

TRADUZIONE DEL TESTO DEL BREVETTO EUROPEO N. 3374359
DAL TITOLO:
"DERIVATI DI DIIDROIMIDAZOPIRAZINONE UTILI NEL
TRATTAMENTO DI CANCRO"

*** **

Descrizione

La presente divulgazione riguarda alcuni derivati di diidroimidazopirazinone e loro sali farmaceuticamente accettabili che inibiscono selettivamente ERK e possiedono attività anticancro. La presente divulgazione riguarda anche l'uso di detti derivati di diidroimidazopirazinone e loro sali farmaceuticamente accettabili nei metodi di trattamento del corpo umano o animale, per esempio nella prevenzione o nel trattamento del cancro. La presente divulgazione riguarda anche processi e composti intermedi implicati nella preparazione di detti derivati di diidroimidazopirazinone e composizioni farmaceutiche contenenti detti derivati di diidroimidazopirazinone e loro sali farmaceuticamente accettabili.

Le protein-chinasi svolgono un ruolo regolatorio fondamentale in quasi tutti gli aspetti della biologia cellulare. Le MAP chinasi di mammifero sono costituite da serina/treonina chinasi della proteina citoplasmatica che partecipano alla trasduzione di segnali cellulari dalla membrana plasmatica al nucleo. Esistono più cascate di segnalazione MAPK ciascuna costituita da 3 componenti: una MAPK chinasi (MAP3K), una MAPK chinasi (MAP2K) e una MAPK. Le MAP chinasi



attivate fosforilano numerosi substrati incluse altre protein chinasi, protein fosfatasi, fattori di trascrizione e altre proteine funzionali. La cascata di segnalazione di RAS-RAF-MEK-ERK partecipa alla regolazione della progressione del ciclo cellulare e alla proliferazione, sopravvivenza, metabolismo e trascrizione cellulare.

ERK1 e ERK2 sono MAPK chinasi espresse in modo ubiquitario che partecipano alla cascata di segnalazione di RAS-RAF-MEK-ERK, che contengono entrambe estensioni N- e C-terminali uniche che forniscono specificità di segnalazione, in aggiunta a un inserimento di 31 residui amminoacidici all'interno del dominio chinamico che forniscono una specificità funzionale aggiuntiva. ERK1 e ERK2 sono attivate in un'ampia varietà di tipi cellulari mediante stimolo mitogeno e altri stimoli, determinando l'attivazione di più isoforme di RAS (HRAS, NRAS e KRAS). L'attivazione di RAS porta al reclutamento e all'attivazione di isoforme di RAF (ARAF, BRAF e CRAF) e alla successiva attivazione di MEK1 e MEK2, protein-chinasi a doppia specificità che mediano la fosforilazione della tirosina e treonina di ERK1 e ERK2. ERK1 e ERK2 hanno un gran numero di substrati nucleari e citoplasmatici identificati (riferimento Yoon S, Seger R. The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions; Growth Factors 2006, 24, 21-44).

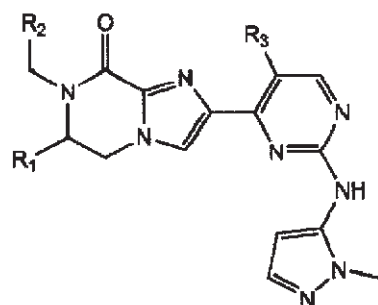
La cascata di segnalazione di RAS-RAF-MEK-ERK è deregolata in una varietà di malattie incluse lesioni cerebrali, cancro, ipertrofia cardiaca, diabete e infiammazione. In particolar modo nel

cancro, le mutazioni in KRAS avvengono in circa il 58% di cancri pancreatici, il 33% di cancri coloretali e il 31% di cancri biliari, e le mutazioni di NRAS nel 18% di melanomi. Le mutazioni oncogeniche in RAS determinano attività di ERK elevata in numerosi tumori. In aggiunta, le mutazioni in BRAF avvengono in circa il 40-60% di melanomi, il 40% di cancri tiroidei e il 20% di cancri coloretali (riferimento Vakiani E, Solit DB. KRAS and BRAF; drug targets and predictive biomarkers; Journal of Pathology 2011, 223, 219-29). Queste osservazioni indicano che la cascata di segnalazione di RAS-RAF-MEK-ERK è una via allettante per terapie anticancro in un'ampia gamma di tumori umani. Si può fare ulteriore riferimento a WO2007/042784 e Bagdanoff, "Bioorg. & Med. Chem.Lett.", 2015, 25(18), pagine 3788-3792.

Abbiamo trovato che una serie di composti chimici che hanno selettività per l'inibizione di ERK rispetto ad altre chinasi sulla stessa cascata di segnalazione.

Quando nel presente documento si fa riferimento all'inibizione di ERK, si intende indicare l'inibizione di ERK1 e/o ERK2, in particolare ERK2.

Secondo un aspetto viene fornito un composto della Formula (I):



(I)

in cui:

R¹ è idrogeno, C₁₋₃ alchile o -CH₂OMe;

R² è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da C₁₋₃ alchile, difluorometile e trifluorometile; o R² è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da C₁₋₃ alchile, difluorometile e trifluorometile; o

R² è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da alo, difluorometile, trifluorometile, metossi e -OCHF₂; e

R³ è idrogeno, C₁₋₃ alchile o cloro;

o un loro sale farmaceuticamente accettabile.

In una forma di realizzazione viene fornito un composto di Formula (I), come definito sopra.

In una forma di realizzazione viene fornito un sale farmaceuticamente accettabile di un composto di Formula (I).

Il termine "facoltativamente sostituito" sarà inteso a indicare "sostituito o non sostituito".

Secondo l'uso fattone qui, il termine "alchile" si riferisce a radicali idrocarburici saturi a catena sia lineare sia ramificata avente il numero specificato di atomi di carbonio. I riferimenti a singoli gruppi alchile come "propile" sono specifici solo per la versione a catena lineare e i riferimenti a singoli gruppi alchile a catena ramificata come "isopropile" sono specifici solo per la versione a catena ramificata.

Esempi di C₁₋₃alchile sono metile, etile, propile e isopropile.

Esempi di C₁₋₄ alchile includono metile, etile, propile, isopropile, butile e *terz*-butile.

I termini "alogeno" o "alo," secondo l'uso fattone qui, si riferiscono a fluoro, cloro, bromo e iodio. In alcune forme di realizzazione il termine "alo" può riferirsi a fluoro, cloro e bromo. In alcune forme di realizzazione il termine "alo" può riferirsi a fluoro e cloro. In alcune forme di realizzazione il termine "alo" può riferirsi a fluoro. In alcune forme di realizzazione il termine "alo" può riferirsi a cloro. In alcune forme di realizzazione il termine "alo" può riferirsi a bromo.

In un aspetto R¹ è idrogeno, metile o -CH₂OMe.

In un aspetto R¹ è metile o -CH₂OMe.

In un aspetto, R¹ è idrogeno.

In un aspetto, R¹ è metile.

In un aspetto, R¹ è - CH₂OMe.

In un aspetto, R² è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e

trifluorometile; o

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e -OCHF₂.

In un aspetto, R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e -OCHF₂.

In un aspetto, R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e $-OCHF_2$.

In un aspetto, R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e $-OCHF_2$.

In un aspetto, R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, metossi e $-OCHF_2$.

In un aspetto, R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1

atomo di carbonio dell'anello da difluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e cloro.

In un aspetto, R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile.

In un aspetto, R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un metile.

In un aspetto, R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da difluorometile.

In un aspetto, R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile.

In un aspetto, R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile o trifluorometile.

In un aspetto, R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da metile.

In un aspetto, R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da difluorometile.

In un aspetto, R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e $-OCHF_2$.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, metossi e $-OCHF_2$.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato tra fluoro, cloro o metossi.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro e metossi.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro e metossi.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e cloro.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e cloro.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 2 atomi

di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e cloro.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e metossi.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e metossi.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da fluoro.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da cloro.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da difluorometile.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da trifluorometile.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da metossi.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da $-OCHF_2$.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 2 atomi di carbonio dell'anello da fluoro.

In un aspetto, R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da cloro.

In un aspetto, R^2 è 6-metilpiridin-2-ile, 4-(difluorometil)piridin-2-ile, 6-(difluorometil)piridin-2-ile, 4-(trifluorometil)piridin-2-ile, 6-(trifluorometil)piridin-2-ile, 2-(trifluorometil)piridin-4-ile, 2-(trifluorometil)pirimidin-4-ile, 6-(trifluorometil)pirimidin-4-ile, 3-clorofenile, 3,4-difluorofenile, 3,5-difluorofenile, 3-cloro-4-fluorofenile, 3-(difluorometossi)fenile, 3-(difluorometil)fenile, 3-metossifenile o 4-fluoro-3-metossifenile.

In un aspetto, R^2 è 6-(difluorometil)piridin-2-ile, 3-clorofenile, 3,4-difluorofenile o 3,5-difluorofenile.

In un aspetto, R^2 è 6-metilpiridin-2-ile.

In un aspetto, R^2 è 4-(difluorometil)piridin-2-ile.

In un aspetto, R^2 è 6-(difluorometil)piridin-2-ile.

In un aspetto, R^2 è 4-(trifluorometil)piridin-2-ile.

In un aspetto, R^2 è 6-(trifluorometil)piridin-2-ile.

In un aspetto, R^2 è 2-(trifluorometil)piridin-4-ile.

In un aspetto, R^2 è 2-(trifluorometil)pirimidin-4-ile.

In un aspetto, R^2 è 6-(trifluorometil)pirimidin-4-ile.

In un aspetto, R^2 è 3-clorofenile.

In un aspetto, R^2 è 3,4-difluorofenile.

In un aspetto, R^2 è 3,5-difluorofenile.

In un aspetto, R^2 è 3-cloro-4-fluorofenile.

In un aspetto, R^2 è 3-(difluorometossi)fenile.

In un aspetto, R^2 è 3-(difluorometile)fenile.

In un aspetto, R^2 è 3-metossifenile.

In un aspetto, R^2 è 4-fluoro-3-metossifenile.

In un aspetto, R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un aspetto, R^3 è idrogeno o metile.

In un aspetto, R^3 è idrogeno.

In un aspetto, R^3 è metile.

In un aspetto, R^3 è cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e $-\text{OCHF}_2$; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio

dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e $-OCHF_2$; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su un 1 atomo di carbonio da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e $-OCHF_2$; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e $-OCHF_2$; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, metossi e $-OCHF_2$; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da difluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e cloro; e R^3 è idrogeno o metile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; e R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da metile; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da difluorometile; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da trifluorometile; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e $-OCHF_2$; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e -OCHF₂; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o -CH₂OMe;

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile e metossi; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o -CH₂OMe;

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro e metossi; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o -CH₂OMe;

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendente selezionato dal gruppo

costituito da fluoro, cloro e metossi; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e cloro; e R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e metossi; e R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e cloro; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendente selezionato dal gruppo costituito da fluoro e metossi; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è 6-metilpiridin-2-ile, 4-(difluorometil)piridin-2-ile, 6-(difluorometil)piridin-2-ile, 4-(trifluorometil)piridin-2-ile, 6-(trifluorometil)piridin-2-ile, 2-(trifluorometil)piridin-4-ile, 2-(trifluorometil)pirimidin-4-ile, 6-(trifluorometil)pirimidin-4-ile, 3-clorofenile, 3,4-difluorofenile, 3,5-difluorofenile, 3-cloro-4-fluorofenile, 3-(difluorometossi)fenile, 3-(difluorometil)fenile, 3-metossifenile o 4-fluoro-3-metossifenile; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è 6-(difluorometil)piridin-2-ile, 3-clorofenile, 3,4-difluorofenile o 3,5-difluorofenile; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è 6-(difluorometil)piridin-2-ile, 3-clorofenile, 3,4-difluorofenile
o 3,5-difluorofenile; e

R^3 è idrogeno o metile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I)
o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 è 6-(difluorometil)piridin-2-ile; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I)
o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 è 3-clorofenile; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I)
o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 è 3,4-difluorofenile; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I)
o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è idrogeno, metile o $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 è 3,5-difluorofenile; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I)

o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è 6-(difluorometil)piridin-2-ile; e

R^3 è idrogeno o metile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I)

o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è 3-clorofenile; e

R^3 è idrogeno o metile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I)

o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è 3,4-difluorofenile; e

R^3 è idrogeno o metile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto di formula (I)

o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

R^1 è metile o $-CH_2OMe$;

R^2 è 3,5-difluorofenile; e

R^3 è idrogeno o metile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito uno qualsiasi o più degli esempi specifici o un loro sale farmaceuticamente accettabile. In un ulteriore aspetto, vengono forniti gli esempi specifici descritti nel presente documento o un loro sale farmaceuticamente accettabile, in cui è escluso uno qualsiasi o più degli esempi. In un ulteriore aspetto,

viene fornito un composto selezionato tra:

2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-

a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

7-(3-clorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

7-(3-(difluorometil)benzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-(3-clorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(4-fluoro-3-metossibenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3-(difluorometossi)benzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-

1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((2-(trifluorometil)piridin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-((4-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

7-(3,4-difluorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-

a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-

a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one; e

(*R*)-7-(3-metossibenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one; o un loro sale farmaceuticamente accettabile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto selezionato tra:

addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico; e

addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one adipico.

