc-hexan) pentru a se obține 4-(5-bromopirimidin-2-il)piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (0,7 g, 78 %) sub forma unui solid alb.

1H RMN [400 MHz, $CDCl_3$]: δ 8,29 (s, 2H), 3,75 (t, $J = 4,8$ Hz, 4H), 3,47 (t, $J = 5,2$ Hz, 4H), 1,47 (s, 9H).

LCMS: m/z : 287,44 $[M-^tBu]^+$.

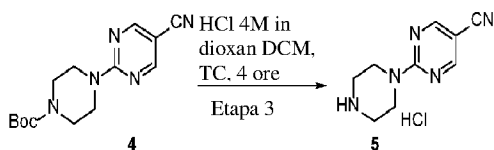
Etapa 2:



La o soluție agitată de 4-(5-bromopirimidin-2-il)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (500 mg, 1,46 mmol) în DMF (15 ml), $\text{Zn}(\text{CN})_2$ (513 mg, 4,37 mmol) și X-phos (84 mg, 0,15 mmol) au fost adăugați la RT. Amestecul de reacție a fost degazat cu gaz argon timp de 20 min, apoi s-a adăugat $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (168 mg, 0,15 mmol) și s-a încălzit la 100 °C timp de 18 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost adus încet la TC, diluat cu apă (20 ml) și extras cu EtOAc (3 X 100 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă (2 X 40 ml), soluție salină (1 X 40 ml), uscate pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a da materialul brut. Materialul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 12 g, 10% EtOAc-hexan) pentru a da 4-(5-cianopirimidin-2-il)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (300 mg, 71 %) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 290,49 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

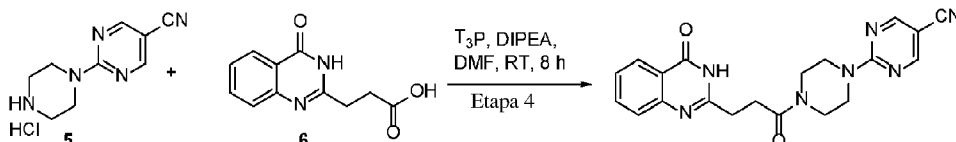
Etapa 3:



La o soluție agitată de 4-(5-cianopirimidin-2-il)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (300 mg, 0,5 mmol) în DCM (5 ml) la 0 °C, HCl 4N în dioxan (5 ml) a fost adăugat. Amestecul de reacție a fost încălzit la TC și agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost spălat cu Et_2O (5 ml) și uscat sub vid pentru a furniza clorhidrat de 2-piperazin-1-ilpirimidin-5-carbonitril (200 mg, 80%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 190,46 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Etapa 4



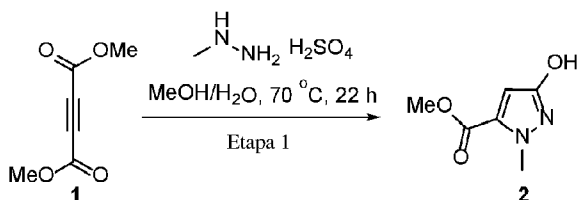
La o soluție agitată de clorhidrat de 2-piperazin-1-ilpirimidin-5-carbonitril (130 mg, 0,69 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (100 mg, 0,46 mmol) în DMF (2 ml), DIPEA (0,3 ml, 1,38 mmol) și T_3P (291 mg, 0,92 mmol) au fost adăugate la TC și se agită timp de 8 ore (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (10 ml) și extras în EtOAc (3 X 40 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu apă rece (3 X 20 ml), soluție salină (20 ml), uscate pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a da reziduul. Reziduul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silicagel 100-200, 10 g, 5% MeOH-DCM) pentru a furniza 2-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]pirimidin-5-carbonitril (30 mg, 16%) sub forma unui solid alb.

^1H RMN [400 MHz DMSO- d_6]: δ 12,20 (s, 1H), 8,79 (s, 2H), 8,06 (dd, $J = 7,6, 1,2$ Hz, 1H), 7,78-7,73 (m, 1H), 7,57 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,47-7,43 (m, 1H), 3,93 (t, $J = 4,4$ Hz, 2H), 3,81 (t, $J = 4,4$ Hz, 2H), 3,66 (t, $J = 4,8$ Hz, 2H), 3,57 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 2,90 (s, 4H).

LCMS: m/z : 390,67 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Exemplul 46 - Sinteză 2-metil-5-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]pirazol-3-carbonitril

Etapa 1:

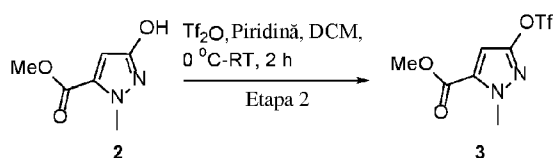


S-a adăugat Et_3N (17,3 ml, 0,12 mol) la o soluție de dimetil but-2-inedioat (8 g, 0,05 mmol) în MeOH (80 ml), H_2O (40 ml) și se agită la TC timp de 30 min. S-a adăugat sulfat de metil

hidrazină (8,92 g, 61,9 mol) și amestecul de reacție a fost agitat la 70 °C timp de 22 ore. Soluția a fost lăsată să stea la TC peste noapte și solidul format a fost filtrat, uscat sub vid înalt pentru a da 5-hidroxi-2-metil-pirazol-3-carboxilat de metil (3,5 g, 40%) sub forma unui solid maro pal.

LCMS: m/z : 157,3 $[M+H]^+$.

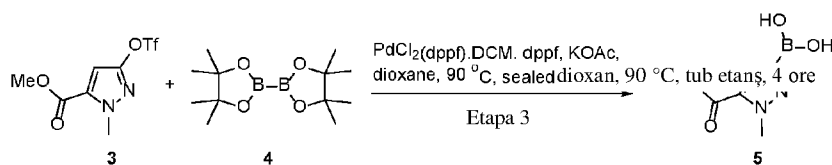
Etapa 2:



La o soluție agitată de 5-hidroxi-2-metil-pirazol-3-carboxilat de metil (0,3 g, 1,92 mmol) în DCM (30 ml) la 0 °C, Piridină (0,18 g, 2,30 mmol) urmată de Tf_2O (0,59 g, 2,11 mmol) s-a adăugat prin picurare. Amestecul de reacție a fost încălzit încet la TC și agitat timp de 2 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat încet cu apă (15 ml) și extras cu DCM (2 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (25 ml), uscat pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a obține 2-metil-5-(trifluorometilsulfoniloxi) pirazol-3-carboxilat de metil (580 mg, 93%), care a fost dus la etapa următoare fără purificare ulterioară.

LCMS: m/z : 289,4 $[M+H]^+$.

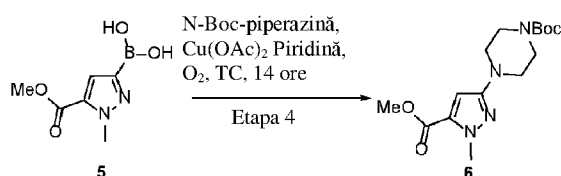
Etapa 3:



Un tub sigilat a fost încărcat cu 2-metil-5-(trifluorometilsulfoniloxi) pirazol-3-carboxilat de metil, (1,7 g, 5,90 mmol), bis(pinacolato)diboron (1,64 g, 6,48 mmol), KOAc (1,73 g, 17,6 mmol) în 1,4-dioxan (40 ml) și degazat sub N_2 timp de 15 min. S-a adăugat Dppf (0,15 g, 0,29 mmol) și $PdCl_2(dppf) \cdot CH_2Cl_2$ (0,24 g, 0,29 mmol) și degazat din nou sub N_2 timp de încă 10 min. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la 90 °C timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă), a fost diluat cu toluen (30 ml), apă (20 ml) și filtrat prin pat de Celite®. Stratul de celită a fost spălat cu toluen (50 ml), soluțiile de spălare organice combinate a fost separat, uscate pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost triturat cu pentan (70 ml) și se filtrează. Stratul de pentan a fost concentrat sub presiune redusă pentru a da acid (5-metoxycarbonil-1-metil-pirazol-3-il)boronic (1 g, 92%) sub forma unui solid galben pal.

LCMS: m/z : 185,5 $[M+H]^+$.

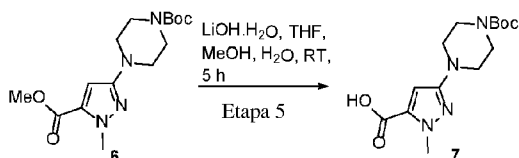
Etapa 4



La o soluție agitată de acid (5-metoxycarbonil-1-metil-pirazol-3-il)boronic (1,05 g, 5,64 mmol) și *N*-Boc-piperazină (0,8 g, 4,34 mmol) în DCM (20 ml) la RT, piridină (1,03 g, 13,03 mmol), site moleculare 4 A și $Cu(OAc)_2$ (1,57 g, 8,67 mmol) s-au adăugat. Amestecul de reacție a fost agitat sub atmosferă de O_2 (presiune balon) la TC timp de 14 ore (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (10 ml) și extras cu DCM (2 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (20 ml), uscate pe Na_2SO_4 și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut (puritate 41%) care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (silice 100-200, 30 g, 15 % EtOAc-hexan) pentru a furniza 4-(5-metoxycarbonil-1-metil-pirazol-3-il)piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (0,43 g, 60% LCMS) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 325,7 $[M+H]^+$.

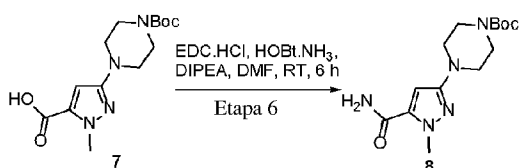
Etapa 5:



La o soluție agitată de 4-(5-metoxycarbonil-1-metil-pirazol-3-il)piperazina-1-carboxilat *terț*-butil (0,43 g, 1,32 mmol) în THF:MeOH:H₂O (1:1:1, 15 ml), LiOH·H₂O (0,27 g, 6,63 mmol) s-a adăugat la TC și se agită timp de 5 ore (TLC a indicat consumarea completă a materiei prime). Amestecul de reacție a fost acidificat cu HCl 1 N până la pH = 4-5 și extras cu EtOAc (2 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (20 ml), se uscă pe Na₂SO₄ anhidru și concentrate sub presiune redusă pentru a obține acid 5-(4-*terț*-butoxycarbonilpiperazin-1-il)-2-metil-pirazol-3-carboxilic (0,24 g, 58%) sub forma unui solid alb.

LCMS: *m/z*: 311,4 [M+H]⁺.

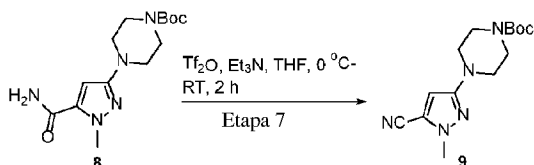
Etapa 6



La o soluție agitată de acid 5-(4-*terț*-butoxycarbonilpiperazin-1-il)-2-metil-pirazol-3-carboxilic (0,47 g, 1,51 mmol) în THF (20 ml), EDC·HCl (0,43 g, 2,27 mmol), HOBt·NH₃ (0,34 g, 2,27 mmol) și DIPEA (0,8 ml, 4,55 mmoli) au fost adăugate sub atmosferă de argon și agitate la RT timp de 6 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă și reziduul a fost diluat cu apă (40 ml) și EtOAc (100 ml). Stratul organic se separă, se spală cu apă rece (2 X 20 ml), soluție salină (2 X 20 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrat sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100- 200 silicagel, 20 g, 2,5% MeOH-DCM) pentru a furniza 4-(5-carbamoil-1-metil-pirazol-3-il)piperazin-1-carboxilat *terț*-butil (0,40 g, 86%) sub formă de alb solid.

LCMS: *m/z*: 310,7 [M+H]⁺.

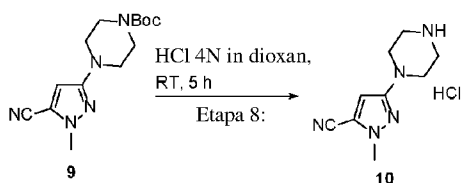
Etapa 7:



La o soluție agitată de 4-(5-carbamoil-1-metil-pirazol-3-il)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (0,17 g, 0,55 mmol) în THF (5,0 ml), răcit la 0 °C, Et₃N (0,19 ml, 1,37 mmol) urmat de Tf₂O (0,27 ml, 1,90 mmoli) s-au adăugat. Amestecul de reacție a fost adus încet la TC și agitat timp de 1 oră (TLC a indicat consumul complet al materiei prime). Amestecul de reacție a fost diluat cu apă (10 ml) și extras cu EtOAc (2 x 25 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție saturată de NaHCO₃ (10 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține 4-(5-ciano-1-metil-pirazol-3-il)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (0,11 g, 68%) sub forma unui solid galben pal.