In un ulteriore aspetto, viene fornito un composto selezionato tra:

(*S*)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-

il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one; e

(S)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

o un loro sale farmaceuticamente accettabile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito (S)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one; o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one; o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito (S)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

In un ulteriore aspetto, viene fornito (S)-7-((6-

(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one; o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

In un ulteriore aspetto viene fornito il composto dell'Esempio 18 o un suo addotto farmaceuticamente accettabile.

Alcuni composti di Formula (I) hanno un centro chirale e sarà riconosciuto che tale composto di Formula (I) può essere preparato, isolato e/o fornito con o senza la presenza, in aggiunta, di uno o più degli altri 2 isomeri enantiomerici possibili del composto di Formula (I) in qualsiasi relativa proporzione. La preparazione di composti enantioarricchiti/enantiopuri può essere effettuata mediante tecniche standard di chimica organica che sono ben note nell'arte, per esempio mediante sintesi da materiali di partenza enantioarricchiti o enantiopuri, uso di un catalizzatore enantioarricchito o enantiopuro appropriato durante la sintesi, e/o mediante risoluzione di un miscela racemica o parzialmente arricchita di stereoisomeri, per esempio mediante cromatografia chirale.

Per l'uso in un contesto farmaceutico può essere preferibile fornire il composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile senza la presenza di grandi quantità delle altre forme stereoisomeriche.

Di conseguenza, in una forma di realizzazione viene fornita una composizione comprendente un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, facoltativamente insieme a una o più



delle altre forme stereoisomeriche del composto di Formula (I) o suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui il composto di Formula (I) o suo sale farmaceuticamente accettabile è presente all'interno della composizione con un eccesso enantiomerico (% ee) di $\geq 90\%$.

In un'ulteriore forma di realizzazione, la % ee nella composizione summenzionata è $\geq 95\%$.

In un'ulteriore forma di realizzazione, la % ee nella composizione summenzionata è $\geq 98\%$.

In un'ulteriore forma di realizzazione, la % ee nella composizione summenzionata è $\geq 99\%$.

In un'ulteriore forma di realizzazione viene fornita una composizione farmaceutica che comprende un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in associazione a un diluente o veicolo farmaceuticamente accettabile.

In una forma di realizzazione è fornita una composizione farmaceutica che comprende un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in associazione a un diluente o veicolo farmaceuticamente accettabile, comprendente facoltativamente inoltre una o più delle altre forme stereoisomeriche del composto di Formula (I) o suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui il composto di Formula (I) o suo sale farmaceuticamente accettabile è presente all'interno della composizione con un eccesso enantiomerico (% ee) di $\geq 90\%$.

In un'ulteriore forma di realizzazione, la % ee nella composizione summenzionata è $\geq 95\%$.

In un'ulteriore forma di realizzazione, la % ee nella composizione summenzionata è $\geq 98\%$.

In un'ulteriore forma di realizzazione, la % ee nella composizione summenzionata è $\geq 99\%$.

I composti di Formula (I) e loro sali farmaceuticamente accettabili possono essere preparati, usati o forniti in forma amorfa, forma cristallina, o forma semicristallina, e qualsiasi dato composto di Formula (I) o suo sale farmaceuticamente accettabile può essere in grado di essere formato in più di una forma cristallina/polimorfa, incluse forme idrate (per esempio, semi-idrato, un monoidrato, un diidrato, un triidrato o altra stechiometria di idrato) e/o forme solvate. Va compreso che la presente divulgazione racchiude qualsiasi e tutte tali forme solide del composto di Formula (I) e suoi sali farmaceuticamente accettabili.

In ulteriori forme di realizzazione è fornito un composto di Formula (I), che è ottenibile mediante i metodi descritti nella sezione "Esempi" di seguito.

La presente divulgazione è destinata a includere tutti gli isotopi di atomi che si presentano nei presenti composti. Gli isotopi saranno intesi includere quegli atomi che hanno lo stesso numero atomico, ma diversi numeri di massa. Per esempio gli isotopi di idrogeno includono trizio e deuterio. Isotopi di carbonio includono ^{13}C e ^{14}C .

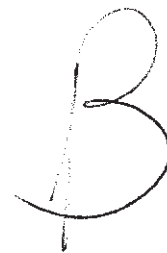
Un sale farmaceuticamente accettabile idoneo di un composto della Formula (I) è, per esempio, un sale di addizione acida.

Un ulteriore sale farmaceuticamente accettabile idoneo di un

composto della Formula (I) è, per esempio, un sale formato nel corpo umano o animale dopo la somministrazione a detto corpo umano o animale di un composto di Formula (I).

Un sale farmaceuticamente accettabile di un composto della Formula (I) può anche essere, per esempio, un sale di addizione acida di un composto della Formula (I), per esempio un sale di addizione acida con un acido inorganico o organico quale acido cloridrico, acido bromidrico, acido solforico o acido trifluoroacetico. Sali farmaceuticamente accettabili della Formula (I) possono anche essere un sale di addizione acida con un acido come uno dei seguenti: acido acetico, acido adipico, acido benzen solfonico, acido benzoico, acido cinnamico, acido citrico, acido D,L-lattico, acido etan disolfonico, acido etan solfonico, acido fumarico, acido L-tartarico, acido maleico, acido malico, acido malonico, acido metan solfonico, acido napadisilico, acido fosforico, saccarina, acido succinico o acido toluensolfonico (come acido *p*-toluensolfonico). Va compreso che un sale farmaceuticamente accettabile di un composto della Formula (I) forma un aspetto della presente divulgazione.

Il composto di Formula (I) può essere preparato come una forma solida co-cristallina. Per chiarezza, un co-cristallo si riferisce a solidi che sono materiali a singola fase cristallina composti da un composto di Formula (I) e almeno un altro composto molecolare e/o ionico, indicato nel presente documento come un co-former, in generale in un rapporto stechiometrico, che non sono né solvati né semplici sali.



Parlando in generale, se il composto di Formula (I) e il suo co-former hanno un ΔpK_a (pK_a (base) - pK_a (acido)) > 1 , vi sarà un sostanziale trasferimento di protoni che determina ionizzazione e potenziale formazione di un sale invece di un co-cristallo. D'altra parte, se il composto di Formula (I) e il suo co-former hanno un ΔpK_a (pK_a (base) - pK_a (acido)) < 1 , vi sarà un trasferimento di protoni meno sostanziale. Se questo criterio viene raggiunto, l'entità composto/co-former deve essere classificata come un co-cristallo. In un co-cristallo, le molecole del composto e co-former interagiscono mediante legame a idrogeno ed eventualmente mediante altre interazioni non covalenti. Si può notare che un co-cristallo può di per sé formare solvati, inclusi gli idrati.

Co-cristalli farmaceuticamente accettabili di un composto della Formula (I) possono essere, ad esempio, co-cristalli di acido adipico o acido fumarico. Va inteso comprendere che un co-cristallo farmaceuticamente accettabile di un composto della Formula (I) forma un altro aspetto della presente divulgazione.

Va inteso che il termine "addotto", come descritto nel presente documento, copre sali farmaceuticamente accettabili e co-cristalli farmaceuticamente accettabili di un composto della Formula (I). Un tecnico del ramo sarà in grado di determinare se un sale o un co-cristallo è formato in base alla differenza del pK_a del composto e del suo co-former come descritto in precedenza. In un aspetto, un addotto è un sale. In un altro aspetto, un addotto è un co-cristallo.

In generale, il riferimento nel presente documento a "un sale

B

farmaceuticamente accettabile di un composto di Formula (I)" (o uno o più degli Esempi) in qualsiasi forma di realizzazione o aspetto intende includere un composto di Formula (I) (o uno qualsiasi o più degli Esempi rispettivamente) presentati come un co-cristallo farmaceuticamente accettabile o più in generale descritto come un addotto (farmaceuticamente accettabile), a meno che il contesto non richieda diversamente.

Il termine "co-cristallo farmaceuticamente accettabile di un composto di Formula (I)" intende riferirsi a un co-cristallo formato tra il composto di Formula (I) e un controione (co-former) farmaceuticamente accettabile. Analogamente, il termine "addotto farmaceuticamente accettabile di un composto di formula (I)" intende riferirsi a un addotto (sale o co-cristallo) formato tra il composto di Formula (I) e un controione (co-former) farmaceuticamente accettabile.

Addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico, indicato nel presente documento come Forma 1, è caratterizzato dal fornire almeno uno tra i seguenti valori 2θ misurati usando radiazione $\text{CuK}\alpha$: 23,3 e 16,7.

Addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico, Forma 1, è caratterizzato dal fornire un pattern di diffrazione di raggi X su polveri,

sostanzialmente come mostrato nella Figura 1. Nella Tabella 1 sono mostrati dieci picchi di diffrazione di raggi X su polveri:

Tabella 1: Dieci picchi di diffrazione di raggi X su polveri per addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico Forma 1

Angolo 2-Theta (2θ)	Intensità %
23,3	100
16,7	72
21,6	67
13,6	67
7,3	47
19,6	37
25,8	33
28,1	32
14,5	25
11,0	24

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno un picco specifico a circa $2\text{-theta} = 23,3^\circ$.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno un picco specifico a circa $2\text{-theta} = 16,7^\circ$.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno due picchi specifici a circa $2\text{-theta} = 23,3^\circ$ e $16,7^\circ$.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con picchi specifici a circa $2\text{-theta} = 23,3, 16,7, 21,6, 13,6, 7,3, 19,6, 25,8, 28,1, 14,5, 11,0^\circ$.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri sostanzialmente uguale al pattern di diffrazione di raggi X su polveri mostrato nella Figura 1.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno un picco specifico a 2-theta = 23,3° più o meno 0,2° 2-theta.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno un picco specifico a 2-theta = 16,7° più o meno 0,2° 2-theta.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno due picchi specifici a 2-theta = 23,3° e 16,7° in cui detti valori possono essere più o meno 0,2° 2-theta.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-

(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con picchi specifici a 2-theta = 23,3, 16,7, 21,6, 13,6, 7,3, 19,6, 25,8, 28,1, 14,5, 11,0° in cui detti valori possono essere più o meno 0,2° 2-theta.

L'analisi DSC di addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico, Forma 1, mostra un endoterma di fusione con un inizio di 203,8°C e un picco a 204,6°C (Figura 2).

Pertanto l'analisi DSC mostra addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico, Forma 1, è un solido ad elevato punto di fusione con un inizio di fusione a circa 203,8°C e un picco a circa 204,6°C.

Addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, nel presente documento indicato come Forma 1, è caratterizzato dal fornire almeno uno tra i seguenti valori 2θ misurati usando radiazione CuKα: 8,6 e 9,8.

Addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, è caratterizzato dal fornire un pattern di diffrazione di raggi X su polveri,

sostanzialmente come mostrato nella Figura 3. Nella Tabella 2 sono mostrati dieci picchi di diffrazione di raggi X su polveri:

Tabella 2

Dieci picchi di diffrazione di raggi X su polveri per addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico Forma 1

Angolo 2-theta (2θ)	Intensità %
8,6	100
9,8	58
17,8	18
6,3	13
10,3	13
25,8	12
19,1	11
22,8	11
25,1	11
13,2	11

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-

(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno un picco specifico a circa $2\text{-theta} = 8,6^\circ$.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno un picco specifico a circa $2\text{-theta} = 9,8^\circ$.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno due picchi specifici a circa $2\text{-theta} = 8,6^\circ$ e $9,8^\circ$.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con picchi specifici a circa $2\text{-theta} = 8,6, 9,8, 17,8, 6,3, 10,3, 25,8, 19,1, 22,8, 25,1, 13,2^\circ$.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-

(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri sostanzialmente uguale al pattern di diffrazione di raggi X su polveri mostrato nella Figura 3.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Form 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno un picco specifico a 2-theta = 8,6° più o meno 0,2° 2-theta.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno un picco specifico a 2-theta = 9,8° più o meno 0,2° 2-theta.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma cristallina, addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con almeno due picchi specifici a 2-theta = 8,6° e 9,8° in cui detti valori possono essere più o meno 0,2° 2-theta.

Secondo la presente divulgazione viene fornita una forma

cristallina, addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, che ha un pattern di diffrazione di raggi X su polveri con picchi specifici a 2-theta = 8,6, 9,8, 17,8, 6,3, 10,3, 25,8, 19,1, 22,8, 25,1, 13,2° in cui detti valori possono essere più o meno 0,2° 2-theta.

L'analisi DSC di addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, mostra un endoterma di fusione con un inizio di 185,4°C e un picco a 186,2°C (Figura 4).

Pertanto l'analisi DSC mostra addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, è un solido ad elevato punto di fusione con un inizio di 185,4°C e un picco a 186,2°C.

Quando viene affermato che la presente divulgazione riguarda una forma cristallina di addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico, Forma 1, e/o una forma cristallina di addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, il grado di cristallinità è opportunamente maggiore di circa il 60%, più

opportunamente maggiore di circa l'80%, preferibilmente maggiore di circa il 90% e più preferibilmente maggiore di circa il 95%. In modo massimamente preferibile il grado di cristallinità è maggiore di circa il 98%.

L'addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico, Forma 1, fornisce pattern di diffrazione di raggi X su polveri sostanzialmente uguali ai pattern di diffrazione di raggi X su polveri mostrati nella Figura 1 e ha i dieci (valori dell'angolo 2-theta) mostrati nella Tabella 1. L'addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1, fornisce pattern di diffrazione di raggi X su polveri sostanzialmente uguali ai pattern di diffrazione di raggi X su polveri mostrati nella Figura 3 e ha i dieci (valori dell'angolo 2-theta) mostrati nella Tabella 2. Resterà inteso che i valori di 2-theta del pattern di diffrazione di raggi X su polveri possono variare leggermente da una macchina ad un'altra o da un campione ad un altro, e quindi i valori citati non devono essere intesi come assoluti.

È noto che può essere ottenuto un pattern di diffrazione di raggi X su polveri che ha uno o più errori di misurazione a seconda delle condizioni di misurazione (come l'attrezzatura o la macchina usate). In particolare, è noto generalmente che le intensità in un pattern di diffrazione di raggi X su polveri possono oscillare a seconda delle

condizioni di misurazione. Pertanto si dovrebbe comprendere che l'addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico, Forma 1, della presente divulgazione non è limitato ai cristalli che forniscono pattern di diffrazione di raggi X su polveri identici al pattern di diffrazione di raggi X su polveri mostrato nella Figura 1, e qualsiasi cristallo che fornisce pattern di diffrazione di raggi X su polveri sostanzialmente identici a quelli mostrati nella Figura 1 rientra nella portata della presente divulgazione. In aggiunta si dovrebbe comprendere che l'addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico, Forma 1, della presente divulgazione non è limitato ai cristalli che forniscono pattern di diffrazione di raggi X su polveri identici al pattern di diffrazione di raggi X su polveri mostrato nella Figura 3, e qualsiasi cristallo che fornisce pattern di diffrazione di raggi X su polveri sostanzialmente identici a quelli mostrati nella Figura 3 rientra nella portata della presente divulgazione. Un tecnico del ramo della diffrazione di raggi X su polveri è in grado di giudicare l'identità sostanziale di pattern di diffrazione di raggi X su polveri.

I tecnici del ramo esperti nella diffrazione di raggi X su polveri comprenderanno che l'intensità relativa dei picchi può essere influenzata, per esempio, da grani di dimensioni superiori a 30 micron e da rapporti d'aspetto non unitari, che possono influenzare l'analisi dei

campioni. Il tecnico del ramo comprenderà anche che la posizione delle riflessioni può essere influenzata dall'altezza precisa alla quale il campione si trova nel diffrattometro e dalla calibrazione dello zero del diffrattometro. Anche la planarità superficiale del campione può avere un piccolo effetto. I dati relativi ai pattern di diffrazione presentati non devono quindi essere considerati come valori assoluti. (Jenkins, R & Snyder, R.L. 'Introduction to X-Ray Powder Diffractometry' John Wiley & Sons 1996; Bunn, C.W. (1948), Chemical Crystallography, Clarendon Press, London; Klug, H. P. & Alexander, L. E. (1974), X-Ray Diffraction Procedures).

Generalmente, un errore di misurazione di un angolo di diffrazione in un diffrattogramma di raggi X su polveri è approssimativamente più o meno $0,2^\circ 2\text{-theta}$, e tale grado di errore di misurazione deve essere preso in considerazione quando si considera il pattern di diffrazione di raggi X su polveri nella Figura 1 e quando si legge la Tabella 1. Inoltre, si dovrebbe comprendere che le intensità potrebbero oscillare a seconda delle condizioni sperimentali e della preparazione dei campioni (orientamento preferito).

Qualsiasi forma di cristallo che fornisce un diffrattogramma XRPD o un termogramma DSC sostanzialmente identico a quelli divulgati nel presente documento, rientra nella portata delle presenti divulgazioni. Un tecnico del ramo avrà la capacità di determinare identità sostanziali tra diffrattogrammi, spettri e termogrammi.

Le condizioni della metodologia XRPD e DSC sono descritte

nel presente documento negli Esempi.

Si deve comprendere che anche un profarmaco farmaceuticamente accettabile adatto di un composto della Formula (I) forma un aspetto della presente divulgazione. Di conseguenza, i composti della divulgazione possono essere somministrati in forma di un profarmaco che è un composto che si degrada nel corpo umano o animale per rilasciare un composto della divulgazione. Un profarmaco può essere utilizzato per modificare le proprietà fisiche e/o le proprietà farmacocinetiche di un composto della presente divulgazione. Si può formare un profarmaco quando il composto della presente divulgazione contiene un gruppo o sostituente adatto a cui può essere attaccato un gruppo che modifica le proprietà. Esempi di profarmaci includono derivati di ammidi o esteri clivabili in vivo che possono essere formati in corrispondenza del gruppo carbossi in un composto della Formula (I).

Di conseguenza, un aspetto della presente divulgazione include quei composti di Formula (I) come definiti sopra quando resi disponibili mediante sintesi organica e quando resi disponibili all'interno del corpo umano o animale per mezzo di divaggio di un loro profarmaco. Di conseguenza, la presente divulgazione include i composti della Formula (I) che sono prodotti per mezzo di sintesi organica, e anche tali composti che sono prodotti nel corpo umano o animale per via metabolica di un composto precursore, che è un composto della Formula (I), possono essere un composto prodotto per via sintetica o un composto prodotto per via metabolica.

Un profarmaco farmaceuticamente accettabile di un composto della Formula (I) adatto è uno che si basa su un giudizio medico fondato di appropriatezza per la somministrazione nel corpo umano o animale senza attività farmacologiche indesiderate e senza eccessiva tossicità.

Varie forme di profarmaco sono state descritte, per esempio nei seguenti documenti:

- a) *Methods in Enzymology*, vol. 42, pp. 309-396, a cura di K. Widder, *et al.* (Academic Press, 1985);
- b) *Design di Pro-drugs*, a cura di H. Bundgaard, (Elsevier, 1985);
- c) *A Textbook of Drug Design and Development*, a cura di Krogsgaard-Larsen e H. Bundgaard, capitolo 5 "Design and Application of Pro-drugs", di H. Bundgaard pp. 113-191 (1991);
- d) H. Bundgaard, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 8, 1-38 (1992);
- e) H. Bundgaard, *et al.*, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77, 285 (1988);
- f) N. Kakeya, *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 692 (1984);
- g) T. Higuchi e V. Stella, "Pro-Drugs as Novel Delivery Systems", *A.C.S. Symposium Series*, vol. 14; e
- h) E. Roche (curatore), "Bioreversible Carriers in Drug Design", Pergamon Press, 1987.

Un profarmaco farmaceuticamente accettabile di un composto

della Formula (I) che possiede un gruppo carbossi è per esempio un suo estere clivabile *in vivo*. Un estere clivabile *in vivo* di un composto Formula (I) contenente il gruppo carbossi è, per esempio, un estere farmaceuticamente accettabile che è clivato nel corpo umano o animale per produrre l'acido precursore. Esteri farmaceuticamente accettabili adatti per un gruppo carbossi includono (1-6C)alchil esteri come metile, etile e terz-butile, (1-6C)alcossimetil esteri come metossimetil esteri, (1-6C) alcanoilossimetil esteri come pivaloilossimetil esteri, 3-ftalidil esteri, (3-8C)cicloalchilcarbonilossi-(1-6C)alchil esteri come ciclopentilcarbonilossimetile e 1-cicloesilcarbonilossietil esteri, 2-osso-1,3-diossolenilmetil esteri come 5-metil-2-osso-1,3-diossolen-4-ilmetil esteri e (1-6C)alcossicarbonilossi-(1-6C)alchil esteri come metossicarbonilossimetil esteri e 1-metossicarbonilossietil esteri.

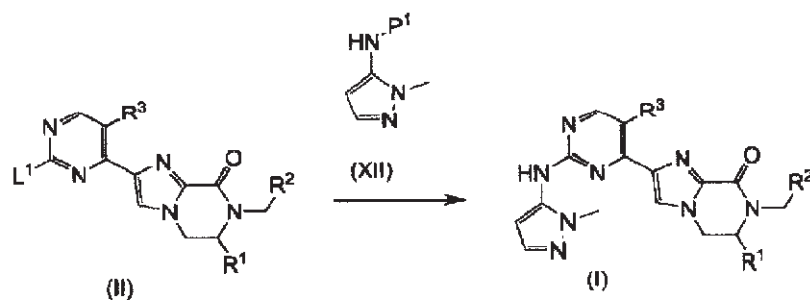
Un profarmaco farmaceuticamente accettabile adatto di un composto della Formula (I) che ha un gruppo carbossi è ad esempio un'ammide clivabile *in vivo* come *N*-C₁₋₆alchile e *N,N*-di-(C₁₋₆alchil)ammide come *N*-metile, *N*-etile, *N*-propile, *N,N*-dimetile, *N*-etil-*N*-metil o *N,N*-dietilammide.

Gli effetti *in vivo* di un composto della Formula (I) possono essere esercitati in parte da uno o più metaboliti che si formano nel corpo umano o animale dopo somministrazione di un composto della Formula (I). Come indicato sopra, gli effetti *in vivo* di un composto della Formula (I) possono essere esercitati anche mediante metabolismo di un composto precursore (un profarmaco).

B

Per chiarezza, va compreso che laddove in questa descrizione un gruppo è qualificato con l'espressione "definito in precedenza" o "definito nel presente documento", detto gruppo contempla la prima definizione più ampia che compare nonché ciascuna e tutte le definizioni alternative per quel gruppo.

Un altro aspetto della presente divulgazione fornisce un processo per preparare un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile. Un processo adatto è illustrato dalle seguenti varianti di processo rappresentative in cui, se non altrimenti indicato da R¹ a R³ ha qualsiasi dei significati definiti in precedenza. Materiali di partenza necessari possono essere ottenuti mediante procedure standard della chimica organica oppure sono disponibili in commercio. La preparazione di tali materiali di partenza è descritta unitamente alle seguenti varianti di processo rappresentative e negli Esempi associati. In alternativa materiali di partenza necessari sono ottenibili mediante procedure analoghe a quelle illustrate, le quali rientrano nelle competenze comuni di un chimico organico.



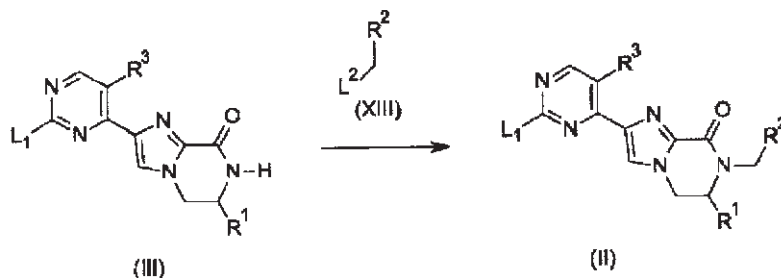
Un composto di formula (I) può essere preparato da un composto di formula (II), in cui L¹ è un gruppo uscente adatto (come

alogeno, o $-\text{SO}_2\text{Me}$, ecc), mediante reazione con un composto di formula (XII), in cui P^1 è idrogeno, con una base adatta (come NaH , Na_2CO_3 , Cs_2CO_3 o K_2CO_3) in un solvente adatto (come *N,N*-dimetilformammide o *N,N*-dimetilacetammide) o in presenza di un catalizzatore di Pd adatto e ligando di fosfina con una base adatta (ad esempio Cs_2CO_3) in un solvente adatto (come diossano), in condizioni di temperature ambiente o elevate (ottenute mediante riscaldamento o mediante irradiazione a microonde). In alternativa, un composto di formula (I) può essere preparato da un composto di formula (II), in cui L^1 è un gruppo uscente adatto (come alo , o $-\text{SO}_2\text{Me}$, ecc.), mediante reazione con un composto di formula (XII), in cui P^1 è un gruppo adatto diverso da idrogeno (come formile o trifluoroacetammide) con una base adatta (come NaH , Na_2CO_3 , Cs_2CO_3 o K_2CO_3) in un solvente adatto (come *N,N*-dimetilformammide o *N,N*-dimetilacetammide) o in presenza di un catalizzatore di Pd adatto e ligando di fosfina con una base adatta (ad esempio Cs_2CO_3) in un solvente adatto (come diossano), in condizioni di temperature elevate (ottenute mediante riscaldamento o mediante irradiazione a microonde), seguito dalla rimozione del gruppo protettivo P^1 in presenza di una base adatta come idrossido di sodio in un solvente adatto o acqua.

Sarà apprezzato che un composto di formula (I) può essere trasformato in un altro composto di formula (I) usando condizioni note nell'arte.