LCMS: *m/z*: 292,5 [M+H-100]⁺.

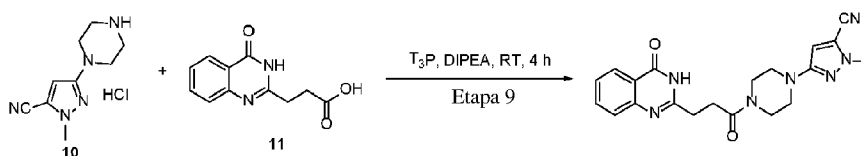
Etapa 8:



La o soluție agitată de 4-(5-ciano-1-metil-pirazol-3-il)piperazin-1-carboxilat de *terț*-butil (0,11 g, 0,37 mmol) în 1,4-dioxan (5 ml), răcit la 0 °C, HCl 4 N în dioxan (3 ml) s-a adăugat. Amestecul de reacție a fost adus la TC, se agită timp de 5 ore (TLC indică consumarea completă a materiei prime), concentrate sub presiune redusă pentru a se obține reziduul brut care a fost spălat cu Et₂O (5 ml) și uscat sub vid înăntat pentru a se obține clorhidrat de 2-metil-5-piperazin-1-il-pirazol-3-carbonitril (70 mg, 73%) sub forma unui solid alb.

LCMS: *m/z*: 192,5 [M+H]⁺.

Etapa 9:



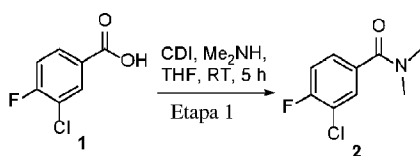
La o soluție agitată de clorhidrat de 2-metil-5-piperazin-1-il-pirazol-3-carbonitril (0,06 g, 0,28 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (0,075 g, 0,34 mmol) în DMF (2 ml) la TC, 50% T₃P în EtOAc (0,36 ml, 0,57 mmol) și DIPEA (0,1 ml, 0,57 mmol) s-au adăugat și s-au agitat timp de 4 ore (TLC a arătat consum complet a materialului de pornire). Amestecul de reacție a fost concentrat sub *vid* ridicat pentru a da reziduu brut care a fost diluat cu 5% MeOH-DCM (75 ml) și spălat cu apă rece (2 X 10 ml). Stratul organic a fost separat, uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a se obține un reziduu brut (110 mg, 37% LCMS) care a fost purificat preparativ pentru a obține 2-metil-5-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]pirazol-3-carbonitril (22 mg, 16%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,15 (brs, 1H), 8,07 (d, *J* = 6,8, 1,2 Hz, 1H), 7,76-7,72 (m, 1H), 7,53 (d, *J* = 80 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,62 (s, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,61 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H), 3,54 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H), 3,18 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 3,06 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H), 2,87 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 392,7 [M+H]⁺.

Exemplul 47 - Sinteză 3-clor-N,N-dimetil-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă

Etapa 1:



La o soluție agitată de acid 3-clor-4-fluor-benzoic (0,5 g, 2,87 mmol) în THF (5 ml), Me₂NH (0,3 ml, 5,74 mmol, 1M în THF) și CDI (0,7 g, 4,31 mmol) au fost adăugate la TC și agitate timp de 5 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (40 ml) și extras cu EtOAc (3 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a da reziduu care a fost spălat cu Et₂O și se usucă pentru a se obține 3-clor-4-fluor-N,N-dimetil-benzamidă (450 mg, 78%) sub forma unui solid alb.

LCMS: *m/z*: 202,40 [M+H]⁺.

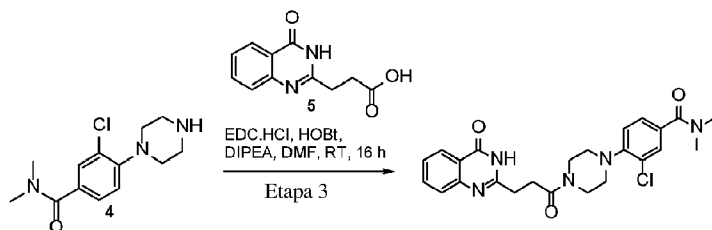
Etapa 2:



Soluția de 3-clor-4-fluor-N,N-dimetil-benzamidă (0,4 g, 1,99 mmol) și piperazină (0,8 g, 9,38 mmol) în DMSO (5 ml) a fost agitată sub atmosferă de argon la 120 °C timp de 16 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (40 ml) și extras cu EtOAc (3 X 10 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrate sub presiune redusă și reziduu a fost spălat cu Et₂O (10 ml) pentru a da 3-clor-N,N-dimetil-4-piperazin-1-il-benzamida (550 mg, 65%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS: *m/z*: 268,56 [M+H]⁺.

Etapa 3:



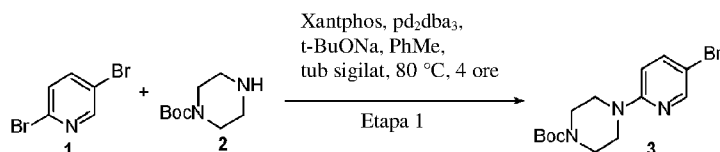
La o soluție agitată de 3-clor-N,N-dimetil-4-piperazin-1-il-benzamidă (150 mg, 0,55 mmol) și acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (122 mg, 0,55 mmol) în DMF uscat (2 ml), EDC·HCl (160 mg, 0,83 mmol), HOBt (113 mg, 0,83 mmol) și DIPEA (0,2 ml, 1,16 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 16 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă (20 ml) și extras cu EtOAc (3 X 10 ml). Extractele organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄, concentrat sub presiune redusă și reziduul a fost purificat prin cromatografie rapidă (100-200 silicagel, 5 g, 5% MeOH-DCM) pentru a furniza 3-clor-N,N-dimetil-4-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]benzamidă (80 mg, 43%) sub forma unui solid alb.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,20 (s, 1H), 8,07 (dd, *J* = 8, 1,2 Hz, 1H), 7,78-7,74 (m, 1H), 7,57 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,47-7,43 (m, 2H), 7,36 (dd, *J* = 8,4, 2 Hz, 1H), 7,15 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,70 (brs, 2H), 3,61 (brs, 2H), 3,05 (brs, 2H), 2,94 (s, 8H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 468,73 [M+H]⁺.

Exemplul 48 - Sinteză clorhidrat de N-metil-6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carboxamidină

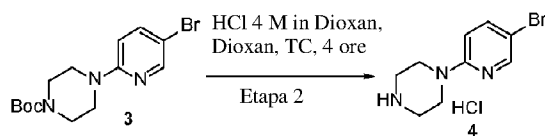
Etapa 1:



La o soluție agitată de 2,5-dibromopiridină (2 g, 10,7 mmol), *tert*-butoxid de sodiu (1,6 g, 16,6 mmol), xantphos (400 mg, 0,7 mmol) și toluen (100 ml) în argon tub sigilat a fost purjat timp de 5 min. La amestecul de reacție s-a adăugat piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (3,4 g, 14,30 mmol) urmat de Pd₂(dba)₃ (200 mg, 0,21 mmol) și încălzit la 80 °C timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet a materialului de pornire). Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (200 ml), apă (100 ml), filtrat prin pat de Celită și spălat cu EtOAc (2 X 30 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (50 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 50 g, 10-20% EtOAc ester-) pentru a se obține 4-(5-brom-2-piridil)piperazina-1-carboxilat de *tert*-butil (3 g, 82%) sub forma unui solid galben.

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 342,57 [M+H]⁺.

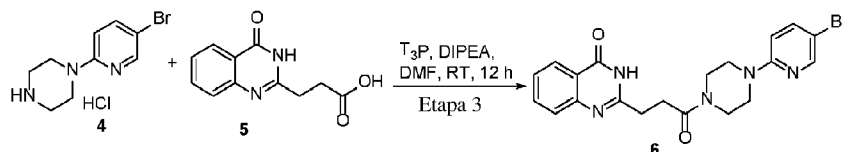
Etapa 2:



La o soluție agitată de 4-(5-brom-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (3 g, 8,77 mmoli) în dioxan (30 ml), s-a adăugat HCl 4 N în dioxan (10 ml) la RT și agitat timp de 4 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). S-a adăugat EtOAc (50 ml) la amestecul de reacție, s-a agitat timp de 30 min., solidul a fost filtrat, spălat cu eter (20 ml) și uscat sub presiune redusă pentru a da clorhidrat de 1-(5-bromo-2-piridil)piperazină (2,1 g, 93%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 242,43 [M+H]⁺.

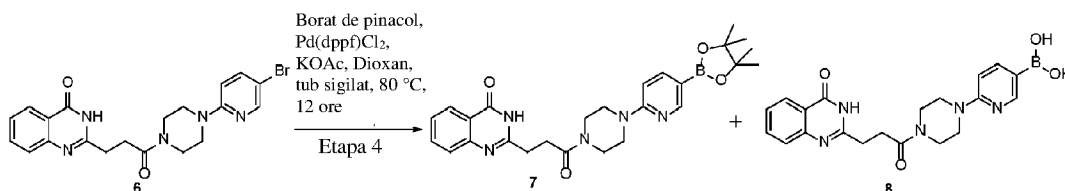
Etapa 3:



La o soluție agitată de 1-(5-bromo-2-piridil)piperazină clorhidrat (2,1 g, 8,12 mmol) în DMF (20 ml), DIPEA (3,8 ml, 22,01 mmol), acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (1,6 g, 7,34 mmol) urmat de soluție 50% T₃P în EtOAc (7 ml, 11,00 mmol) au fost adăugate la RT și agitate timp de 12 ore (LCMS a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă cu gheață (200 ml), agitat timp de 2 ore, solidul obținut a fost filtrat spălat cu apă (50 ml), acetonă (20 ml) și uscat sub vid pentru a obține 2-[3-[4-(5-bromo-2-piridil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (1,6 g, 50%) sub forma unui solid aproape alb.

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 442,59 [M+H]⁺.

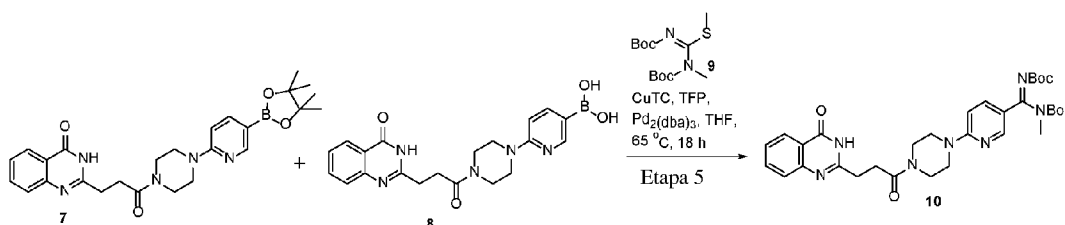
Etapa 4



La o soluție agitată de 2-[3-[4-(5-bromo-2-piridil)piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (1,6 g, 3,62 mmol) în dioxan (30 ml) într-un tub etanș, s-a adăugat acetat de potasiu (1,1 g, 11,21 mmol) sub atmosferă de argon urmat de bis(pinacolato)diboron (1,3 g, 5,12 mmol) și Pd(dppf)Cl₂ (89 mg 0,11 mmol). Reacția a fost încălzită la 80 °C timp de 12 ore (LCMS a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost diluat cu EtOAc (75 ml), filtrat prin pat de Celite®, spălat cu EtOAc (2 X 50 ml); extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (25 ml), uscate pe sulfat de sodiu și concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost spălat cu pentan (2 X 10 ml) pentru a se obține un amestec de 2-[3-oxo-3-[4-[5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-piridil]piperazin-1-il]propil]-3H-chinazolin-4-onă și acid [6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]-3-piridil]boronic (1,16 g), care a fost utilizat în următoarea reacție fără purificare ulterioară.

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 408,69 [M+H]⁺. (Acid Boronic)

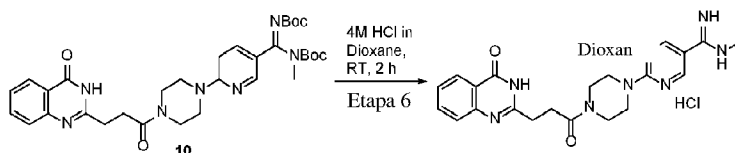
Etapa 5:



La o soluție agitată dintr-un amestec de 2-[3-oxo-3-[4-[5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2-piridil]piperazin-1-il]propil]-3H-chinazolin-4-onă și acid [6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]-3-piridil]boronic (1,16 g), cupru (I) tiofen-2-carboxilat (1,1 g, 5,77 mmol), tri-2-furil fosfină (140 mg, 0,60 mmol) în THF sub atmosferă de argon, Pd₂(dba)₃ (91 mg, 0,10 mmol) s-a adăugat. Amestecul de reacție a fost purjat cu argon timp de 5 min, apoi s-a adăugat sub atmosferă de argon *N,N*-Bis(*tert*-butoxicarbonil)-5-metilzotiuree (600 mg, 1,97 mmol) în THF (18 ml) timp în care s-a format o soluție omogenă groasă. Amestecul de reacție a fost încălzit la 65 °C timp de 18 ore (LCMS a indicat 16% acid boric), apoi adus la TC, s-a adăugat soluție apoasă saturată de NaHCO₃ (20 ml) și EtOAc (30 ml). Stratul organic a fost separat, spălat cu soluție salină (25 ml), uscat pe Na₂SO₄ și concentrat sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (gel de silice 100-200, 100 g, 2-5% MeOH-DCM) pentru a da *N*-[(*E*)-*N*-*tert*-butoxicarbonil-C-[6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]-3-piridil]carbonimidoil]-*N*-metilcarbamam de *tert*-butil (240 mg, 12% LCMS), care a fost purificat din nou prin Prep-HPLC pentru a furniza compusul pur (13 mg) sub forma unui solid alb.

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 620,92 [M+H]⁺.

Etapa 6

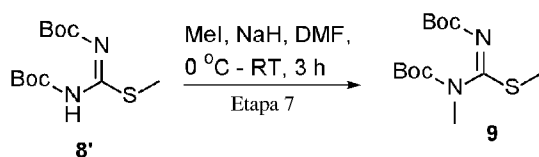


La o soluție agitată de *N*-[(*E*)-*N*-*tert*-butoxicarbonil-C-[6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]-3-piridil]carbonimidoil]-*N*-metilcarbamam de *tert*-butil (13 mg, 0,021 mmol) în dioxan (0,5 ml), HCl 4 N în dioxan (0,4 ml, 1,744 mmol) a fost agitat la TC timp de 2 ore (LCMS a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost concentrat sub presiune redusă pentru a da produsul brut care a fost spălat cu EtOAc (2 X 5 ml), urmat de Et₂O (2 X 5 ml), apoi liofilizat într-un amestec de CH₃CN (5 ml) și apă (5 ml) pentru a obține clorhidrat de *N*-metil-6-[4-[3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]piperazin-1-il]piridin-3-carboxamidină (12 mg, 99%) sub forma unui solid aproape alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 8,58 (brs, 1H), 8,14 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,99 (brs, 1H), 7,92-7,78 (m, 2H), 7,63-7,57 (m, 1H), 7,35 (brs, 1H), 7,13-7,08 (m, 1H), 4,26 (brs, 5H), 3,81 (s, 2H), 3,68 (s, 4H), 3,60 (s, 2H), 3,06 (s, 3H).

LCMS (ESI+): m/z : 420,70 $[M+H]^+$.

Pasul 7:

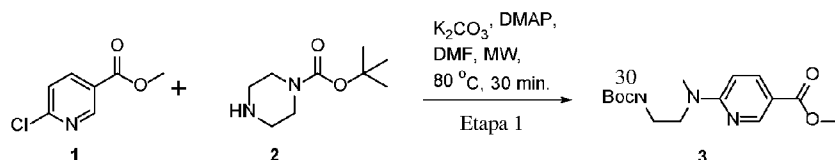


La o soluție de N-[(*tert*-butoxycarbonylamino)-metilsulfanil-metilen]carbamate de *tert*-butil (1 g, 3,44 mmoli) în DMF (20 ml), răcit la 0 °C, 60% hidrură de sodiu (276 mg, 6,916 mmol) s-a adăugat prin porționare urmat de MeI (0,32 ml, 5,162 mmol). Amestecul de reacție a fost încălzit la TC și agitat timp de 3 ore (TLC a indicat consumul complet de materie primă). Amestecul de reacție a fost stins cu apă cu gheață (30 ml) și extras cu EtOAc (2 X 50 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină (30 ml), uscate pe Na₂SO₄ și concentrate sub presiune redusă pentru a da reziduul care a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 20 g, 5-10% EtOAc-hexani) pentru a furniza N-(N-*tert*-butoxycarbonyl-C-metilsulfanil-carbonimidoil)-N-metil-carbamate de *tert*-butil (650 mg, 63%) sub formă de ulei incolor.

LCMS (ESI+): m/z : 305,66 $[M+H]^+$.

Exemplul 49 - Sinteză 2-[3-[4-[5-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-2-piridil]piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă

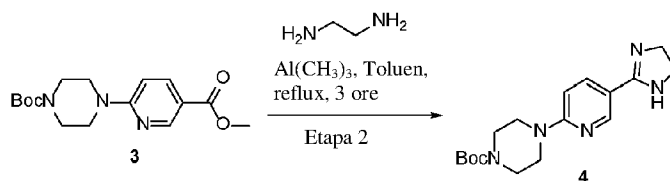
Etapa 1:



La o soluție agitată de 6-clorpiridin-3-carboxilat de metil (500 mg, 2,91 mmol) în DMF (5 ml), piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (720 mg, 3,87 mmol), K₂CO₃ (1,2 g, 8,74 mmol) și DMAP (35 mg, 0,29 mmol) s-au adăugat la RT. Amestecul de reacție a fost încălzit într-un cuptor cu microunde CEM la 80 °C timp de 30 min (TLC a arătat consumul complet de materie primă) și a fost diluat cu apă (20 ml) în timpul căreia a fost precipitat solidul. Solidul a fost filtrat și dizolvat în EtOAc (50 ml), uscat pe Na₂SO₄, concentrat sub presiune redusă pentru a da compusul brut care a fost purificat prin cromatografie rapidă (100-200 silicagel, 5 g, 30% EtOAc-hexan) pentru a da 4-(5-metoxycarbonyl-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (510 mg, 54%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 322,63 $[M+H]^+$.

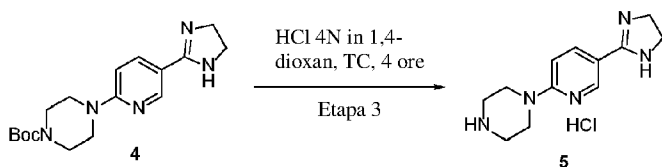
Etapa 2:



La o soluție agitată de trimetil aluminiu (1,86 ml, 3,73 mmol, 2 M în toluen) în toluen (12 ml), răcită la 0 °C, s-a adăugat etilendiamină (0,25 ml, 3,73 mmol). Amestecul de reacție s-a încălzit la TC, s-a agitat timp de 5 min și 4-(5-metoxycarbonyl-2-piridil)piperazin-1-carboxilat de *tert*-butil (200 mg, 0,62 mmol) în toluen (4 ml) s-a adăugat. Amestecul de reacție a fost refluxat timp de 3 ore (TLC a arătat consumul complet de materie primă), adus încet la TC, stins cu apă (5 ml) și dizolvat în MeOH (15 ml) și DCM (15 ml). Amestecul de reacție a fost filtrat prin Na₂SO₄; filtratul obținut a fost evaporat sub vid pentru a obține reziduul brut. Reziduul a fost dizolvat în EtOAc (50 ml), încălzit la 80 °C timp de 5 min, filtrat prin through Na₂SO₄ și concentrat sub vid pentru a da compusul brut. Reziduul brut a fost purificat prin cromatografie pe coloană (100-200 silicagel, 4 g, 10% MeOH-80% DCM-10% NH₃ apos) pentru a se obține 4-[5-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-2-piridil]piperazina-1-carboxilat de *tert*-butil (160 mg, 78%) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 332,70 $[M+H]^+$.

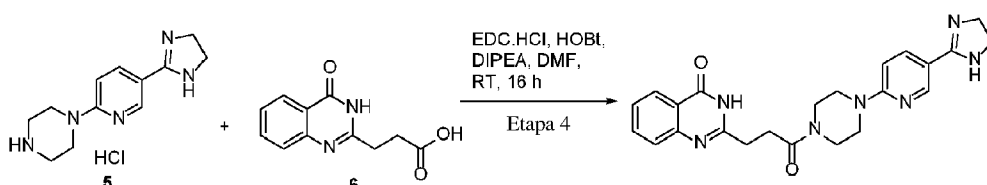
Etapa 3:



La o soluție agitată de 4-[5-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-2-piridil]piperazin-1-carboxilat de terț-butil (160 mg, 0,48 mmol) în 1,4-dioxan (3 ml), răcit la 0 °C, s-a adăugat HCl 4 N în 1,4-dioxan (0,48 ml, 1,93 mmol). Amestecul de reacție a fost încălzit la TC și agitat timp de 4 ore (TLC a arătat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost evaporate sub presiune redusă pentru a da clorhidrat de 1-[5-(4,5-dihidro-1 H-imidazol-2-il)-2-piridil]piperazină (130 mg, 100%) care a fost utilizat pentru etapa următoare fără purificare ulterioară.

LCMS: m/z : 232,56 $[M+H]^+$.

Etapa 4



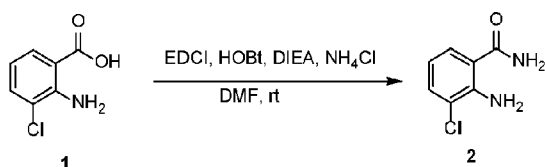
La o soluție agitată de acid 3-(4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (100 mg, 0,458 mmol) în DMF (5 ml), clorhidrat de 1-[5-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-2-piridil]piperazină (127 mg, 0,55 mmol), EDC·HCl (131 mg, 0,68 mmol), HOBT (93 mg, 0,68 mmol) și DIPEA (0,32 ml, 1,83 mmol) au fost adăugate la TC și agitat timp de 16 ore (TLC a arătat consumul complet de materie primă). Substanțele volatile au fost îndepărtate sub presiune redusă pentru a da reziduul brut care a fost diluat cu apă rece (30 ml) în timpul căruia a fost precipitat solidul. Precipitatul a fost filtrat, uscat sub vid pentru a obține produs brut (120 mg, 92% LCMS) și purificat prin HPLC preparativă pentru a obține 2-[3-[4-[5-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-2-piridil]piperazin-1-il]-3-oxo-propil]-3H-chinazolin-4-onă (55 mg, 28%) sub forma unui solid alb.

¹H RMN [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,0 (s, 1H), 8,54 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,07 (dd, J = 1,6, 8,0 Hz, 1H), 7,92 (dd, J = 2,4, 9,2 Hz, 1H), 7,76-7,71 (m, 1H), 7,54 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,46-7,42 (m, 1H), 6,87 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 3,70-3,65 (m, 4H), 3,56 (brs, 8H), 2,89 (brs, 4H).

LCMS: m/z : 432,73 $[M+H]^+$.

Exemplul 50 - Sinteză 8-clor-2-(3-(4-(4-fluorfenil)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-3-oxopropil)chinazolin-4(3H)-onă

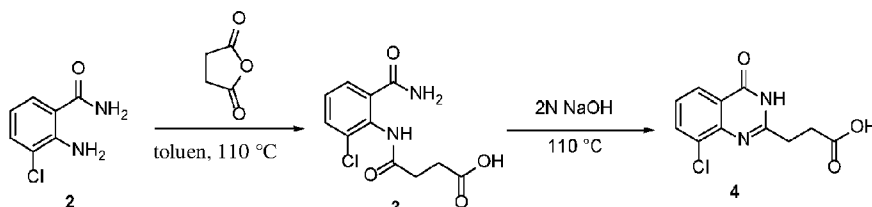
Etapa 1:



Acid 2-amino-3-clorbenzoic (10 g, 58,3 mmol) a fost dizolvat în DMF (30 ml) și urmat de adăugarea de HOBT (10,2 g, 75,8 mmol), EDCI (13,4 g, 69,9 mmol), clorură de amoniu (12,5 g, 233 mmol) și DIEA (40,6 ml, 233 mmol) în această ordine. Amestecul rezultat a fost agitat la TC timp de 20 ore. Amestecul a fost împărțit în H₂O (200 ml) și EtOAc (200 ml) și fazele au fost separate. Stratul apos a fost extras cu EtOAc (2 X 150 ml). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție salină saturată 50%, uscate (MgSO₄), și filtrate. Filtratul a fost concentrat pentru a da un reziduu solid galben/alb. Reziduul solid a fost dizolvat în DMF (10 ml). Adăugarea de DCM (10 ml) a condus la o precipitație albă, care a fost colectată prin filtrare. Acest procedeu a fost repetat încă de două ori pentru a furniza 2-amino-3-clor-benzamidă (5,1 g) sub forma unui solid alb pufos.