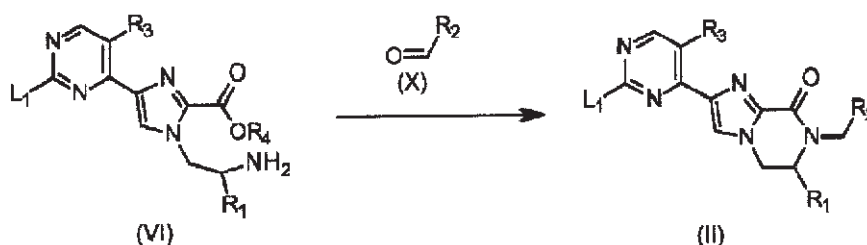
Composti di formula (XII) sono disponibili in commercio o ben

noti nell'arte.



Un composto di formula (II) può essere preparato da un composto di formula (III), in cui L^1 è un gruppo uscente adatto (come Cl o $-\text{SO}_2\text{Me}$), mediante reazione con un composto di formula (XIII) in cui L^2 è un gruppo uscente adatto (come alogeno, o $-\text{OSO}_2\text{Me}$, $-\text{Tos}$, ecc.), in presenza di una base adatta (come idruo di sodio o K_2CO_3) e un solvente adatto (come *N,N*-dimetilformammide).

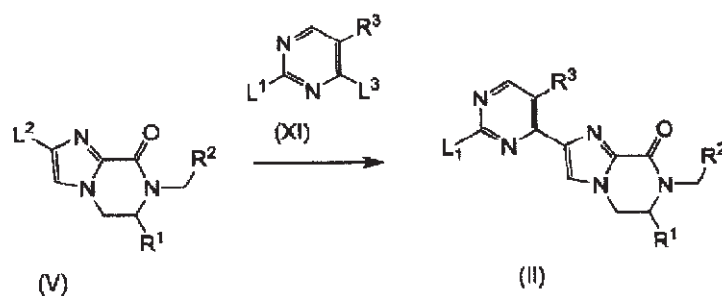
Composti di formula (XIII) sono disponibili in commercio o ben noti nell'arte.



In alternativa composti di formula (II) possono essere preparati da composti di formula (VI), in cui R^4 è un gruppo alchile (come metile o etile), mediante la reazione con composti della formula (X) in presenza di un reagente riducente adatto (come NaBH_3CN) e un solvente adatto (come tetraidrofurano) seguito da successive condizioni di lattamizzazione in un solvente adatto (come MeOH) con una base adatta (come ammoniaca), o con un catalizzatore acido di Lewis (come

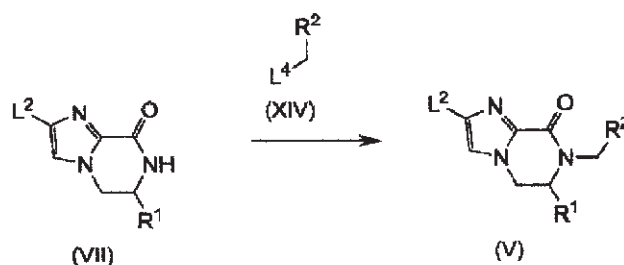
trimetilalluminio).

Composti di formula (X) sono disponibili in commercio o ben noti nell'arte.



Un composto di formula (II) in cui L^1 è un precursore a un gruppo uscente adatto (come $-SMe$, ecc.) può essere preparato da un composto di formula (V), in cui L^3 è un gruppo metallico adatto (come trimetil stannano, ecc.), mediante reazione con un composto di formula (XI) in cui L^2 è un gruppo uscente adatto (come alo , o OSO_2CF_3), in presenza di un catalizzatore di Pd adatto e ligando di fosfina in un solvente adatto (come una miscela di *N,N*-dimetilformammide, dimetossietano, acqua ed etanolo) in condizioni adatte come riscaldamento termico o in un reattore a microonde.

Composti di formula (XI) sono disponibili in commercio o ben noti nell'arte.

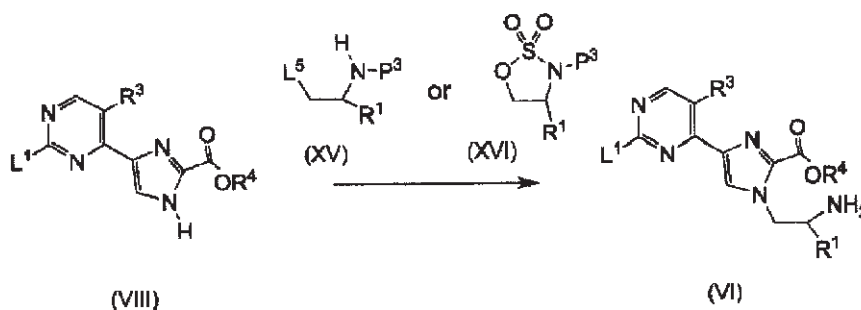


Un composto di formula (V), in cui R^1 è idrogeno o un gruppo

B

alchile (come metile), può essere preparato da un composto di formula (VII), mediante reazione con un composto di formula (XIV) dove L^4 è un gruppo uscente adatto (come alo, o OSO_2CF_3), in presenza di una base adatta (come idruro di sodio o K_2CO_3) e un solvente adatto (come *N,N*-dimetilformammide o acetone).

Composti di formula (XIV) sono disponibili in commercio o ben noti nell'arte.



Un composto di formula (VI), in cui R^4 è un gruppo alchile (come metile o etile), può essere preparato da un composto di formula (VIII), mediante reazione con un composto di formula (XV), in cui L^5 è un gruppo uscente adatto (come alo, $-OSO_2Me$ o $-OSO_2CF_3$) e P^3 è un gruppo protettivo adatto (come -Boc), o un composto di formula (XVI) in cui P^3 è un gruppo protettivo adatto (come -Boc), in presenza di una base adatta (come idruro di sodio o K_2CO_3) in un solvente adatto (come diossano o MeCN) in condizioni di temperature ambiente o elevate (ottenute mediante riscaldamento o mediante irradiazione a microonde). Nel caso in cui un composto di formula (XVI) venga usato può essere necessario rimuovere l'acido solfammino intermedio in condizioni di acido acquoso (come HCl) in un solvente adatto (come etanolo). Il

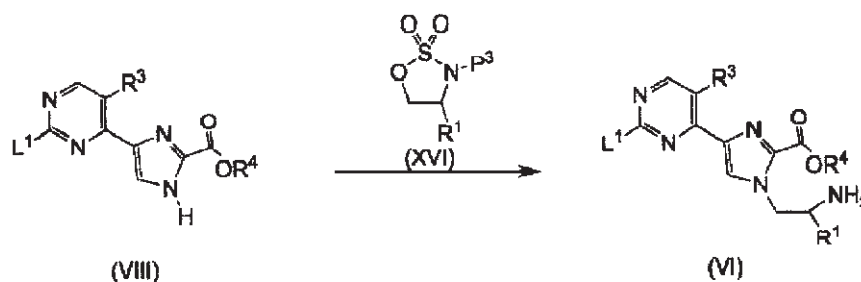
gruppo protettivo P^3 può essere rimosso da composti di formula (XV) e (XVI) mediante l'uso di un acido adatto (come HCl) in un solvente adatto (come diossano o etanolo), in condizioni di temperature ambiente. Un composto di formula (VI) può essere isolato come un sale, come un sale cloridrato o dicloridrato.

Composti di formula (XV) e (XVI) sono disponibili in commercio o ben noti nell'arte.

La reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) per preparare un composto di formula (VI) è nuova e fornisce un ulteriore aspetto della presente divulgazione.

Pertanto l'invenzione divulga un processo per preparare un composto di formula (VI), detto processo comprendente:

a) reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) in presenza di una base adatta in un solvente adatto, in condizioni di temperature ambiente o elevate;



in cui R^1 e R^3 sono definiti per il composto di formula (I) in precedenza;

L^1 è un gruppo uscente o un precursore a un gruppo uscente;

P^3 è un gruppo protettivo; e

R^4 è un gruppo alchile; e

b) facoltativamente, un acido solfamamico intermedio è rimosso in condizioni di acido acquoso in un solvente adatto; e

c) rimozione del gruppo protettivo P³ in presenza di un acido adatto in un solvente adatto, a temperature ambiente.

In una forma di realizzazione, L¹ è -SMe o alogeno.

In una forma di realizzazione, L¹ è -SMe o Cl.

In una forma di realizzazione, R⁴ è un gruppo alchile.

In una forma di realizzazione, R⁴ è C₁₋₄ alchile.

In una forma di realizzazione, R⁴ è metile o etile.

In una forma di realizzazione, R⁴ è metile.

In una forma di realizzazione, R⁴ è etile.

In una forma di realizzazione, una base adatta è idruro di sodio o K₂CO₃.

In una forma di realizzazione, una base adatta è idruro di sodio.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita in diossano o MeCN.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita in diossano.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita in MeCN.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita a temperature a circa 20°C.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita a temperature di 18-25°C.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita a temperature > 20°C.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita a temperature > 50°C.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita a temperature > 80°C.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita a temperature $\geq 85^\circ\text{C}$.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita a temperature $\geq 85^\circ\text{C}$ e $\leq 100^\circ\text{C}$.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita a temperature $\leq 100^\circ\text{C}$.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita a temperature $\geq 80^\circ\text{C}$ e $\leq 110^\circ\text{C}$.

In una forma di realizzazione, la reazione di un composto di formula (VIII) con un composto di formula (XVI) è eseguita a temperature $\leq 110^{\circ}\text{C}$.

In una forma di realizzazione, un acido acquoso adatto è HCl .

In una forma di realizzazione, la rimozione di acido solfammino intermedio è eseguita in etanolo.

In una forma di realizzazione, P^3 è -Boc.

In una forma di realizzazione, una base adatta è K_2CO_3 .

In una forma di realizzazione, un acido adatto è HCl .

In una forma di realizzazione, la rimozione del gruppo protettivo P^3 è eseguita in diossano o etanolo.

In una forma di realizzazione, la rimozione del gruppo protettivo P^3 è eseguita in etanolo.

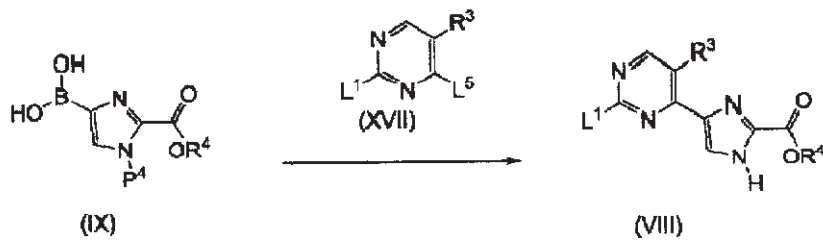
In una forma di realizzazione, la rimozione del gruppo protettivo P^3 è eseguita in diossano.

In una forma di realizzazione, la rimozione del gruppo protettivo P^3 avviene a temperature di $18\text{-}25^{\circ}\text{C}$.

In una forma di realizzazione, la rimozione del gruppo protettivo P^3 avviene a temperature di $22\text{-}28^{\circ}\text{C}$.

In una forma di realizzazione, la rimozione del gruppo protettivo P^3 avviene a temperature di circa 20°C .

In una forma di realizzazione, la rimozione del gruppo protettivo P^3 avviene a temperature di circa 25°C .



Un composto di formula (VIII) in cui L^1 è un gruppo uscente adatto (come alogeno, o $-SO_2Me$, ecc) può essere preparato da un composto di formula (IX), in cui R^4 è un gruppo alchile (come metile, ecc) e P^4 è un gruppo protettivo (come SEM) mediante reazione con un composto di formula (XVII) in cui L^5 è un gruppo uscente adatto (come alo, o OSO_2CF_3), in presenza di un catalizzatore di Pd adatto e ligando di fosfina, con una base adatta (come carbonato di cesio) in un solvente adatto (come una miscela di diossano e acqua), in condizioni adatte (come riscaldamento termico o in un reattore a microonde).

Il composto di formula IX può essere preparato mediante metodi ben noti nell'arte.



Un composto di formula (III) può anche essere preparato da un composto di formula (VI) in cui R^4 è un gruppo alchile (come metile o etile) mediante trattamento con una base adatta (come ammoniaca) in un solvente adatto (come MeOH).

Quando è richiesto un sale farmaceuticamente accettabile di un composto della Formula (I), per esempio esso può essere ottenuto

mediante reazione di detto composto con un acido adatto o una base adatta.

Quando è richiesto un profarmaco farmaceuticamente accettabile di un composto della Formula (I), esso può essere ottenuto usando una procedura convenzionale. Per esempio, un estere clivabile *in vivo* del composto della Formula (I) può essere ottenuto, per esempio, mediante reazione di un composto della Formula (I) contenente un gruppo carbossi con un alcol farmaceuticamente accettabile. Ulteriori informazioni sui profarmaci sono state fornite in precedenza.

Si apprezzerà che, in alcune delle reazioni menzionate sopra, può essere necessario o desiderabile proteggere qualsiasi gruppo sensibile nei composti. I casi in cui la protezione è necessaria o auspicabile e i metodi adatti per la protezione sono noti ai tecnici del ramo. I gruppi protettivi convenzionali possono essere utilizzati secondo la pratica standard (per illustrazione si veda T.W. Green, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley e Sons, 1991). Pertanto se i reagenti includono gruppi quali ammino, carbossi o idrossi, può essere auspicabile proteggere il gruppo in alcune delle reazioni menzionate qui.

Un gruppo protettivo adatto per un gruppo ammino o alchilammino è, per esempio, un gruppo acile, per esempio un gruppo alcanoile quale acetile, un gruppo alcossicarbonile, per esempio un gruppo metossicarbonile, etossicarbonile o t-butossicarbonile, un gruppo arilmetossicarbonile, per esempio benzilossicarbonile o un gruppo aroile, per esempio benzoile. Le condizioni di deprotezione per i

gruppi protettivi di cui sopra variano necessariamente con la scelta del gruppo protettivo. Pertanto, per esempio, un gruppo acile quale un gruppo alcanoile o alcossicarbonile oppure un gruppo aroile, possono essere rimossi, per esempio, mediante idrolisi con una base adatta quale un idrossido di metallo alcalino, per esempio idrossido di litio o sodio. In alternativa un gruppo acile quale un gruppo t-butossicarbonile può essere rimosso, per esempio, mediante trattamento con un acido adatto come acido cloridrico, solforico o fosforico o acido trifluoroacetico e un gruppo arilmetossicarbonile quale un gruppo benzilossicarbonile può essere rimosso, per esempio, mediante idrogenazione sopra un catalizzatore quale palladio su carbonio, o mediante trattamento con un acido di Lewis, per esempio tris(trifluoroacetato) di boro. Un gruppo protettivo alternativo adatto per un gruppo ammino primario è, per esempio, un gruppo ftaloile che può essere rimosso mediante trattamento con un'alchilammina, per esempio dimetilamminopropilammina o con idrazina.

Un gruppo protettivo adatto per un gruppo idrossi è, per esempio, un gruppo acile, per esempio un gruppo alcanoile quale acetile, un gruppo aroile, per esempio benzoile, o un gruppo arilmetile, per esempio benzile. Le condizioni di deprotezione per i gruppi protettivi di cui sopra varieranno necessariamente con la scelta del gruppo protettivo. Pertanto, per esempio, un gruppo acile quale un gruppo alcanoile o aroile può essere rimosso, per esempio, mediante idrolisi con una base adatta quale un idrossido di metallo alcalino, per esempio

idrossido di litio o sodio. In alternativa, può essere rimosso un gruppo arilmetile quale un gruppo benzile, per esempio, mediante idrogenazione sopra un catalizzatore quale palladio su carbonio.

Un gruppo protettivo adatto per un gruppo carbossi è, per esempio, un gruppo di esterificazione, per esempio un gruppo metile o etile che può essere rimosso, per esempio, mediante idrolisi con una base quale idrossido di sodio, o per esempio un gruppo t-butile che può essere rimosso, per esempio, mediante trattamento con un acido, per esempio un acido organico quale acido trifluoroacetico, o per esempio un gruppo benzile che può essere rimosso, per esempio, mediante idrogenazione su un catalizzatore quale palladio su carbonio.

I gruppi protettivi possono essere rimossi a qualsiasi stadio adatto nella sintesi usando tecniche convenzionali ben note nell'arte chimica.

Alcuni degli intermedi (per esempio, composti delle Formule II, III, IV, V, VI e VII, in particolare Formule II e VI) definiti nel presente documento sono nuovi e questi sono forniti come ulteriori caratteristiche della presente divulgazione.

Saggi biologici

I seguenti saggi sono stati utilizzati per misurare gli effetti dei composti della presente divulgazione.

Manipolazione dei composti

Tutti i composti o DMSO (dimetil solfossido) per la spettrometria di massa di ERK2 e i saggi di fosfo-p90RSK in A375 sono stati

distribuiti da piastre sorgente contenenti composti a 10 mM in DMSO al 100% (v/v) o DMSO al 100% direttamente nelle piastre di saggio usando un distributore acustico Echo 555 (Labcyte Inc™). Sulla base del saggio sono state seguite due preparazioni di piastre separate. Nel flusso di lavoro A, 10 mM di soluzioni madre di composto sono stati diluiti 1:100 usando un manipolatore di liquidi a 96 testine a punta fissa (Agilent Technologies, Santa Clara, California) a dare quattro diluizioni intermedie (10 mM, 100 μ M, 1 μ M, 10 nM). Nel flusso di lavoro B, 10 mM di soluzioni madre di composto sono stati diluiti 1:10 usando un Tecan Freedom Evo (Tecan Group Ltd., Svizzera), e poi 1:100 usando l'Echo 555 e Labcyte LX a produrre tre diluizioni intermedie in tre piastre sorgente qualificate Labcyte (1 mM, 10 μ M, 100 μ M). Queste piastre di diluizioni intermedie sono state poi usate dall'Echo 555 per generare piastre di composto pronte per il saggio finali con un intervallo di dosaggio di 12 punti (10, 3, 1, 0,25, 0,1, 0,03, 0,01, 0,0025, 0,001, 0,0003, 0,0001, 0,0000125 μ M) al fine di calcolare i valori di IC50, con una concentrazione totale di DMSO nel saggio dell'1%. Per il saggio di spettrometria di massa di ERK2 è stato usato il flusso di lavoro B. Per il saggio cellulare di fosfo-p90RSK in A375, la piastra di diluizione 1:100 intermedia descritta nel flusso di lavoro A è stata usata dall'Echo per distribuire i composti e DMSO direttamente nelle piastre cellulari con un intervallo di dosaggio di 12 punti (30, 10, 3,125, 1,25, 0,3, 0,1, 0,03125, 0,0125, 0,003, 0,001, 0,0003125, 0,00003 μ M) al fine di calcolare i valori di IC50 del composto, con una concentrazione totale di DMSO

nel saggio dello 0,3%.

Inibizione del saggio di catalisi di ERK2 con spettrometria di massa su Rapidfire

La proteina ERK2 attivata da MEK U911 è stata espressa e purificata internamente. Le soluzioni di substrato e di enzima sono state realizzate in un tampone di saggio costituito da 50 mM di Tris (pH 7,5), 10 mM di MgCl₂, 0,1 mM di EGTA (acido etilenglicole tetraacetico), 10 mM di DTT (ditiotreitolo) e CHAPS (3-[(3-colammidopropil)dimetilammonio]-1-propansolfonato) allo 0,01% (v/v). 1,2 nM di proteina ERK2 sono stati preparati in un tampone di saggio e 10 µl sono stati distribuiti in ciascun pozzetto di una piastra a 384 pozzetti in polipropilene (#781201, Greiner) contenente composti di controllo di test e di riferimento. Dopo una pre-incubazione di 15 minuti dell'enzima e del composto a temperatura ambiente, sono stati aggiunti 10 µl di soluzione di substrato costituita da 16 µM di Erktide (IPTTPITTTYFFFK, n. 61777, AnaSpec) e 120 µM di ATP (adenosina trifosfato) (K_m misurati) in un tampone di saggio. La reazione è stata lasciata progredire per 20 minuti a temperatura ambiente prima di essere sottoposta a quenching mediante l'aggiunta di 80 µl di acido formico all'1% (v/v). Le piastre di saggio sono state poi fatte correre sulla piattaforma per spettrometria di massa RapidFire (Agilent) al fine di misurare i livelli di substrato (Erktide non fosforilato) e di prodotto (Erktide fosforilato). Sono stati analizzati i dati e i valori di IC₅₀ (metà concentrazione inibente massima) sono stati calcolati usando il



software Genedata Screener®.

Saggio cellulare di fosfo-p90RSK in A375

Il saggio cellulare di fosfo-p90RSK è stato eseguito nella linea cellulare A375, un melanoma maligno umano che ha una mutazione di BRAF che upregola la via di MAPK e, quindi, i livelli endogeni elevati di fosfo-ERK e fosfo-p90RSK. Cellule A375 sono state coltivate in terreni cellulari composti da DMEM (terreno di Eagle modificato da Dulbecco), siero fetale di vitello al 10% (v/v) e L-glutammina all'1% (v/v). Dopo la raccolta, le cellule sono state distribuite su piastre Costar a 384 pozzetti nere (n. 3712, Corning) a dare 2400 cellule per pozzetto in un volume totale di 40 µl di terreno cellulare, e sono state incubate per tutta la notte a 37°C, umidità relativa al 90% e CO₂ al 5% in un incubatore rotante. I composti di test e i controlli di riferimento sono stati dosati direttamente nelle piastre cellulari usando un distributore acustico Labcyte Echo 555. Le piastre cellulari sono state poi incubate per 2 ore a 37°C prima di essere fissate mediante l'aggiunta di 20 µl di formaldeide al 12% in PBS/A (concentrazione finale al 4%), seguita da un'incubazione di 20 minuti a temperatura ambiente, e poi un lavaggio di 2 volte con 150 µl di PBS/A (tampone fosfato salino contenente albumina) usando un lavatore per piastre BioTek ELx405. Le cellule sono state permeabilizzate con 20 µl di Triton X-100 allo 0,1% in PBS/A per 20 minuti a temperatura ambiente, e poi lavate 1 volta con 100 µl di PBS/A. L'anticorpo monoclonale primario di coniglio per fosfo-p90RSK (Thr359) (D1E9) (n. 8753, Cell Signaling Technology) è stato diluito

1:1000 in un tampone di saggio (Tween allo 0,05% (v/v), siero fetale di vitello al 5% (v/v), in PBS/A), ad ogni pozzetto sono stati 20 μ l, e le piastre sono state incubate a 4°C per tutta la notte. Le piastre cellulari sono state lavate 2 volte con 200 μ l di PBS/T (tampone fosfato salino contenente Tween-20), in seguito ad ogni pozzetto sono stati aggiunti 20 μ l di diluizione 1:500 in un tampone di saggio di anticorpo secondario anti-IgG di coniglio di capra Alexa Fluor® 647 (n. A31573, Molecular Probes, Life Technologies), con una diluizione 1:5000 di Hoechst 33342. Dopo un'incubazione di 90 minuti a temperatura ambiente, le piastre sono state lavate 2 volte con 200 μ l di PBS/T e ad ogni pozzetto sono stati aggiunti 40 μ l di PBS/A. Le piastre cellulari colorate sono state coperte con tenute per coperchi neri e poi lette su una piattaforma di imaging Cellomics ArrayScan™ VTI (Thermo Scientific), usando un filtro XF53 con obiettivo 10x con una fonte di luce LED impostata per analizzare la colorazione nucleare con Hoechst 33342 (405 nm) e la colorazione di fosfo-p90RSK (647 nm) con l'anticorpo secondario. I dati sono stati analizzati e i valori di IC50 sono stati calcolati usando il software Genedata Screener®.

I composti come rivendicato nel presente documento hanno generalmente attività enzimatica nel saggio precedente di < 0,5 mM, come < 0,2 mM.

I seguenti dati sono stati generati per gli Esempi (i dati seguenti possono essere un risultato di un singolo esperimento o di una media di due o più esperimenti; le variazioni dei dati presentati nelle domande

rispetto alle quali questa domanda rivendica priorità sono dovute a ulteriori ripetizioni del test che genera leggere modifiche dei valori medi):

Esempio	IC50 di enzima ERK2 con spettrometria di massa (μM)	IC50 di p90RSK in cellule (μM)
1	0,0174	17
2	0,0007	0,086
3	0,0005	0,081
4	0,0018	0,63
5	0,002	0,11
6	0,0006	0,025
7	0,0005	0,038
8	0,0011	0,21
9	0,0005	0,19
10	0,0011	0,055
11	0,0008	0,15
12	0,0006	0,003
13	0,0003	0,012
14	0,0003	0,024
15	0,0006	0,15
16	0,0011	0,12
17	0,0009	0,0052
18	0,0006	0,0057

18a	0,0006	0,0074
19	0,0005	0,0053
20	0,0004	0,038
21	0,0006	0,011
22	0,0008	0,019
23	0,0006	0,04
24	0,0005	0,084
25	0,0007	0,13
26	0,0011	0,2
27	0,0008	0,077
28	0,0005	0,11
29	0,0009	0,13
30	0,0007	0,2
31	0,0008	0,14
32	0,0009	0,099
33	0,0008	0,031
35	-	0,093
36	0,0014	0,051
37	0,0007	0,064
38	0,0007	0,008
39	0,0018	0,070
40	0,0011	0,032
41	0,0015	0,130

I composti degli esempi 1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 16, 17, 18, 19,

20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 e 28 hanno mostrato di essere almeno 500 volte più selettivi per ERK2 rispetto a MEK nel saggio di autofosforilazione di MEK con ADP-Glo riportato di seguito.