LCMS: m/z : 171,1 $[M+H]^+$.

Etapa 2:

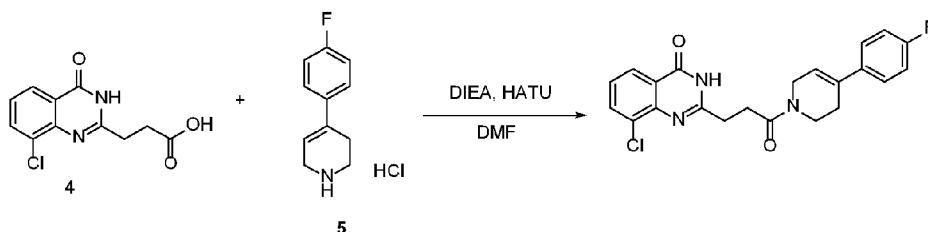


O suspensie de 2-amino-3-clor-benzamidă (500 mg, 2,93 mmol) și anhidridă succinică (293 mg, 2,93 mmol) în toluen (5 ml) a fost agitată la 110 °C. Amestecul a devenit omogen după 1 oră. După încă 16 ore, s-au format precipitații. Amestecul a fost răcit la TC și concentrat în vid. S-a adăugat NaOH 1 N (10 ml) la reziduu și amestecul rezultat a fost încălzit la 110 °C timp de 10 min, apoi răcit la TC. S-a adăugat HCl 1 N până la atingerea pH-ului 1. S-a format precipitație albă și s-a colectat prin filtrare. Solidele au fost spălate cu apă (2 X 5 ml) și uscate pentru a da acid 3-(8-clor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (294 mg) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 253,0 $[M+H]^+$.

1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12,45 (s, 1H), 12,20 (br.s, 1H), 8,04 (dd, $J = 7,9, 1,5$ Hz, 1H), 7,92 (dd, $J = 7,8, 1,4$ Hz, 1H), 7,43 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 2,89 (dd, $J = 10,6, 3,7$ Hz, 2H), 2,78 (dd, $J = 10,6, 3,6$ Hz, 2H).

Etapa 3:

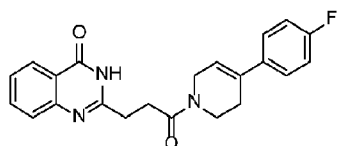


La o soluție de clorhidrat de 4-(4-fluorfenil)-1,2,3,6-tetrahidropiridină (18,6 mg, 0,087 mmol) și acid 3-(8-clor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoic (20,0 mg, 0,079 mmol) în DMF (3 ml) s-a adăugat HATU (33,1 mg, 0,087 mmol), urmat de DIEA (33,9 μ L, 0,190 mmol). Amestecul rezultat a fost agitat la TC timp de 3 ore, apoi diluat cu EtOAc (40 ml) și spălat cu sat. $NaHCO_3$ (apos) (10 ml), 50% sat. soluție salină (3 x 5 ml), uscată ($MgSO_4$), filtrată și concentrată în vid. Reziduu a fost purificat prin cromatografie rapidă pe silicagel pentru a da produs brut (13 mg) sub forma unui solid alb care este 90% material pur prin LC-MS și RMN. Acest solid a fost triturat cu EtOAc (3 ml) și solidele colectate prin decantarea lichidului pentru a da 8-clor-2-(3-(4-(4-fluorfenil)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-3-oxopropil)chinazolin-4(3H)-onă (1,2 mg) sub forma unui solid alb.

LCMS: m/z : 412,1 $[M+H]^+$.

1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$) δ 11,08 (s, 1H), 8,18 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,79 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,38-7,28 (m, 3H), 7,03 (td, $J = 8,7, 2,0$ Hz, 2H), 5,98 (d, $J = 45,0$ Hz, 1H), 4,23 (d, $J = 77,1$ Hz, 2H), 3,80 (dt, $J = 100,6, 5,7$ Hz, 2H), 3,17 (dd, $J = 13,7, 7,8$ Hz, 2H), 3,02-2,84 (m, 2H), 2,65-2,48 (m, 2H).

Exemplul 51 - Sinteză 2-(3-(4-(4-fluorfenil)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-3-oxopropil)chinazolin-4(3H)-onă

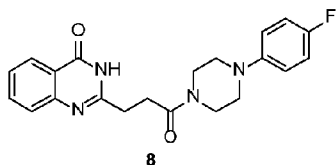


Compusul a fost sintetizat conform aceleiași secvențe pentru 8-clor-2-(3-(4-(4-fluorfenil)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-3-oxopropil)chinazolin-4(3H)-onă (Exemplul 50) cu material de pornire adecvat.

LCMS: m/z 378,4 $[M+H]^+$.

1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12,19 (s, 1H), 8,07 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,72 (ddd, $J = 8,5, 7,2, 1,6$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,50-7,46 (m, 2H), 7,46-7,41 (m, 1H), 7,18 (t, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,20-6,12 (m, 1H), 4,24 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 4,09 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 3,72 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 3,66 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 2,98-2,85 (m, 4H), 2,58 (s, 1H), 2,42 (s, 1H).

Exemplul 52 - Sinteză 2-(3-(4-(4-fluorfenil)piperazin-1-il)-3-oxopropil)chinazolin-4(3H)-onă

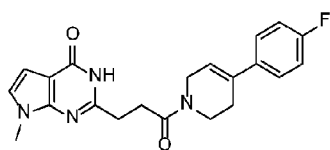


Compusul a fost sintetizat conform aceleiași secvențe pentru 8-clor-2-(3-(4-(4-fluorfenil)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-3-oxopropil)chinazolin-4(3H)-onă (Exemplul 50) cu material de pornire adecvat.

5 LCMS: m/z 381,4 $[M+H]^+$.

1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12,18 (s, 1H), 8,07 (dd, $J = 8,0, 1,2$ Hz, 1H), 7,77- 7,71 (m, 1H), 7,55 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,44 (ddd, $J = 8,1, 7,3, 1,1$ Hz, 1H), 7,10- 7,04 (m, 2H), 7,01- 6,95 (m, 2H), 3,70- 3,63 (m, 2H), 3,63- 3,54 (m, 2H), 3,15- 3,10 (m, 2H), 3,04-2,98 (m, 2H), 2,89 (s, 4H).

10 **Exemplul 53 - Sinteză 2-(3-(4-(4-fluorfenil)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-3-oxopropil)-7-metil-3,7-dihidro-4H-pirol[2,3-d]pirimidin-4-onă**



Compusul a fost sintetizat conform aceleiași secvențe pentru 8-clor-2-(3-(4-(4-fluorfenil)-3,6-dihidropiridin-1(2H)-il)-3-oxopropil)chinazolin-4(3H)-onă (Exemplul 50) cu materie primă adecvată (2-amino-1-metil-1H-pirol-3-carboxamidă, CAS No:1894093-24-3).

15 LCMS: m/z 381,4 $[M+H]^+$.

1H RMN (500 MHz, DMSO) δ 11,70 (s, 1H), 7,48 (ddd, $J = 8,7, 5,6, 2,1$ Hz, 2H), 7,21- 7,14 (m, 2H), 6,98 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 6,37 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 6,16 (t, $J = 3,3$ Hz, 1H), 4,23 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 4,10 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 3,71 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 3,67 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,61 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 2,92- 2,80 (m, 4H), 2,60- 2,54 (m, 1H), 2,46- 2,40 (m, 1H).

20 **Exemplul 54 Testul PARP Uman**

Poli (ADP-riboză) polimerază-1 (PARP-1) și Poli (ADP-riboză) polimerază-2 (PARP-2) sunt două enzime nucleare implicate în multe dintre activitățile celulare, inclusiv repararea ADN-ului și joacă un rol cheie în menținerea integritatea ADN-ului și a structurii cromatinei. Acest test este conceput pentru a evalua potențialul unei substanțe de testat de a inhiba activitatea PARP-1 sau PARP-2 și utilizează formatul de test de proximitate scintilație (SPA).

Testul de proximitate scintilație (SPA) este conceput pentru a măsura activitatea PARP folosind enzima PARP-1 recombinantă purificată și este ideală pentru screeningul cu randament ridicat al inhibitorilor moleculari mici pentru descoperirea medicamentelor. Aici, enzima PARP-1 sau PARP-2 umană recombinantă a fost incubată cu amestec de substrat (NAD, 3H -NAD și biotinilat-NAD) și polimerii ADP-riboză etichetați cu [3H] și biotină au fost capturați utilizând mărgelile SPA PVT conjugate cu Streptavidin. În absența inhibării enzimei, s-a obținut un semnal de 100%. Inhibitorii sunt identificați printr-o scădere a semnalului atunci când formarea polimerului poli-ADP riboză mediată de PARP-1 sau PARP-2 este redusă.

35 Produsele chimice și reactivii utilizați în acest protocol sunt enumerați mai jos cu sursa și numerele de catalog.

Sl. Nr.	Material și Reactivi	Furnizor	Nr. Catalog
1	enzimă PARP-1 umană recombinantă (Activitate Specifică Ridicată)	Trevigen	4668-500-01
2	enzimă rh-PARP-2, 10 μ g/flacon	BPS Bioscience	80502
3	Microplacă cu 96 de godeuri, alb, FB	Corning	3600 sau CLS3600-
4	Microplacă de 96 godeuri, polipropilenă,	Corning	3365 sau P070
5	ADN Timus de Vițel Activat	Amersham	27-4575
6	Dinucleotidă Nicotinamidă-Adenină	Sigma	N1511-250MG
7	NAD Biotinilat (6-biotin-17-NAD)	Trevigen	4670-500-01
8	[Adenină-2,8- 3H]-NAD, 250 μ Ci/flacon	Perkin Elmer	NET443H250UC
9	Mărgelile de Streptavidin-SPA	Perkin Elmer	RPNQ 0007
10	DL-Ditiotreitol	Sigma	43815-1G
11	Bază Trizma®	Sigma	T6791-100G
12	Clorură de magneziu	Sigma	449172-10G
13	Spermină	Sigma	85590-5G

14	Clorura de potasiu	Sigma	746436-500G
15	Inlocuitor NONIDET® P-40	Amresco	M158
16	Reactiv ACS dimetilsulfoxid, ≥99,9%	Sigma	472301-500 ml
17	4-Amino-1,8-Naftalimidă (4-ANI)	Alfa Aesar	J64358
18	TOPSEAL-A 96	Perkin Elmer	6005185
19	Pipete	Eppendorf	
Notă: Se cântăresc toate substanțele chimice folosind balanța de cântărire cu sensibilitate de 0,01 mg.			

Instrumente: Perkin Elmer; TopCount NXT

Reactivi și Preparare Tampon

Tampon A 4X:

- 5 Tris pH 8: 100 mM; MgCl₂: 4 mM; Spermină: 4 mM; KCl: 200 mM; substituent Nonidet P-40: 0,04%.

Amestec A de Test per godeu

- Tampon A 4X: 12,5 μl
- DTT 100mM: 0,5 μl
- 10 • Enzima PARP-1: 1 unitate/godeu, volumul depinde de activitatea specifică lotului
- Enzima PARP-2: 30 ng/godeu, volumul depinde de activitatea specifică lotului
- H₂O: până la 35 μl

Amestec B de Test per godeu

- [Adenină-2,8-3H]-NAD 100 μCi/ml: 1 μl (0,1 μCi/godeu)
- 15 • 3H-NAD 100 uCi/ml: 2 μl (0,2 μCi/godeu)
- NAD 1,5 mM: 0,05 μl
- NAD 2501.iM biotinitat: 0,03 μl
- ADN Timus de Vițel Activat : 50 μg
- H₂O până la 10 μl

Amestec C de Test

- 20 • mărgel de Streptavidin-SPA: 2,5 mg/ml in 200 mM EDTA pH 8,0 (pentru testul PARP-1)
- mărgel de Streptavidin-SPA: 2,5 mg/ml dH₂O (pentru testul PARP-2)

Procedura de Testare

- 25 O soluție de 10 mM de compus de referință, 4-amino-1,8-naftalimidă (4-ANI) a fost preparată utilizând 100% DMSO. 4-ANI de 10 mM a fost diluat la 2 mM și în continuare diluat la 200 μM utilizând DMSO 100%. S-a efectuat o diluție în serie de 200 μM 4-ANI in DMSO 100% pentru a obține de 3 ori diluate, zece concentrații. Un 5 μl de diluții seriale a fost transferat la 95 μl de apă pentru a obține 10X de concentrație finală în test. Concentrația maximă de 4-ANI in test a fost de 1 μM.