Saggio di autofosforilazione di MEK con ADP-Glo

La proteina MEK attivata è stata fornita da MRC-PPU (DU911, Dundee, Regno Unito) o espressa e purificata internamente. Il saggio di MEK è stato eseguito con il kit di saggio chinasi ADP-Glo™ (Promega, Madison, WI, USA) in piastre bianche Greiner a 384 pozzetti a basso volume. In ciascun pozzetto di una piastra contenente i composti di controllo di test e di riferimento sono stati distribuiti 2 µl di 6 nM di proteina MEK attivata in un tampone di saggio costituito da 50 mM di Tris (pH 7,5), 10 mM di DTT, 0,1 mM di EGTA, Tween 20 allo 0,01% v/v e 10 mM di MgCl₂. Dopo una pre-incubazione di 15 minuti dell'enzima e del composto a temperatura ambiente, sono stati aggiunti 2 µl di soluzione di substrato costituita da 20 µM di ATP (K_{Mapp}^{ATP}) in un tampone di saggio. La reazione di saggio è stata lasciata proseguire per 90 minuti a temperatura ambiente prima di interrompere la reazione mediante l'aggiunta di 2 µl di reagente di ADP-Glo. Le piastre sono state poi coperte e incubate per 40 minuti a temperatura ambiente. Sono stati poi aggiunti 4 µl di reagente di rilevamento della chinasi e le piastre sono state incubate per 30 minuti, prima di leggere il segnale di luminescenza con un lettore di piastre PHERAstar (BMG Labtech GmbH, Offenburg, Germania).

Studi di combinazione

Materiali e metodi

A549 è una linea di cancro dei polmoni non a piccole cellule umano che reca una mutazione oncogena nel gene KRAS (G12S). Topi nudi femmina (Harlan, Regno Unito) sono stati impiantati per via sottocutanea (s.c.) sul fianco destro con 5×10^6 cellule A549 (ATCC) per topo.

La crescita tumorale è stata monitorata mediante misurazione con calibro due volte alla settimana e i volumi sono stati calcolati usando una formula ellittica (π greco/6 x larghezza x larghezza x lunghezza). Quando i tumori hanno raggiunto un volume di ~ 200 - 300 mm³, gli animali sono stati randomizzati in gruppi di 7-11 e sono stati trattati con un programma combinatorio continuo di selumetinib (ARRY-142886) 25 mg/kg BiD e l'Esempio 18a 25 mg/kg QD (quattro ore dopo la prima dose di selumetinib), entrambi dosati per via perorale. I volumi tumorali sono stati misurati due volte alla settimana dall'inizio del dosaggio.

Selumetinib è stato formulato in HPMC/Tween (methocel [idrossipropil metocellulosa] allo 0,5%/polisorbato 80 allo 0,1%), la sospensione è stata agitata per tutta la notte. L'Esempio 18a è stato formulato in DMSO al 10%, 90% di una soluzione di kleptose al 40% (Kleptose idrossipropil betaciclodestrina è stato acquistato da Roquette-Pharma [marchio registrato] ed è adatto per l'uso in vivo e per formulazioni).

Inibizione della crescita tumorale mediante l'Esempio 18a in

combinazione con un inibitore di MEK (selumetinib)

Studi sono stati eseguiti nel modello di xenotrapianto di A549. Selumetinib è stato dosato due volte al giorno (BID) a distanza di 8 ore e l'Esempio 18a è stato dosato una volta al giorno (QD) 4 ore dopo la prima dose di selumetinib. Entrambi i composti sono stati dosati continuamente per 3 settimane. Entrambi i veicoli sono stati dosati nel gruppo di veicolo. Selumetinib e l'Esempio 18a hanno ridotto la crescita tumorale rispetto al solo controllo di veicolo (mostrato nella Figura 5). La combinazione di selumetinib più l'Esempio 18a ha determinato un'ulteriore riduzione della crescita tumorale, con evidenza di regressione in alcuni animali.

Studi di combinazione - Inibizione della crescita cellulare

Linee cellulari e trattamenti

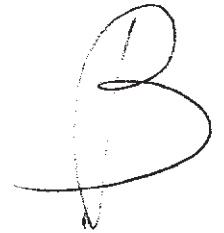
A549 è una linea di cancro dei polmoni non a piccole cellule umano che reca una mutazione oncogena nel gene KRAS (G12S). H2122 è una linea di cancro dei polmoni non a piccole cellule umano che reca una mutazione oncogena nel gene KRAS (G12C). H2009 è una linea di cancro dei polmoni non a piccole cellule umano che reca una mutazione oncogena nel gene KRAS (G12A). Calu6 è una linea di cancro dei polmoni non a piccole cellule umano che reca una mutazione nel gene KRAS (G13K). Tutte le linee cellulari sono state ottenute dall'American Type Culture Collection.

Tutte le linee cellulari sono state mantenute a 37°C e CO₂ al 5% in un'atmosfera umidificata e fatte crescere in un terreno di crescita

RPML-1640 integrato con FBS al 10% e 2 mmol/L di glutammina. L'identità di tutte le linee cellulari è stata confermata usando l'analisi STR come descritto in precedenza (Davies BR, Greenwood H, Dudley P, et al.: Preclinical pharmacology of AZD5363, an inhibitor of AKT: Pharmacodynamics, antitumor activity, and correlation of monotherapy activity with genetic background. Mol Cancer Ther 11(4):873-87, 2012). I composti sono stati disciolti in DMSO fino a una concentrazione di 10 mmol/L e conservati sotto azoto.

Determinazione della crescita cellulare

Le cellule sono state seminate in piastre nere a 384 pozzetti e fondo trasparente (Greiner Bio-one, Stonehouse, Regno Unito), coltivate per 18-24 ore e trattate con concentrazioni crescenti dell'Esempio 18 e selumetinib (0-10 $\mu\text{mol/L}$) in una matrice di dose 6x6. Le cellule sono state seminate a una concentrazione tale che le cellule nei pozzetti non trattati fossero circa l'80% confluenti alla fine del saggio. Dopo 3 giorni di trattamento è stato determinato il numero di cellule vive usando un endpoint Sytox Green come descritto in precedenza ("Davies BR, Greenwood H, Dudley P, et al.: Preclinical pharmacology of AZD5363, an inhibitor of AKT: Pharmacodynamics, antitumor activity, and correlation of monotherapy activity with genetic background. Mol Cancer Ther 11(4):873-87, 2012"). In breve, il colorante per acido nucleico Sytox Green (Invitrogen) diluito in un tampone di TBS-EDTA è stato aggiunto alle cellule a una concentrazione finale di 0,13 $\mu\text{mol/L}$ e il numero di cellule morte è stato rilevato usando un Acumen Explorer



(TTP Labtech, Melbourn, Regno Unito). Le cellule sono state in seguito permeabilizzate per tutta la notte mediante l'aggiunta di saponina (concentrazione finale 0,03%, diluita in tampone di TBS-EDTA) ed è stata misurata la conta di cellule totali. La conta di cellule vive è stata quindi determinata sottraendo il numero di cellule morte per pozzetto dal numero totale di cellule. Sono state effettuate misurazioni pre-dose per indicare il numero di cellule vive all'inizio dell'esperimento e quindi un'indicazione di se il regime di trattamento avesse provocato la morte cellulare. I dati sono presentati come % di crescita usando le formule NCI come segue;

$$\{[(Ti-Tz)/(C-Tz)] \times 100\} + 100, \text{ per valori per cui } Ti \geq Tz$$

$$\{[(Ti-Tz)/Tz] \times 100\} - 100, \text{ per concentrazioni per cui } Ti < Tz$$

dove Tz rappresenta il numero di cellule vive al tempo zero, C rappresenta la crescita del controllo e Ti rappresenta il numero di cellule vive in presenza di ciascun regime farmacologico. Questa formula fornisce una percentuale da 0% al 200%. Gli effetti antiproliferativi sono indicati mediante punteggi da 0% (nessun effetto sulla crescita cellulare) al 100% (inibizione completa della crescita cellulare); la soppressione cellulare è indicata mediante punteggi dal 100% (nessuna soppressione cellulare) al 200% (soppressione di tutte le cellule).

Analisi dell'attività di combinazione

L'attività di combinazione (sinergismo) nella matrice di dose 6x6 è stata analizzata in Genedata Screener12 (Genedata, Basel, Svizzera)

usando il modello di dose-additività di Loewe come descritto in precedenza (Lehar J, Krueger AS, Avery W, et al.: Synergistic drug combinations tend to improve therapeutically relevant selectivity. Nat Biotechnol 27(7):659-66, 2009 e Rickles RJ, Tam WF, Giordano TP, 3a, et al.: Adenosine A2A and beta-2 adrenergic receptor agonists: Novel selective and synergistic multiple myeloma targets discovered through systematic combination screening. Mol Cancer Ther 11(7):1432-42, 201229). Questo modello di additività fornisce un riferimento zero che è previsto dalla risposta attesa se i due agenti fossero lo stesso farmaco. La superficie tridimensionale del modello, prevista dalle due curve di risposta a singolo agente, viene sottratta dalla superficie tridimensionale di dose-effetto derivata a livello sperimentale per generare un volume di differenza. Questo volume di matrice in eccesso può essere integrato per generare un punteggio di sinergia. Un cutoff del punteggio di sinergia >5 è stato usato per identificare le combinazioni di interesse nello screening ad alto rendimento iniziale.

I risultati (mostrati nelle Figure 6-17) dimostrano che l'Esempio 18 può inibire la crescita di un gruppo di linee cellulari di cancro con mutazioni KRAS come monoterapia e questo effetto è potenziato in modo sinergico mediante trattamento con selumetinib. I punteggi di sinergia per ciascuna linea cellulare sono 25 (A549), 14,3 (H2122), 67,5 (H2009), e 3 (Calu6). I punteggi di sinergia di cui sopra sono una media di tre o più esperimenti indipendenti.

Secondo un ulteriore aspetto della presente divulgazione viene



fornita una composizione farmaceutica, che comprende un composto della Formula (I), oppure un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito sopra, in associazione con un diluente o trasportatore farmaceuticamente accettabile.

Eccipienti farmaceuticamente accettabili adatti per una formulazione in compressa includono, per esempio, diluenti inerti, agenti di granulazione e di disintegrazione, agenti leganti, agenti lubrificanti, agenti conservanti e antiossidanti. Un ulteriore eccipiente farmaceuticamente accettabile adatto può essere un agente chelante. Le formulazioni in compressa possono essere non rivestite o rivestite per modificare la loro disintegrazione e il successivo assorbimento del principio attivo all'interno del tratto gastrointestinale o per migliorare la loro stabilità e/o il loro aspetto, in ogni caso usando agenti e procedure di rivestimento convenzionali ben noti nell'arte.

Composizioni per uso orale possono essere in alternativa sotto forma di capsule di gelatina dure in cui il principio attivo viene miscelato con un diluente solido inerte, o sotto forma di capsule di gelatina molli in cui il principio attivo è miscelato con acqua o un olio.

Sospensioni acquose generalmente contengono il principio attivo in forma in polvere fine insieme con uno o più agenti di sospensione, agenti di dispersione o bagnanti. Le sospensioni acquose possono anche contenere uno o più conservanti, antiossidanti, agenti coloranti, agenti aromatizzanti, e/o agenti edulcoranti.

Sospensioni oleose possono essere formulate sospendendo il



principio attivo in un olio vegetale o in un olio minerale. Le sospensioni oleose possono anche contenere un agente addensante. Agenti edulcoranti quali quelli esposti sopra, e agenti aromatizzanti possono essere aggiunti per fornire una preparazione orale palatabile. Queste composizioni possono essere conservate mediante l'aggiunta di un antiossidante.

Le polveri e i granuli disperdibili adatti alla preparazione di una sospensione acquosa mediante aggiunta di acqua contengono generalmente il principio attivo con un agente di dispersione o bagnante, un agente di sospensione e uno o più conservanti. Possono essere presenti anche ulteriori eccipienti, per esempio agenti edulcoranti, aromatizzanti e coloranti.

Le composizioni farmaceutiche della presente divulgazione possono anche essere sotto forma di emulsioni olio-in-acqua. La fase oleosa può essere un olio vegetale o un olio minerale o una miscela di qualsiasi di questi. Le emulsioni possono anche contenere agenti edulcoranti, aromatizzanti e conservanti.

Sciroppi ed elisir possono essere formulati con agenti edulcoranti, e possono anche contenere un emolliente, conservante, agente aromatizzante e/o colorante.

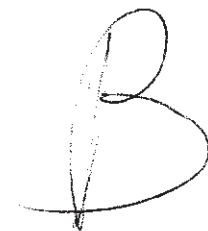
Le composizioni farmaceutiche possono anche essere sotto forma di una sospensione acquoso o oleosa iniettabile sterile, che può essere formulata secondo procedure note usando uno o più degli agenti di dispersione o bagnanti appropriati, che sono stati citati sopra. Una

preparazione iniettabile sterile può anche essere una soluzione o sospensione iniettabile sterile in un sistema diluente o solvente non tossico accettabile dal punto di vista parenterale.

Composizioni per la somministrazione mediante inalazione possono essere sotto forma di un aerosol pressurizzato convenzionale predisposto per erogare il principio attivo come aerosol contenente goccioline solide o liquide finemente divise. Possono essere usati propellenti per aerosol convenzionali quali idrocarburi fluorurati volatili o idrocarburi e il dispositivo aerosol è opportunamente predisposto per erogare una quantità dosata di principio attivo. Anche gli inalatori di polvere secca possono essere adatti.

Per ulteriori informazioni sulla formulazione il lettore faccia riferimento al Capitolo 25.2 nel Volume 5 di *Comprehensive Medicinal Chemistry* (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

La quantità di principio attivo che è combinato con uno o più eccipienti per produrre un'unica forma farmaceutica varierà necessariamente a seconda dell'ospite trattato e della particolare via di somministrazione. Per esempio, la somministrazione orale all'uomo richiederà generalmente, per esempio, da 1 mg a 2 g di agente attivo (più adeguatamente da 100 mg a 2 g, per esempio da 250 mg a 1,8 g, ad esempio da 500 mg a 1,8 g, in particolare da 500 mg a 1,5 g, opportunamente da 500 mg a 1 g) da somministrare unito in composto con una quantità appropriata e conveniente di eccipienti che può



variare da circa il 3 a circa il 98 per cento in peso della composizione totale. Si comprenderà che, se è necessario un dosaggio elevato, possono essere necessarie molteplici forme farmaceutiche, per esempio due o più compresse o capsule, con la dose di principio attivo divisa convenientemente tra di esse. Tipicamente, forme farmaceutiche unitarie conterranno da circa 10 mg a 0,5 g di un composto della presente divulgazione, sebbene una forma farmaceutica unitaria possa contenere fino a 1 g. Convenientemente, una singola forma farmaceutica solida può contenere tra 1 e 300mg di principio attivo.

La dimensione della dose per scopi terapeutico o profilattico dei composti della presente divulgazione varierà naturalmente in base alla natura e alla gravità dello stato di malattia, all'età e al sesso dell'animale o del paziente e alla via di somministrazione, secondo principi di medicina ben noti.

Nell'uso dei composti della presente divulgazione per scopi terapeutico o profilattico esso sarà generalmente somministrato in modo che sia ricevuta una dose giornaliera nell'intervallo, per esempio, da 1 mg/kg a 100 mg/kg di peso corporeo, data se necessario in dosi divise. In generale, dosi inferiori saranno somministrate quando si impiega una via parenterale. Perciò, per esempio, per la somministrazione endovenosa, sarà generalmente usata una dose nell'intervallo, per esempio, da 1 mg/kg a 25 mg/kg di peso corporeo. Analogamente, per la somministrazione mediante inalazione, sarà usata una dose nell'intervallo, per esempio, da 1 mg/kg a 25 mg/kg di

peso corporeo. La somministrazione orale è tuttavia preferita, in particolare in forma di compressa.

In un aspetto della presente divulgazione, i composti della presente divulgazione o i loro sali farmaceuticamente accettabili, sono somministrati come compresse comprendenti da 10 mg a 500 mg del composto di Formula (I) (o di un suo sale farmaceuticamente accettabile), in cui una o più compresse sono somministrate come richiesto per raggiungere la dose desiderata.

Come sopra indicato, è noto che la segnalazione attraverso ERK induce la tumorigenesi con uno o più degli effetti di mediazione della proliferazione di cellule cancerose e altre cellule, mediazione di eventi angiogenici e mediazione della motilità, della migrazione e dell'invasività delle cellule cancerose. Abbiamo trovato che i composti della presente divulgazione possiedono una potente attività anti-tumorale che si ritiene sia ottenuta mediante inibizione di ERK che è coinvolto nelle fasi di trasduzione del segnale che portano alla proliferazione e alla sopravvivenza delle cellule tumorali e alla capacità di invasività e migrazione di cellule tumorali in metastasi.

Di conseguenza, i composti della presente divulgazione possono essere preziosi come agenti anti-tumorali, in particolare come inibitori selettivi della proliferazione, sopravvivenza, motilità, disseminazione e invasività delle cellule cancerose di mammifero che determina l'inibizione della crescita tumorale e della sopravvivenza e l'inibizione della crescita tumorale metastatica. In particolare, i composti



della presente divulgazione possono essere preziosi come agenti anti-proliferativi e anti-invasivi nel contenimento e/o nel trattamento di malattia tumorale solida. In particolare, i composti della presente divulgazione si prevede che possano essere utili nella prevenzione o nel trattamento di tali tumori che sono sensibili all'inibizione di ERK e che sono coinvolti nelle fasi di trasduzione di segnale che portano alla proliferazione e alla sopravvivenza delle cellule tumorali e alla capacità di migrazione e all'invasività di cellule tumorali in metastasi. Inoltre, i composti della presente divulgazione possono essere utili nella prevenzione o nel trattamento di quei tumori che sono mediati, solamente o in parte dall'inibizione di ERK, vale a dire i composti possono essere usati per produrre un effetto inibitorio di ERK in un animale omeotermo che necessita di tale trattamento.

Secondo un ulteriore aspetto, viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza per l'uso come medicamento in un animale omeotermo quale l'uomo.

Secondo un ulteriore aspetto, viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza per l'uso nella produzione di un effetto anti-proliferativo in un animale omeotermo quale l'uomo.

Secondo un ulteriore aspetto, viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza per l'uso in un animale omeotermo quale l'uomo come

agente anti-invasivo nel contenimento e/o nel trattamento di una malattia tumorale solida.

Secondo un ulteriore aspetto, viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella produzione di un medicamento per l'uso nella produzione di un effetto anti-proliferativo in un animale omeotermo quale l'uomo.

Secondo un ulteriore aspetto, viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella produzione di un medicamento per l'uso in un animale omeotermo quale l'uomo come agente anti-invasivo nel contenimento e/o nel trattamento di una malattia tumorale solida.

Secondo un ulteriore aspetto, viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza per l'uso nella prevenzione o nel trattamento del cancro in un animale omeotermo quale l'uomo.

Secondo un ulteriore aspetto, viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella produzione di un medicamento per l'uso nella prevenzione o nel trattamento del cancro in un animale omeotermo quale l'uomo.

Secondo un ulteriore aspetto, viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza per l'uso nella prevenzione o nel trattamento di una

malattia tumorale solida in un animale omeotermo quale l'uomo.

Secondo un ulteriore aspetto, viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella produzione di un medicamento per l'uso nella prevenzione o nel trattamento di una malattia tumorale solida in un animale omeotermo quale l'uomo.

La frase "quantità efficace" o "quantità terapeuticamente efficace" indica una quantità che (i) tratta la malattia, condizione o disturbo particolare, (ii) attenua, migliora o elimina uno o più sintomi della malattia, condizione o disturbo particolare, (iii) previene o ritarda l'inizio di uno o più sintomi della malattia, condizione o disturbo particolare, qui descritti. Nel caso di cancro, la quantità efficace può ridurre il numero di cellule tumorali; ridurre le dimensioni del tumore; inibire (ad esempio rallentare in una certa misura e, preferibilmente, arrestare) l'infiltrazione delle cellule cancerose negli organi periferici; inibire la metastasi tumorale; inibire in una certa misura la crescita tumorale; e/o alleviare in una certa misura uno o più dei sintomi associati al cancro. Per la terapia del cancro, l'efficacia può essere misurata per esempio, valutando il tempo alla progressione della malattia (TTP) e/o determinando il tasso di risposta (RR).

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza, per l'uso nella prevenzione o trattamento di una malattia o disturbo iperproliferativo modulato da RAS/RAF/MEK/ERK chinasi.



Secondo un ulteriore aspetto viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza, nella produzione di un medicamento per l'uso nella prevenzione o trattamento di una malattia o disturbo iperproliferativo modulato da RAS/RAF/MEK/ERK chinasi.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza, per l'uso nella prevenzione o trattamento di una malattia o disturbo iperproliferativo mediato da ERK.

Secondo un ulteriore aspetto dell'invenzione viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella produzione di un medicamento per l'uso nella prevenzione o nel trattamento di una malattia o disturbo iperproliferativo mediato da ERK.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza, per l'uso nella prevenzione o trattamento di quei tumori che sono sensibili all'inibizione di ERK.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella produzione di un medicamento per l'uso nella prevenzione o nel trattamento di quei tumori che sono sensibili all'inibizione di ERK.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un composto della

Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza per l'uso nel fornire un effetto inibitorio su ERK.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o di un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella fabbricazione di un medicinale per l'uso nel fornire un effetto inibitorio su ERK.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza per l'uso nel fornire un effetto inibitorio selettivo su ERK2.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o di un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella fabbricazione di un medicinale per l'uso nel fornire un effetto inibitorio selettivo su ERK2.

Composti di Formula (I) possono essere efficaci nel trattamento di qualsiasi cancro in cui è attivata la via di RAS/RAF/MEK/ERK chinasi. Esempi di cancri che, secondo quanto riportato, hanno tale attivazione includono leucemia mieloide acuta (AML), leucemia mielomonocitica cronica, mieloma multiplo, leucemia mieloide cronica, cancro coloretale (CRC), cancro della mammella, cancro della vescica, cancro di testa e collo, cancro del cervello, glioblastoma, neuroblastoma, linfoma non Hodgkin, cancro pancreatico, cancro ovarico, cancro testicolare, cancro della tiroide, cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC), cancro del polmone a piccole cellule, melanoma, neurofibromatosi di tipo 1 (NF1), tratto biliare.



In un aspetto, i composti possono essere efficaci nel trattamento di un cancro selezionato tra NSCLC, pancreatico, CRC, melanoma, melanoma uveale, NF1 pediatrico, tiroide differenziata e cancro del tratto biliare.

In un aspetto, i composti possono essere efficaci nel trattamento di cancri mutanti di KRAS o BRAF.

In un aspetto, i composti possono essere efficaci nel trattamento di cancri dipendenti dalla via di MAPK come NSCLC, pancreatico e CRC; in alcune forme di realizzazione tali cancri sono cancri mutanti di KRAS come descritto di seguito.

In un altro aspetto, i composti possono essere efficaci nel trattamento di mieloma mutante di BRAF.

In un ulteriore aspetto, i composti possono essere efficaci nel trattamento di un cancro selezionato tra melanoma mutante di NRAS, melanoma uveale, NF1 pediatrico, cancro differenziato del tratto biliare e della tiroide.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza, per l'uso nel trattamento di NSCLC, cancro pancreatico, CRC, melanoma, melanoma uveale, NF1 pediatrico, cancro differenziato del tratto biliare e della tiroide.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza per l'uso nel trattamento di NSCLC, pancreatico e CRC.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza per l'uso nel trattamento del melanoma mutante di BRAF.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza, per l'uso nel trattamento di melanoma mutante di NRAS, melanoma uveale, NF1 pediatrico, cancro differenziato del tratto biliare e della tiroide.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza per l'uso nel trattamento di un cancro mediato da ERK, in cui il cancro ha sviluppato resistenza a uno o più altri inibitori della via di MAPK.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza, nella produzione di un medicamento per l'uso nel trattamento di un cancro selezionato tra NSCLC, pancreatico, CRC, melanoma, melanoma uveale, NF1 pediatrico, cancro differenziato del tratto biliare e della tiroide.

Secondo un ulteriore aspetto dell'invenzione viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella produzione di un medicamento per l'uso nel trattamento di un cancro selezionato tra NSCLC, pancreatico e CRC.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o di un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella fabbricazione di un medicinale per l'uso nel trattamento di melanoma mutante di BRAF.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza, nella produzione di un medicamento per l'uso nel trattamento di melanoma mutante di NRAS, melanoma uveale, NF1 pediatrico, cancro differenziato del tratto biliare e della tiroide.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito l'uso di un composto della Formula (I), o di un suo sale farmaceuticamente accettabile, come definito in precedenza nella produzione di un medicamento per l'uso nel trattamento di un cancro mediato da ERK, in cui il cancro ha sviluppato una resistenza a uno o più altri inibitori della via di MAPK.

Come indicato in precedenza, gli effetti *in vivo* di un composto della Formula (I) possono essere esercitati in parte da uno o più metaboliti che si formano nel corpo umano o animale dopo somministrazione di un composto della Formula (I).

Nelle composizioni, metodi e usi precedenti, i composti particolari di Formula (I) sono i composti degli Esempi, o loro sali farmaceuticamente accettabili. Ulteriori esempi illustrativi per composizioni, metodi e usi sono:

2-(2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-

8(5*H*)-one;

7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

7-(3-clorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

7-(3-(difluorometile)benzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-(3-clorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-metil-2-(5-metil-2-(1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-(1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-(1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(4-fluoro-3-metossibenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-(1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-(1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-(1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-(1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3-(difluorometossi)benzil)-6-metil-2-(5-metil-2-(1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-(1-metil-1H-pirazol-5-

il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-
diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-

il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((2-(trifluorometil)piridin-4-il)metil)-6,7-
diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-((4-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-

metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-
a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-

il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-
diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

7-(3,4-difluorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-

il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-

1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-
8(5H)-one;

addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-

metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico;

addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-

metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico;

(R)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-

il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(R)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(R)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(R)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(R)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one; e

(R)-7-(3-metossibenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one.

Il trattamento anti-cancro definito nel presente documento può essere applicato come unica terapia oppure può comportare, in aggiunta ai composti della presente divulgazione, chirurgia convenzionale o radioterapia o chemioterapia. In alcune forme di realizzazione, un composto di formula (I) è combinato con un altro composto che ha proprietà anti iperproliferative o che è utile nel trattamento di un disturbo iperproliferativo. Il composto aggiuntivo può presentare opportunamente attività complementari al composto di

formula (I) in modo che questi non si influenzino negativamente tra loro. In alcuni aspetti tale politerapia può prevenire o ritardare la resistenza intrinseca o acquisita attribuibile all'attivazione della via di RAS/RAF/MEK/ERK osservata con l'inibizione di MEK e prevenire o ritardare la resistenza intrinseca o acquisita mediata attraverso l'attivazione della via di RAS.