- 30 O soluție de 2 mM 4-ANI preparată anterior a fost diluată la 100 μM în apă. 5 μl din acest 100 μM 4-ANI au fost adăugați la godeurile "NC" (martor negativ). Concentrația finală de 4-ANI în godeurile „NC” a fost de 10 μM. Godeurile „NC” este definită ca godeuri care au cel mai mic semnal.

- 35 O soluție de 10 mM de compus testat a fost preparată utilizând 100% DMSO. Soluția de 10 mM a fost modificată la 200X din concentrația finală dorită în test. Diluarea în serie a soluției de compus 200X în DMSO 100% a fost efectuată pentru a obține de 3 ori diluate, zece concentrații. Placă de pre-diluare: 5 μl de diluții seriale au fost transferate la 95 μl de apă într-o placă de polipropilenă pentru a obține 10X de concentrație finală dorită în test.

Dezvoltarea Reacției PARP: Placă de Testare

- 40 5 μL/godeu din microplacă de prediluție au fost transferate în microplacă albă cu 96 de godeuri (Corning 3600). S-au adăugat 35 μl/godeu de Amestec A de Test și s-au incubat timp de 5 minute la TC. S-au adăugat 10 μL/godeu de Amestec B de Test pentru a începe reacția. Placa de testare a fost incubată timp de 3 ore la TC.

Detectarea Plăcilor de Testare:

- 45 S-au adăugat 50 μl/godeu de Amestec C de Test. Placa cu TOPSEAL-A 96 a fost sigilată. Testul a fost incubat timp de 15 minute cu agitare ușoară. Placa de testare a fost citită pe TopCount folosind un protocol optimizat pentru mărgel Tritium și PVT SPA.

Condiții de Testare

- TRIS pH 8 : 25 mM
- MgCl₂ : 1 mM
- Spermină : 1 mM
- KCl : 50 mM

- Nonidet P-40 : 0,01%
- TDT : 1 mM
- PARP-1 : 1 unitate/godeu
- PARP-2 : 20-30 ng (in funcție de activitatea specifică a fiecărui lot)
- Timus de vițel Activat : 1 ug/ml
- NAD rece : 1,5 uM
- NAD biotinitat : 150 nM
- 3H-NAD : 0,2 uCi
- Mărgelă Streptavidin -SPA : 1,25 mg/ml

Rezultate și Analiza Datelor:

Datele brute au fost colectate ca CPM. O regresie 4-Parametric Non-lineară a fost utilizată pentru a se potrivi cu o curbă concentrație-răspuns și pentru a calcula valorile IC₅₀. Valorile CPM duplicate pentru grupele NC, PC au fost calculate în medie. Media de NC a fost scăzută din toate numărările CPM brute. Aceste valori scăzute din fundal au fost apoi împărțite la Martorul Pozitiv Mediu pentru a genera % Activitate. % Activitate a fost scăzută din 100 pentru a genera % Inhibare. Datele au fost reprezentate grafic și se potrivesc următoarei ecuații:

$$\% \text{Activitate} = \frac{(\text{CPM} - \text{CPM}_{\text{f}})}{\text{CPM}_{\text{max}} - \text{CPM}_{\text{f}}} \times 100$$

10 Exemplul 55 Test Bazat pe Celulă PARP-1

Ca răspuns la deteriorarea ADN-ului, poli-(ADP-riboză) polimerază-1 (PARP-1), care este principala izoformă a familiei PARP, este activată rapid de rupturile de lanț de ADN care apar din expunerea la agenți de mediu, terapia cancerului, inflamația, ischemie-reperfuzie și neurodegenerare. Odată activat, NAD⁺ este consumat pentru sinteza polimerului cu încărcare negativă poli-ADPriboză (PAR), care se găsește pe proteinele nucleare țintă, inclusiv PARP-1 ca acceptor major. Ca o consecință a activării PARP, deteriorarea extinsă a ADN-ului poate duce la epuizarea NAD⁺ în celulă și poate duce la moartea celulei. Prin urmare, PARP-1 este considerat o țintă promițătoare pentru dezvoltarea medicamentelor utile în diferite regimuri de terapie pentru cancer, inflamație, ischemie și neurodegenerare.

20 În acest test, pentru a monitoriza activitatea PARP în interiorul celulelor, celulele HeLa au fost tratate cu inhibitori PARP-1 urmat de inducerea deteriorării ADN-ului cu H₂O₂. Activitatea finală PARP1 a fost accesată prin măsurarea nivelurilor de NAD⁺ și NADH în lizatele celulare colectate din celulele tratate și netratate.

Materiale & Reactivi

Sl. Nr.	Material și Reactivi	Furnizor	Nr. Catalog
1	Celule HeLa	ATCC	ATCC® CCL-2TM
2	Ser Fetal Bovin, HI	Invitrogen	10438-026
3	Penicilină-Streptomycină (10.000 U/ml), 100 ml	Invitrogen	15140-122
4	DMEM, glucoză ridicată, Piruvat, 6 X 1.000 ml	Invitrogen	11995-065
5	0,25% Tripsină-EDTA (1X), Fenol Roșu, 100 ml	Invitrogen	25200-056
6	175 cm ² , Balon de Cultură a Țesuturilor, 100/cutie	Corning	CLS431306-84EA
7	1X PBS, pH 7,4, 500 ml	Invitrogen	10010-023
8	96 de godeuri, alb, cu fund plat, steril, 100/cutie	Corning	CLS3917-100EA
9	Microplacă de 96 godeuri, polipropilenă, limpede	Corning	P070
10	Reactiv ACS dimetilsulfoxid, ≥99,9%	Sigma	472301-500 ml
11	Universal tips, Clar, 0,5-10UL, 1000/pachet	Axygen	T-300
12	Universal tips, CLEAR, 1-200UL, 1000/pachet	Axygen	T-200-C
13	Kit NAD/NADH Glo	Promega	G9072
14	Bromură de dodeciltrimetilamoniu	Sigma	D5047-5G
15	NaOH	Sigma	S8045-500G
16	Bicarbonat de Sodiu	Sigma	S5761-500G

17	Carbonat de Sodiu	Sigma	S7795-500G
18	Nicotinamidă	Sigma	N5535-100G
19	TritonX-100	Sigma	T9284-100 ml
20	Bază Trizma®	Sigma	93362-250G
21	Acid clorhidric	Sigma	H1758-100 ml
22	Olaparib	Medchem Express	HY-10162
23	Envision Plate Reader	Perkin Elmer	2104
24	Umidificator incubator CO2	Thermo Scientific	
25	Pipete/Pipete serologice	Eppendorf/Corning	

Instrumente: Detectie: detectarea Luminiscenței în Envision Plate Reader/TopCount (Perkin Elmer)

Pregătirea Reactivului și a Mediului

5

Pregătirea Mediului de Cultură

- DMEM Mediu : 1X
- FBS (Inactiv la Căldură) : 10%
- Pen-Strep (10.000 U/ml) : 0,1 mg/ml
- L-Glutamină : 2 mM

Pregătirea Reactivului de Detectare a Luciferinei

10 Tamponul de reconstituire a fost dezghețat. Tamponul de reconstituire și reactivul de detectare a luciferinei au fost echilibrate la TC. Intregul conținut al flaconului tampon de reconstituire a fost transferat în flaconul de chihlimbar de reactiv de detectare a luciferinei liofilizate. Cei doi reactivi au fost amestecați prin rotire sau inversare pentru a obține o soluție uniformă. Fără vortex. Reactivul de detectare a luciferinei ar trebui să intre în soluție cu ușurință în mai puțin de 1 minut.

Pregătirea Reactivului de Detectare NAD/NADH-Glo™

15 Un volum egal de Reactiv de Detectare NAD/NADH-Glo™ a fost adăugat la fiecare probă care conține NAD⁺ sau NADH.

20 Reactivul de detectare a luciferinei reconstituit a fost echilibrat la TC. Reductaza, substratul reductazei și substratul de ciclare NAD⁺ au fost decongelate la TC sau pe gheață chiar înainte de utilizare. Enzima ciclantă NAD⁺ a fost reconstituită prin adăugarea a 275 μl de apă. Amestecul a fost invertat ușor flaconul și depozitat pe gheață. Cantitatea necesară de reactiv de detectare NAD/NADH-Glo™ a fost preparată prin adăugarea a 5 μl de reductază, 5 μl de substrat de reductază, 5 μl de enzimă de ciclare NAD⁺ și 25 μl de substrat de ciclare NAD⁺ la 1 ml de reactiv de detectare a luciferinei reconstituit. Amestecul a fost inversat ușor de cinci ori.

Condiții Finale de Testare:

- Volumul Testului : 100 μl
- Tip de Celulă : Celule HeLa
- Densitatea Însămânțării : 10.000 celule/godeu Celulare
- Mediu : DMEM, 10% FBS, 0,1 mg/ml Pen-Strep, 2 mM L-Glutamină
- Concentrație DMSO : 0,5%
- Placă de Testare : 96 godeuri Alb, TC, Steril, cu capac
- Timp de Incubare Compus : 18 ore
- Nivelul CO₂ : 5%
- Umiditate : 95%
- Temperatura : 37 °C
- Concentrația H₂O₂ : 200 μM

25

Însămânțarea Celulară și Tratament Compus:

Celulele HeLa din microplaca de cultură celulară cu 96 de godeuri au fost însămânțate la o densitate de 10.000 celule/godeu în mediu de cultură de 90 μl. Plăcile se incubează timp de 4 ore la 37 °C sub atmosferă de 5% CO₂. S-au adăugat 10 μl de compuși 10X (5% DMSO) cu diluții seriale peste

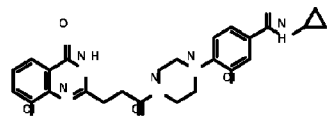
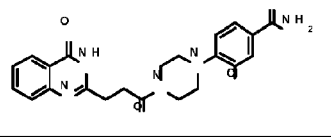
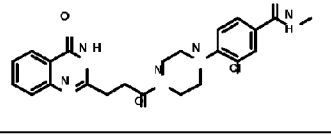
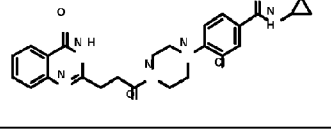
opt puncte (interval de concentrație: 0,3-100 nM) Plăcile tratate au fost incubate timp de 18 ore la 37 °C în 5% CO₂. 5 μl de H₂O₂ soluție în H₂O (concentrație finală 200 μM) a fost adăugat pentru a provoca daune ADN-ului. Celulele netratate cu H₂O₂ au fost ținute în godeurile de martor negativ. Placa a fost incubată la 37 °C timp de 5 minute și apoi a fost inversată pentru a îndepărta ușor mediul.

Determinarea activității PARP: măsurări NAD⁺ și NADH separat

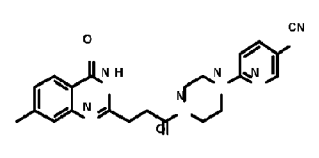
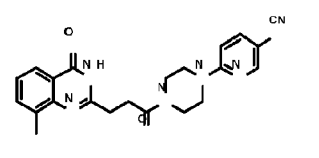
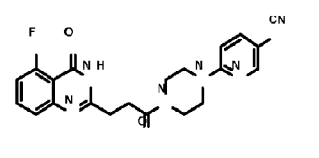
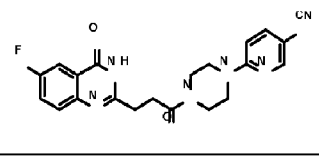
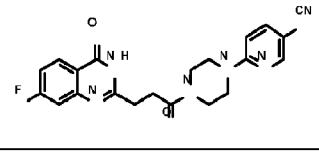
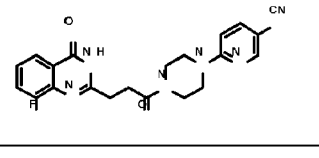
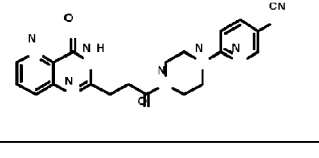
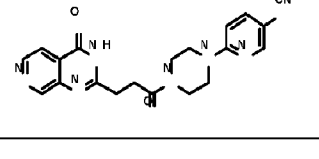
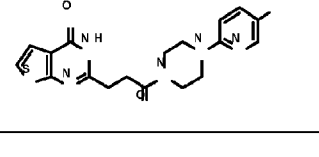
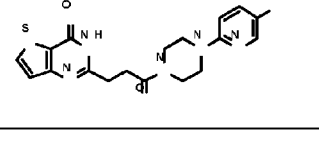
Acest protocol este destinat testării celulelor în 50 μl de PBS pe godeu în plăci de luminometru alb cu 96 de godeuri. Fiecare godeu de celule a fost împărțit în două probe: o probă a fost tratată cu acid pentru a cuantifica NAD⁺, iar cealaltă a fost tratată cu bază pentru a cuantifica NADH. La placarea celulelor, godeurile de pe placă au fost rezervate pentru divizarea probelor. Alternativ, s-a utilizat o a doua placă atunci când s-au despărțit probele.

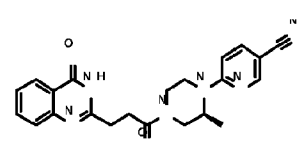
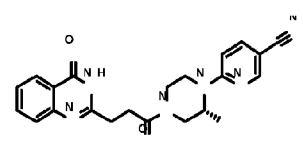
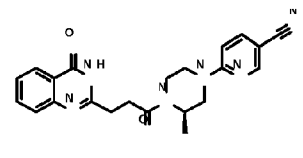
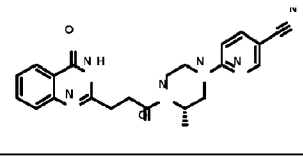
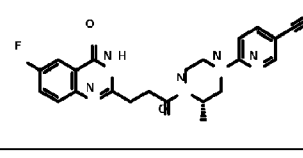
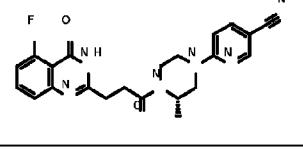
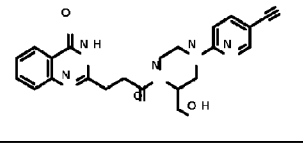
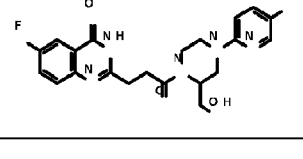
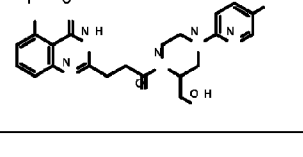
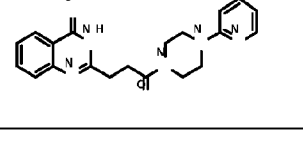
S-au adăugat 50 μl de soluție de bază cu 1% DTAB la fiecare godeu de celule în 50 μl de PBS. Placa a fost amestecată scurt pe un agitator pentru a asigura omogenitatea și liza celulară. O cantitate de 50 μl din fiecare probă a fost îndepărtată într-un godeu gol pentru tratamentul acid. La aceste probe, s-a adăugat un 25 μl de HCl 0,4 N per godeu; aceste godeuri conțineau probele tratate cu acid. Godeurile originale pentru probe sunt probele tratate de bază. Placa a fost acoperită și incubată timp de 15 minute la 60 °C. Placa a fost apoi echilibrată timp de 10 minute la TC. La fiecare godeu de celule tratate cu acid s-au adăugat 25 μl de 0,5 M Trizma® bază pentru a neutraliza acidul. S-au adăugat 50 μl de soluție de HCl/Trizma® la fiecare godeu care conține probe tratate cu bază. Reactivul de Detectare NAD/NADH-Glo™ a fost preparat așa cum s-a descris mai sus. Un volum egal de Reactiv de Detectare NAD/NADH-Glo™ (de exemplu, 100 pl) a fost adăugat la fiecare godeu. Placa a fost scuturată ușor pentru a se amesteca. Placa a fost incubată timp de 30-60 minute la TC. Luminescența a fost înregistrată folosind un luminometru (Envision, PerkinElmer). Valorile luminescenței au fost colectate. O regresie non-lineară a fost utilizată pentru a genera curbele de răspuns la doză și pentru a calcula valorile IC₅₀.

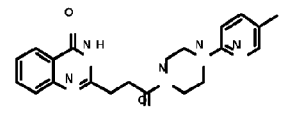
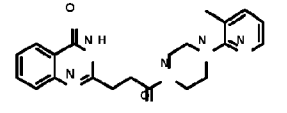
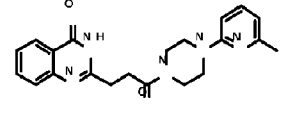
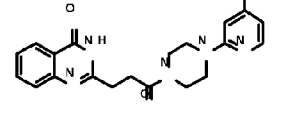
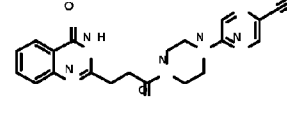
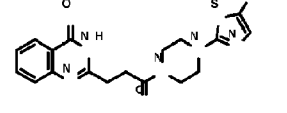
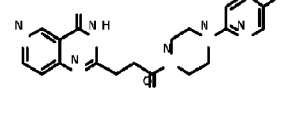
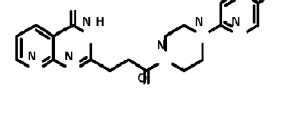
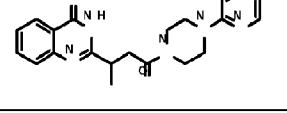
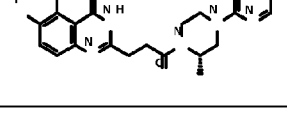
Tabelul de mai jos enumeră efectele inhibitoare ale compușilor reprezentativi ai prezentei invenții împotriva activităților PARP1-1 și PARP-2. Rezultatele indică faptul că compușii prezentei invenții au inhibat selectiv PARP1-1 peste PARP-2 și sunt utili pentru creșterea cantității de NAD⁺ în celule.

Exemplul Nr.	Structură	Medie PARP-1 IC ₅₀ (concentrație superioară 10 uM) (nM)	Medie PARP-2 IC ₅₀ (concentrație superioară) (nM)	10 uM) H ₂ O ₂ NAD ⁺ test celular HeLa EC ₅₀ (nM)
Ex. 1		27	181	909
Ex. 2		7	69	
Ex. 3		16	196	1322
Ex. 4		26		1658

Ex. 5		51		1096
Ex. 6		29		1271
Ex. 7		30		2630
Ex. 8		325		
Ex. 9		160		
Ex. 10		180		
Ex. 11		6	338	50
Ex. 12		25		
Ex. 13		54		
Ex. 14		23		974

Ex. 15		196		
Ex. 16		7	40	163
Ex. 17		8	215	16
Ex. 18		7	216	24
Ex. 19		83		
Ex. 20		12		288
Ex. 21		99		
Ex. 22		395		
Ex. 23		35	10294	552
Ex. 24		11	1591	341

Ex. 25		70		
Ex. 26		47		770
Ex. 27		94		
Ex. 28		10	910	138
Ex. 29		12	611	156
Ex. 30		12	624	110
Ex. 31		6	42	440
Ex. 32		5		1232
Ex. 33		7		2736
Ex. 34		54		

Ex. 35		35		562
Ex. 36		120		
Ex. 37		359		
Ex. 38		129		
Ex. 39		14	468	754
Ex. 40		53		1502
Ex. 41		97		
Ex. 42		58		12271
Ex. 43		42	3817	440
Ex. 44		11		345

Ex. 45		92		
Ex. 46		278		
Ex. 47		922		
Ex. 48		30		7564
Ex. 49		36		22383
Ex. 50		255		
Ex. 51		83	339	
Ex. 52		68	999	
Ex. 53		189		

Exemplul 56 Model de Șobolan cu Leziuni Renale Acute (AKI)

Animale, intervenție chirurgicală și dozare: Șobolani masculi Sprague-Dawley de aproximativ 300-350g, cu acces ad libitum la mâncare standard și apă, au fost folosiți în aceste experimente. Șobolani au fost aneșteziați cu izofluran și așezați ventral pe o platformă chirurgicală încălzită cu temperatură controlată. S-a făcut o incizie cutanată pe suprafața dorsală, expunând ambii rinichi prin incizii de flanc. Clemele vasculare au fost aplicate atât pe pediculii renali, și ocluzia a durat 45 de minute. După 45 de minute, clemele au fost îndepărtate, rinichii au fost monitorizați pentru reperfuzie cu succes și situsurile chirurgicale au fost suturate. Grupul placebo a fost supus unor

proceduri chirurgicale similare, cu excepția faptului că nu a fost aplicată clema de ocluzie. Compuși au fost formulați ca o soluție limpede zilnică proaspătă din Exemplul 29 sau Exemplul 30 în *N*-metil piroolidonă: PEG300: Propilen glicol: soluție salină normală (10:30:20:40). Compușii sau vehiculul au fost dozați IV prin vena cozii la 15 mg/kg (3 ml/kg) la 4 ore după reperfuzie în ziua intervenției chirurgicale. În ziua 1 (ziua după intervenția chirurgicală) animalelor li s-a administrat vehicul sau 15 mg/kg din Exemplul 29 sau Exemplul 30 (3 ml/kg IV) la începutul ciclului de lumină. Animalele martor din intervențiile chirurgicale placebo au fost dozate în mod similar cu vehiculul.

Recoltarea plasmei și măsurarea biomarkerului: Douăzeci și patru (24) de ore după reperfuzie, sangele a fost colectat în tuburi K2 EDTA prin sangerare retro-orbitală din toate grupurile sub anestezie ușoară cu izofluran. Plasma a fost separată prin centrifugare la 3000 rpm timp de 10 minute la 4°C. Creatinina plasmatică și azotul din urea din sânge (BUN) au fost analizate folosind un analizor de biochimie clinică complet automatizat (Siemens Dimension® Xpand® Plus Integrated Chemistry System) *Analiza datelor și Analiza Statistică:* software-ul GraphPad Prism, versiunea 6.05 a fost utilizat pentru grafic și testarea statistică. Creatina și BUN au fost testate pentru distribuția normală în toate grupele printr-un test de normalitate D'Agostino-Pearson omnibus și un test de normalitate Shapiro-Wilk. Semnificația statistică ($p < 0,05$) a fost determinată de testul *t* student care a comparat vehiculul placebo cu vehiculul IR sau vehiculul IR cu grupul tratat cu Compus. ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$, #### $p < 0,0001$ Placebo vs. vehicul IR; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vehicul IR vs. grupul tratat cu compus (Exemplul 29 sau Exemplul 30).

Rezultate: inhibitori PARP1 Exemplul 29 și Exemplul 30, dozat IV după ischemie-reperfuzie, reducerea leziunilor renale. Ambii compuși au redus semnificativ creatinina plasmatică și BUN când au fost dozați la 15 mg/kg (Figura 1).

Exemplul 57 Testul micronucleului *in vitro* și *in vivo*

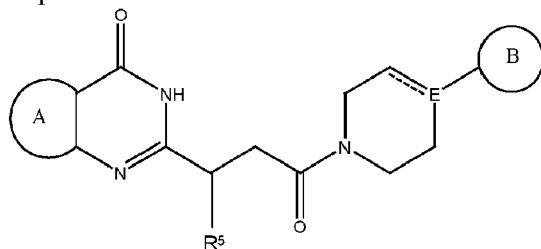
Anumiți compuși ai acestei invenții nu au prezentat activitate clastogenă la testul micronucleului *in vitro* și/sau *in vivo*.

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- WO-A1-2014/036022

(57) Revendicări:

1. O compoziție farmaceutică cuprinzând un purtător sau diluant acceptabil farmaceutic și un compus reprezentat de următoarea formulă structurală:



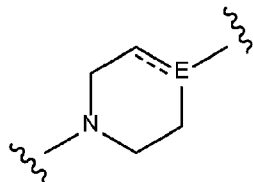
sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, în care:

Inelul A este fenil opțional substituit sau un heteroaril cu 5-6 membri opțional substituit;

Inelul B este aril, heteroaril cu 5-6 membri sau heterociclic cu 5-6 membri, fiecare opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți reprezentați de R³;

"-----" este absent sau o legătură;

E este N sau CH când "-----" este absent sau E este C când "-----" este o legătură;



este opțional substituit cu (C₁-C₅)alchil sau hidroxi (C₁-C₅)alchil;

fiecare R^3 este selectat în mod independent din grupul constând din -halogen, -CN, -NO₂, -OR^d, -NR^eR^f, -S(O)_iR^e, -C(=NR^e)NR^eR^f, -NR^eS(O)_iR^f, -S(O)_iNR^eR^f, -C(=O)OR^e, -OC(=O)OR^e, -C(=S)OR^e, -O(C=S)R^e, -C(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=O)R^f, -C(=S)NR^eR^f, -NR^eC(=S)R^f, -NR^e(C=O)OR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)OR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^e(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)NR^eR^f, -C(=S)R^e, -C(=O)R^e, halo(C₁-C₅)alchil și (C₁-C₅)alchil, în care (C₁-C₅)alchil reprezentat de R^3 este opțional substituit cu -CN, -NO₂, -OR^e, -NR^eR^f, -S(O)_iR^e, -NR^eS(O)_iR^f, -S(O)_iNR^eR^f, -C(=O)OR^e, -OC(=O)OR^e, -C(=S)OR^e, -O(C=S)R^e, -C(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=O)R^f, -C(=S)NR^eR^f, -NR^eC(=S)R^f, -NR^e(C=O)OR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)OR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^e(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)NR^eR^f, -C(=S)R^e, sau -C(=O)R^e;

R^d este -H, halo(C₁-C₅)alchil sau (C₁-C₅)alchil, în care (C₁-C₅)alchil este opțional substituit cu hidroxil sau (C₁-C₃)alcoxi;

fiecare R^e este selectat în mod independent din grupul format din -H și (C₁-C₅)alchil opțional substituit cu hidroxil sau (C₁-C₃)alcoxi;

fiecare R^f este independent selectat din grupul constând din -H, (C₁-C₅)alchil opțional substituit cu hidroxil sau (C₁-C₃)alcoxi, (C₃-C₆)cicloalchil opțional substituit cu (C₁-C₂) alchil și heterocicil conținând oxigen cu 4-6 membri opțional substituit cu (C₁-C₂) alchil; sau

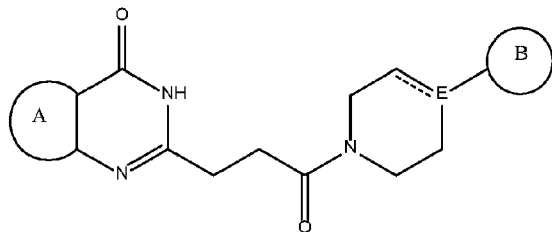
-NR^eR^f luați împreună este un heterocicil cu 4-6 membri opțional substituit cu (C₁-C₂) alchil; sau

-C(=NR^e)NR^eR^f luați împreună este un heterocicil cu 4-6 membri opțional substituit cu R^e ;

R^5 este -H sau (C₁-C₅)alchil; și

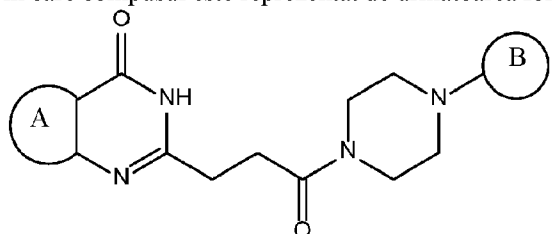
i este 0, 1 sau 2.

2. Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 1, în care compusul este reprezentat de următoarea formulă structurală:

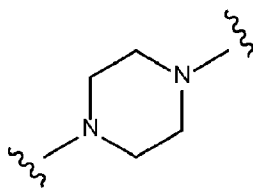


sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, sau

în care compusul este reprezentat de următoarea formulă structurală:

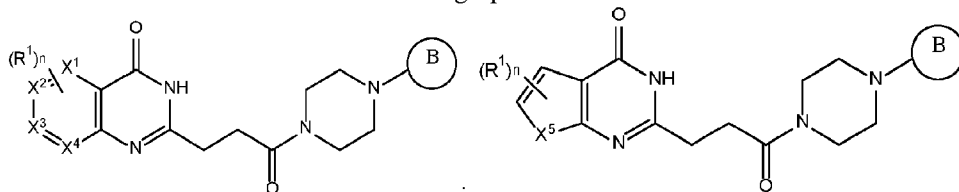


sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia și în care

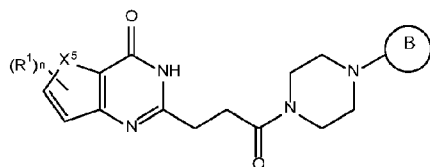


este opțional substituit cu (C₁-C₅)alchil sau hidroxi(C₁-C₅)alchil.

3. Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicările 1 sau 2, în care compusul este reprezentat de o formulă structurală selectată din grupul constând din:



și

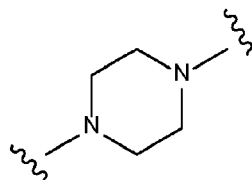


sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

X^1 , X^2 , X^3 și X^4 sunt fiecare selectate independent din grupul format din N și CH, cu condiția ca cel mult doi dintre X^1 , X^2 , X^3 și X^4 să fie N;

X^5 este NR^2 , O, sau S;

Inelul B este aril, heteroaril cu 5-6 membri sau heterociclic cu 5-6 membri, fiecare opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți reprezentați de R^3 ;



este opțional substituit cu (C_1-C_5) alchil sau hidroxi (C_1-C_5) alchil;

fiecare R^1 este selectat în mod independent din grupul constând din -halogen, -CN, -NO₂, -OR^c, -NR^aR^b, -S(O)_iR^a, -NR^aS(O)_iR^b, -S(O)_iNR^aR^b, -C(=O)OR^a, -OC(=O)OR^a, -C(=S)OR^a, -O(C=S)R^a, -C(=O)NR^aR^b, -NR^aC(=O)R^b, -C(=S)NR^aR^b, -NR^aC(=S)R^b, -NR^a(C=O)OR^b, -O(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)OR^b, -O(C=S)NR^aR^b, -NR^a(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)NR^aR^b, -C(=S)R^a, -C(=O)R^b, halo (C_1-C_5) alchil și (C_1-C_5) alchil, în care (C_1-C_5) alchil reprezentat de R^1 este opțional substituit cu -CN, -NO₂, -OR^c, -NR^aR^b, -S(O)_iR^a, -NR^aS(O)_iR^b, -S(O)_iNR^aR^b, -C(=O)OR^a, -OC(=O)OR^a, -C(=S)OR^a, -O(C=S)R^a, -C(=O)NR^aR^b, -NR^aC(=O)R^b, -C(=S)NR^aR^b, -NR^aC(=S)R^b, -NR^a(C=O)OR^b, -O(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)OR^b, -O(C=S)NR^aR^b, -NR^a(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)NR^aR^b, -C(=S)R^a sau -C(=O)R^b;

R^2 este -H, C_{1-5} alchil, fenil, -C(O) $(C_{1-5}$ alchil), -C(O)(fenil), -C(O)O $(C_{1-5}$ alchil), -C(O)O(fenil), -S(O)₂ $(C_{1-5}$ alchil) sau -S(O)₂(fenil), în care fiecare alchil din grupele reprezentate de R^2 independent este opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți selectați din grupul constând din halogen, hidroxi, cian, fenil, heteroaril cu 5-6 membri, (C_1-C_5) alcoxi și halo (C_1-C_5) alcoxi, și în care fiecare fenil din grupele reprezentate de R^2 independent este opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți selectați din grupul constând din halogen, hidroxi, nitro, ciano, amino, (C_1-C_5) alchil, halo (C_1-C_5) alchil, (C_1-C_5) alcoxi și halo (C_1-C_5) alcoxi; cum ar fi în care R^2 este -H sau (C_1-C_5) alchil, sau în care R^2 este -H sau metil;

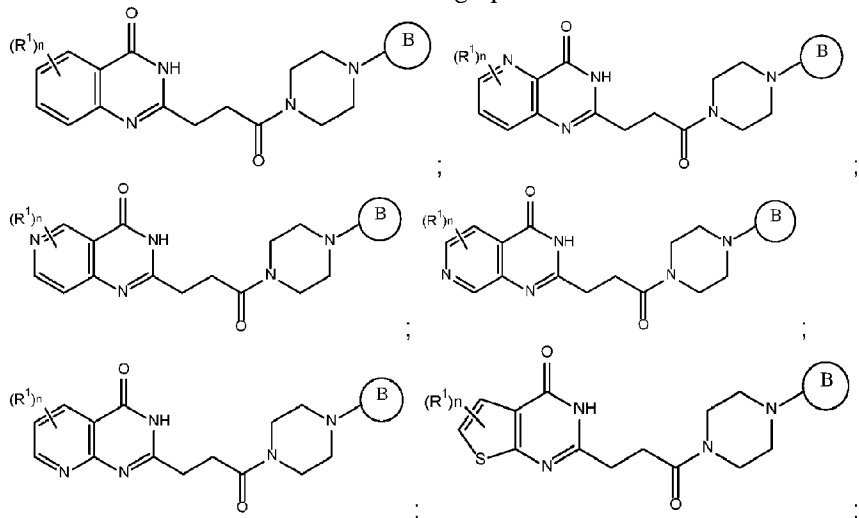
fiecare R^a și fiecare R^b sunt selectați în mod independent dintre -H și (C_1-C_5) alchil opțional substituit cu hidroxil sau (C_1-C_3) alcoxi;

R^c este -H, halo (C_1-C_5) alchil sau (C_1-C_5) alchil, în care (C_1-C_5) alchil este opțional substituit cu hidroxil sau (C_1-C_3) alcoxi;

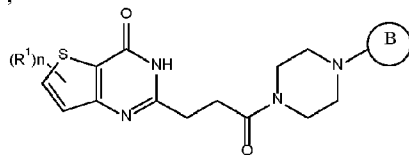
i este 0, 1 sau 2; și

n este 0, 1 sau 2.

4. Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 3, în care compusul este reprezentat de o formulă structurală selectată din grupul constând din:

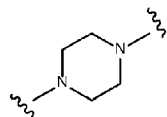


și



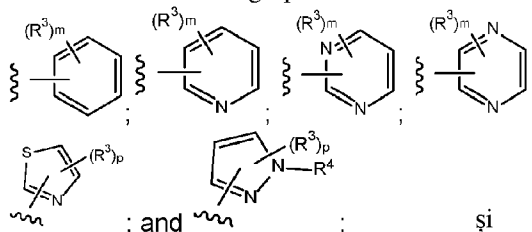
sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, în care:

Inelul B este aril, heteroaril cu 5-6 membri sau heterociclic cu 5-6 membri, fiecare opțional substituit cu unul sau mai mulți substituenți reprezentați de R³; și



este opțional substituit cu (C₁-C₅)alchil sau hidroxi(C₁-C₅)alchil.

5. Compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 4, în care Inelul B este selectat din grupul constând din

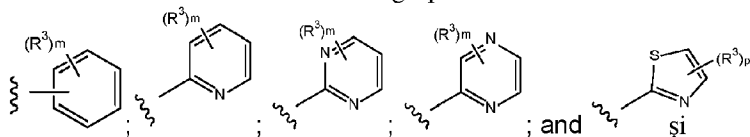


fiecare R⁴ este -H, (C₁-C₅)alchil sau hidroxi (C₁-C₅)alchil;

fiecare p este independent 0 sau 1; și

fiecare m este 0 sau 1 sau 2;

sau în care inelul B este selectat din grupul format din



6. Compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 3 până la 5, în care:

fiecare R¹ este în mod independent halogen, (C₁-C₅)alchil, halo(C₁-C₅)alchil, (C₁-C₅)alcoxi, halo(C₁-C₅)alcoxi sau cian;

fiecare R³ este selectat în mod independent din grupul constând din -halogen, -CN, -C(=NRᵉ)NHRᶠ, -C(=NRᵈ)NRᵉRᶠ, -S(O)ᵢNRᵉRᶠ, -C(=O)NRᵉRᶠ, -C(=S)NRᵉRᶠ, -O(C=O)NRᵉRᶠ, -O(C=S)NRᵉRᶠ, -NRᵈ(C=O)NRᵉRᶠ, -NRᵈ(C=S)NRᵉRᶠ și (C₁-C₅)alchil, cum ar fi în care:

fiecare R¹ este în mod independent halogen sau (C₁-C₅)alchil;

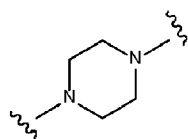
fiecare R³ este selectat în mod independent din grupul constând din halogen, -CN, -C(=NRᵈ)NRᵉRᶠ, -C(=O)NRᵉRᶠ, -C(=NRᵉ)NHRᶠ și (C₁-C₅)alchil.

7. Compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 3 până la 6, în care:

fiecare R¹ este în mod independent clor, fluor sau metil;

fiecare R³ este selectat în mod independent din grupul constând din clor, fluor, -CN, -C(=NRᵈ)NRᵉRᶠ,

-C(=O)NRᵉRᶠ și metil;



grupul este opțional substituit cu metil sau hidroximetil.

8. Compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 5 până la 7, în care:

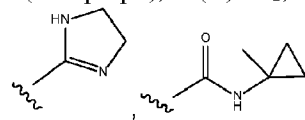
fiecare Rᵉ și fiecare Rᶠ sunt selectați în mod independent din grupul format din -H și metil; sau

Rᵉ este -H și Rᶠ este --(C₃-C₆)cicloalchil sau heterociclic cu 4-6 membri conținând oxigen, fiecare opțional substituit cu (C₁-C₂) alchil;

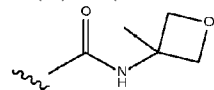
cum ar fi în care:

fiecare R^e și fiecare R^f sunt selectați în mod independent din grupul format din -H și metil; sau R^e este -H și R^f este ciclopropil, ciclobutil sau oxetanil fiecare opțional substituit cu metil.

9. Compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 5 până la 7, în care fiecare R^3 este selectat în mod independent din grupul constând din clor, fluor, -CN, -C(O)NH(ciclopropil), -C(O)NH₂, -C(O)NH(CH₃), -C(O)N(CH₃)₂,

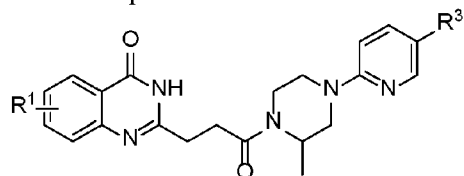


-C(O)NH(ciclobutil),



-C(=NH)NHCH₃ și metil.

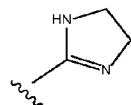
10. Un compus cu următoarea formulă structurală:



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

R^1 este F sau metil; și

R^3 este -CN, -C(=NH)NHCH₃,



sau metil.

11. Compusul în conformitate cu revendicarea 10, în care:

R^1 este F; și

R^3 este -CN.

12. Compusul în conformitate cu revendicarea 11, în care compusul este 6-[(3S)-4-[3-(6-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

13. Compusul în conformitate cu revendicarea 11, în care compusul este 6-[(3S)-4-[3-(5-fluor-4-oxo-3H-chinazolin-2-il)propanoil]-3-metil-piperazin-1-il]piridin-3-carbonitril sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

14. Compoziție farmaceutică în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 9, sau un compus sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 10 până la 13 pentru utilizare în tratamentul unei boli care poate fi ameliorată prin inhibarea poli(ADP riboză)polimerazei (PARP);

în care boala care poate fi ameliorată prin inhibarea PARP este o tulburare a structurii musculare, o tulburare de activare neuronală, o tulburare de oboseală musculară, o tulburare de masă musculară, o boală de beta-oxidare, o boală metabolică, un cancer, o boală vasculară, o boală oculară vasculară, o boală musculară a ochilor sau o boală renală;

în care:

tulburarea structurii musculare este selectată dintre miopatia Bethlem, boala miezului central, disproporția congenitală de tip fibră, distrofia musculară distală (DM), DM Duchenne și Becker, DM Emery-Dreifuss, DM facioscapulohumeral, miopatia corpului hialin, DM a centurilor, tulburări ale canalului de sodiu muscular, condrodistrofie miotonică, distrofie miotonică, miopatie miotubulară, boală nemalină a corpului, DM oculofaringian și incontinență urinară de stres;

tulburarea de activare neuronală este selectată dintre scleroza laterală amiotrofică, boala Charcot-Marie-Tooth, sindromul Guillain-Barre, sindromul Lambert-Eaton, scleroza multiplă, miastenia gravis, leziunea nervoasă, neuropatia periferică, atrofia musculară spinală, paralizie nervoasă ulnară tardivă și tulburare mioneurală toxică;

tulburarea de oboseală musculară este selectată dintre sindromul oboselii cronice, diabetul zaharat (tip I sau II), boala de stocare a glicogenului, fibromialgia, ataxia lui Friedreich, claudicarea intermitentă, miopatia de stocare a lipidelor, MELAS, mucopolizaharidoză, boala Pompe și miopatia tirotoxică;

tulburarea masei musculare este cașexia, degenerarea cartilajului, paralizia cerebrală, sindromul compartimentului, miopatia bolii critice, miozita corpului de incluziune, atrofia musculară (dezafectare), sarcopenia, miopatia steroizilor și lupusul eritematos sistemic;

boala beta-oxidării este selectată dintre transportorul sistemic de carnitină, deficitul de carnitină palmitoiltransferază (CPT) II, deficit de acil-CoA dehidrogenază cu lanț foarte lung (LCHAD sau VLCAD), deficit de enzimă trifuncțională, deficit de dehidrogenază cu acil-CoA cu lanț mediu (MCAD), deficit de dehidrogenază acil-CoA cu lanț scurt (SCAD) și tulburări de β -oxidare (RR-MADD) care răspund la riboflavină;

boala metabolică este selectată dintre hiperlipidemie, dislipidemie, hipercolesterolemie, hipertrigliceridemie, HDL hipocolesterolemie, LDL hipercolesterolemie și/sau HLD non-colesterolemie, hiperproteinemie VLDL, dislipoproteinemie, apolipoproteină A-I hiperproteinemie, arteroscleroză, boală a sistemelor cardiovasculare, boală cerebrovasculară, boală circulatorie periferică, sindrom metabolic, sindrom X, obezitate, diabet (tip I sau II), hiperglicemie, rezistență la insulină, toleranță la glucoză afectată, hiperinsulinism, complicație diabetică, insuficiență cardiacă, infarct cardiac, cardiomiopatie, hipertensiune arterială, boală hepatică grasă nealcoolică (NAFLD), steatohepatită nealcoolică (NASH), trombus, boală Alzheimer, boală neurodegenerativă, boală demielinizantă, scleroză multiplă, adrenoleucodistrofie, dermatită, psoriazis, acnee, îmbătrânire a pielii, trihoză, inflamație, artrită, astm, sindromul intestinului hipersensibil, colita ulcerativă, boala Crohn și pancreatita;

boala vasculară este selectată dintre insuficiența vasculară periferică, boala vasculară periferică, claudicarea intermitentă, boala vasculară periferică (PVD), boala arterială periferică (PAD), boala ocluzivă a arterelor periferice (PAOD) și arteriopatia obliterativă periferică;

boala vasculară oculară este selectată dintre degenerescența maculară legată de vârstă (ADM), boala Stargardt, retinopatia hipertensivă, retinopatia diabetică, retinopatia, degenerescența maculară, hemoragia retiniană și glaucomul;

boala musculară a ochiului este selectată dintre strabism, oftalmoplegia externă progresivă, esotropia, exotropia, o tulburare de refracție și acomodare, hipermetropie, miopie, astigmatism, anizometropie, presbiopie, o tulburare de acomodare și oftalmoplegia internă; și

boala renală este selectată dintre glomerulonefrită, glomeruloscleroză, sindrom nefrotic, nefroscleroză hipertensivă, nefrită acută, hematurie recurentă, hematurie persistentă, nefrită cronică, nefrită rapid progresivă, insuficiență renală acută, insuficiență renală cronică, nefropatie diabetică și sindrom Bartter.

cum ar fi în care boala care poate fi ameliorată prin inhibarea PARP este selectată dintre ipodistrofia genetică, boala hepatică grasă nealcoolică (NAFLD), steatohepatita nealcoolică (NASH), ischemia renală/leziunea reperfuziei (IRI), distrofia musculară Duchenne și Becker, diabet (tip I sau tip II), obezitate și sarcopenie, boala Alpers, CPEO-oftalmoplegia externă progresivă cronică, sindromul Kearns-Sayra (KSS), Neuropatia Optică Ereditară Leber (LHON), MELAS-miopatia mitocondrială, encefalomiopatia lactică și episoade asemănătoare accidentului vascular cerebral, epilepsie mioclonică MERRF și boală a fibrelor roșii zdrențuite, slăbiciune musculară neurogenă NARP, ataxie și retinită pigmentară, sindrom Pearson, ototoxicitate indusă de chimioterapie pe bază de platină, sindrom Cockayne, xeroderma pigmentos A, degenerare Walleriană, și lipodistrofia indusă de HIV.

15. Compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 9, sau un compus sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 10 până la 13 pentru utilizare în tratamentul leziunii renale acute.

16. Compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 9, sau un compus sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 10 până la 13 pentru utilizare în tratamentul cancerului.

17. Compoziția farmaceutică în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 1 până la 9, sau un compus sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia în conformitate cu oricare dintre revendicările de la 10 până la 13, pentru utilizare în tratamentul rănilor și/sau arsurilor.

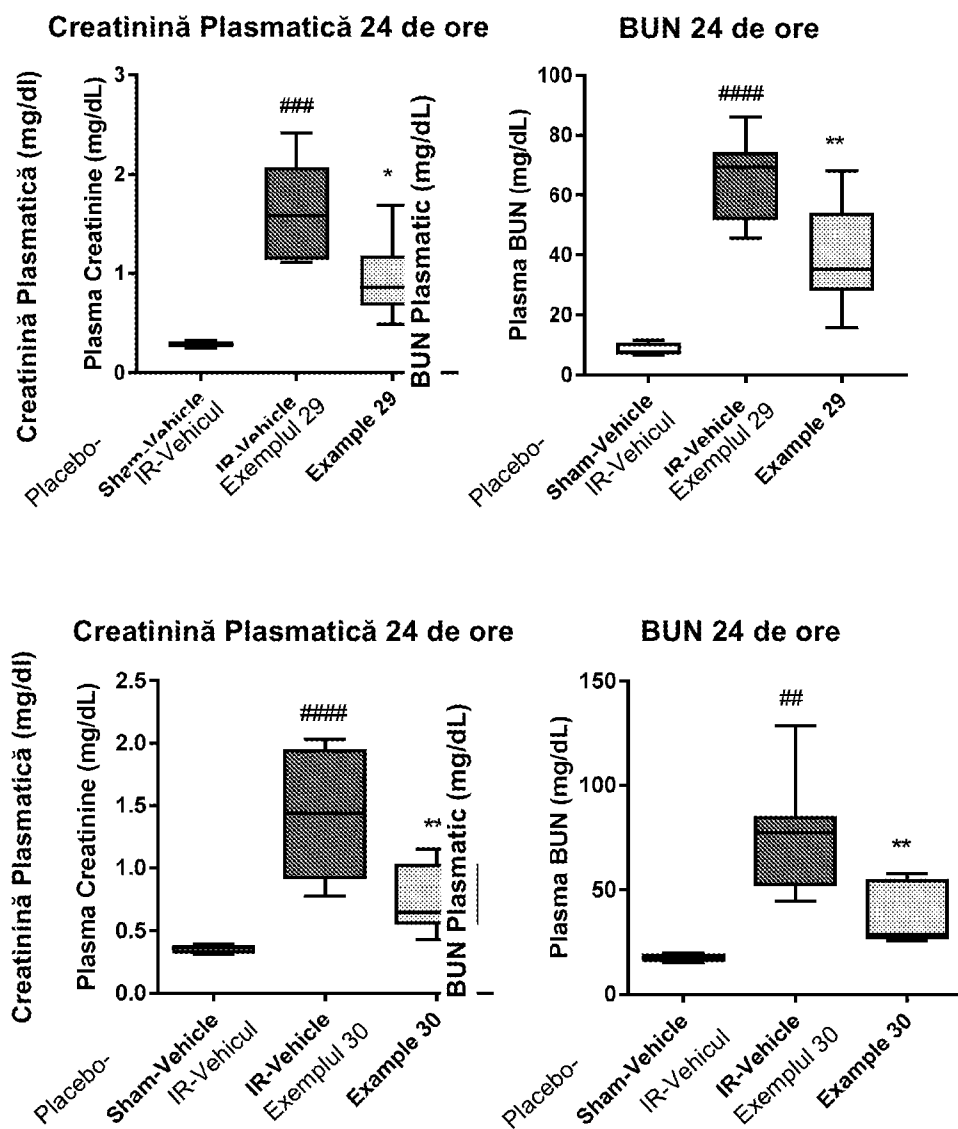


Fig. 1: Inhibitorii PARP1 Exemplul 29 și Exemplul 30 reduc leziunile renale