In aggiunta alla fornitura di un trattamento migliorato per un dato disturbo iperproliferativo, la somministrazione di alcune combinazioni può migliorare la qualità di vita di un paziente rispetto alla qualità di vita sperimentata dallo stesso paziente che riceve un trattamento diverso. Ad esempio, la somministrazione di una combinazione a un paziente può fornire una qualità di vita migliorata rispetto alla qualità di vita che lo stesso paziente sperimenterebbe se ricevesse soltanto uno dei singoli agenti come terapia. Ad esempio, una politerapia può abbassare la dose degli agenti terapeutici richiesti. La combinazione può anche provocare un carico ridotto del tumore e ridurre così gli eventi avversi associati.

Di conseguenza, in una forma di realizzazione viene fornito un composto di Formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, e una sostanza antitumorale aggiuntiva, per il trattamento congiunto del cancro.

Il trattamento anti-cancro definito in precedenza può essere applicato come unica terapia oppure può comportare, in aggiunta al composto della presente divulgazione, chirurgia convenzionale o

radioterapia o chemioterapia. Tale chemioterapia può includere una o più delle seguenti categorie di agenti anti-tumorali:-

(i) farmaci antiproliferativi/antineoplastici e loro combinazioni, come usato in oncologia medica, come agenti alchilanti (per esempio cis-platino, oxaliplatino, carboplatino, ciclofosfamide, mostarda azotata, melfalan, clorambucile, busulfano, temozolomide e nitrosouree); antimetaboliti (per esempio gemcitabina e antifolati come fluoropirimidine come 5-fluorouracile e tegafur, raltitrexed, metotrexato, citosina arabinoside e idrossiurea); antibiotici antitumorali (per esempio antracicline come adriamicina, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarubicina, mitomicina C, dactinomicina e mitramicina); agenti antimitotici (per esempio alcaloidi della vinca come vincristina, vinblastina, vindesine e vinorelbina e taxoidi come taxolo e taxotere e inibitori della polochinasi); e inibitori della topoisomerasi (per esempio epipodofillotossine come etoposide e teniposide, amsacrina, topotecano e camptotecina);

(ii) agenti anti-ormonali come antiestrogeni (per esempio tamoxifene, fulvestrant, toremifene, raloxifene, droloxifene e idoxifene), antiandrogeni (per esempio bicalutamide, flutamide, nilutamide e ciproterone acetato), antagonisti dell'LHRH o agonisti dell'LHRH (per esempio goserelina, leuprorelina e buserelina), progestativi (per esempio megestrolo acetato), inibitori dell'aromatasi (per esempio anastrozolo, letrozolo, vorazolo ed exemestano) e inibitori della 5 α -reduttasi come finasteride;

(iii) inibitori della funzione dei fattori di crescita e le loro vie di segnalazione a valle:

sono inclusi modulatori di Ab di qualsiasi fattore di crescita o bersagli di recettori dei fattori di crescita, analizzati da Stern et al. *Critical Reviews in Oncology/Haematology*, 2005, 54, pagg. 11-29);

sono inclusi anche inibitori a piccola molecola di tali bersagli, per esempi inibitori di chinasi - esempi includono l'anticorpo anti-erbB2 trastuzumab [Herceptin™], l'anticorpo anti-EGFR panitumumab, l'anticorpo anti-EGFR cetuximab [Erbitux, C225] e inibitori di tirosin-chinasi inclusi inibitori della famiglia dei recettori erbB, quali inibitori di tirosin-chinasi del recettore della famiglia del fattore di crescita dell'epidermide (EGFR/erbB1) quali gefitinib o erlotinib, inibitori di tirosin-chinasi di erbB2 quali lapatinib, e inibitori di erb1/2 misti quali afatanib; strategie simili sono disponibili per altre classi di fattori di crescita e loro recettori, per esempi inibitori della famiglia del fattore di crescita degli epatociti o loro recettori inclusi c-met e ron; inibitori dell'insulina e della famiglia del fattore di crescita dell'insulina o loro recettori (IGFR, IR), inibitori della famiglia del fattore di crescita derivato da piastrine o loro recettori (PDGFR), e inibitori della segnalazione mediata dalle loro tirosin-chinasi recettoriali quali c-kit, AnLK, e CSF-1R;

sono inclusi anche modulatori che bersagliano le proteine di segnalazione nella più ampia via di segnalazione di PI3-chinasi, per esempio, inibitori di altre isoforme di PI3-chinasi quali PI3K- β , e ser / thr chinasi quali AKT, mTOR, PDK, SGK, PI4K o PIP5K;

sono inclusi anche inibitori di serina/treonina chinasi non elencati sopra, per esempio inibitori di raf quale vemurafenib, inibitori di MEK quale selumetinib (AZD6244, ARRY-142886), cobimetinib o GDC-0623 (si veda ad esempio WO2015/0832840), inibitori di Abl quali imatinib o nilotinib, inibitori di Btk quale ibrutinib, inibitori di Syk quale fostamatinib, inibitori di aurora chinasi (per esempio AZD1152), inibitori di altre ser/thr chinasi quali JAK, STAT e IRAK4, e inibitori di chinasi ciclina dipendenti;

iv) modulatori delle vie di segnalazione del danno del DNA, per esempio inibitori di PARP (ad esempio Olaparib), inibitori di ATR o inibitori di ATM;

v) modulatori delle vie apoptotica e di morte cellulare quali modulatori della famiglia di Bcl (ad esempio ABT-263/Navitoclax, ABT-199);

(vi) agenti antiangiogenici quali quelli che inibiscono gli effetti del fattore di crescita endoteliale vascolare, [per esempio l'anticorpo anti-fattore di crescita dell'endotelio vascolare bevacizumab (Avastin™) e per esempio, un inibire della tirosin-chinasi recettoriale VEGF quale sorafenib, axitinib, pazopanib, sunitinib e vandetanib (e composti che lavorano mediante altri meccanismi (per esempio linomide, inibitori della funzione di integrina $\alpha v\beta 3$ e angiostatina)];

(vii) agenti che danneggiano la vascolarizzazione, quali combretastatina A4;

(viii) agenti anti-invasione, per esempio inibitori della famiglia

delle c-Src chinasi come (dasatinib, J. Med. Chem., 2004, 47, 6658-6661) e bosutinib (SKI-606), e inibitori delle metalloproteinasi quali marimastat, inibitori della funzione dell'attivatore del plasminogeno di tipo urochinasi oppure anticorpi per l'eparanasi];

(ix) approcci immunoterapici, inclusi per esempio approcci ex vivo e in vivo per aumentare l'immunogenicità di cellule tumorali dei pazienti quali trasfezione con citochine come interleuchina 2, interleuchina 4 o fattore di stimolazione delle colonie di granulociti-macrofagi, approcci per diminuire l'energia delle cellule T, approcci che utilizzano cellule immunitarie trasfettate come le cellule dendritiche trasfettate da citochine, approcci che utilizzano linee cellulari tumorali trasfettate da citochine e approcci che usano anticorpi anti-idiotipici. Esempi specifici includono anticorpi monoclonali che bersagliano PD-1 (ad esempio BMS-936558) PDL-1 o CTLA4 (ad esempio, ipilimumab e tremelimumab);

(x) terapie antisenso o basate su RNAi, per esempio quelle che sono dirette contro i bersagli elencati.

(xi) Approcci di terapia genica, inclusi per esempio approcci per sostituire geni aberranti come p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrante, approcci GDEPT (terapia enzimatica profarmaco genediretta) come quelli che usano la citosina deaminasi, timidina chinasi o un enzima nitroreduccasi batterico e approcci per aumentare la tolleranza del paziente a chemioterapia o radioterapia come terapia genica di multifarmacoresistenza.

Secondo questo aspetto viene fornita una combinazione adatta all'uso nel trattamento del cancro comprendente un composto di Formula (I) come definito in precedenza o un suo sale farmaceuticamente accettabile e un altro agente anti-tumorale, in particolare uno qualsiasi degli agenti anti tumorali elencati in (i) - (xi) sopra. In particolare, l'agente anti-tumorale elencato in (i)-(xi) sopra è lo standard di cura per lo specifico cancro da trattare; il tecnico del ramo comprenderà il significato di "standard di cura".

Pertanto in un ulteriore aspetto viene fornito un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un altro agente anti-tumorale, in particolare un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (i) - (xi) qui sopra.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornita una composizione farmaceutica che comprende un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (i) - (xi) qui sopra, in associazione con un diluente o trasportatore farmaceuticamente accettabile.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornita una composizione farmaceutica che comprende un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (i) - (xi) qui sopra, in associazione con un diluente o trasportatore farmaceuticamente accettabile per l'uso nel trattamento del cancro.

Secondo un'altra caratteristica viene fornito l'uso di un composto della Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (i) - (xi) qui sopra, nella produzione di un medicamento per l'uso nel cancro in un animale omeotermo, quale l'uomo.

In un ulteriore aspetto viene fornito un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un altro agente anti-tumorale, in particolare un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (i) qui sopra.

In un ulteriore aspetto viene fornita una combinazione adatta all'uso nel trattamento del cancro comprendente un composto di Formula (I) come definito in precedenza o un suo sale farmaceuticamente accettabile e uno qualsiasi degli agenti anti tumorali elencati in (i) sopra.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornita una composizione farmaceutica che comprende un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (i) qui sopra, in associazione con un diluente o trasportatore farmaceuticamente accettabile.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornita una composizione farmaceutica che comprende un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (i) qui sopra, in associazione con un diluente o trasportatore farmaceuticamente accettabile per l'uso

nel trattamento del cancro.

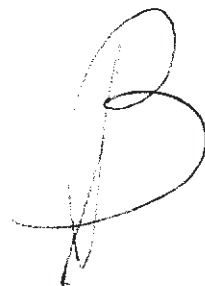
Secondo un'altra caratteristica viene fornito l'uso di un composto della Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (i) qui sopra, nella produzione di un medicamento per l'uso nel cancro in un animale omeotermo, quale l'uomo.

In un ulteriore aspetto viene fornito un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un altro agente anti-tumorale, in particolare un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (iii) sopra.

In un ulteriore aspetto viene fornita una combinazione adatta all'uso nel trattamento del cancro comprendente un composto di Formula (I) come definito in precedenza o un suo sale farmaceuticamente accettabile e uno qualsiasi degli agenti anti tumorali elencati in (iii) sopra.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornita una composizione farmaceutica che comprende un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (iii) qui sopra, in associazione con un diluente o trasportatore farmaceuticamente accettabile.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornita una composizione farmaceutica che comprende un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (iii) qui sopra, in associazione



con un diluente o trasportatore farmaceuticamente accettabile per l'uso nel trattamento del cancro.

Secondo un'altra caratteristica viene fornito l'uso di un composto della Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (iii) qui sopra, nella produzione di un medicamento per l'uso nel cancro in un animale omeotermo, quale l'uomo.

In un aspetto, esempi adatti di agenti antitumorali elencati in (iii) sopra sono quegli agenti che agiscono anche su MAPK chinasi, in particolare la cascata di segnalazione di RAS-RAF-MEK-ERK come inibitori di MEK.

In un ulteriore aspetto viene fornita una combinazione adatta per l'uso nel trattamento di cancro comprendente un composto di Formula (I) come definito in precedenza o un suo sale farmaceuticamente accettabile e un inibitore di MEK, come selumetinib (ARRY-142886).

In un aspetto, la combinazione precedente del composto di formula (I) e selumetinib (ARRY-142886) è adatta per l'uso nel trattamento di qualsiasi cancro dipendente dalla via di MAPK, come NSCLC, cancro pancreatico o CR, facoltativamente in combinazione con una terapia standard di cura.

La combinazione di un composto di Formula (I) e un agente antitumorale elencata in (iii) sopra, in particolare un altro agente che agisce su MAPK chinasi, in particolare sulla cascata di segnalazione di

RAS-RAF-MEK-ERK come inibitori di MEK, può essere particolarmente utile nel trattamento di tumori con una prevalenza maggiore di mutazione in KRAS o BRAF.

Combinazioni particolari della presente divulgazione comprendono uno qualsiasi dei composti degli Esempi nel presente documento (o un suo sale farmaceuticamente accettabile) e un inibitore di MEK come selumetinib (ARRY-142886) come descritto in precedenza. Ulteriori esempi illustrativi per combinazioni della presente divulgazione e un inibitore di MEK come selumetinib (ARRY-14288) sono:

2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-

7-(3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

7-(3-clorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

7-(3-(difluorometil)benzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(R)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(R)-7-(3-clorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammo)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammo)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammo)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammo)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammo)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammo)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammo)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-(4-fluoro-3-metossibenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammio)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one;

(S)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-

metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3-(difluorometossi)benzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((2-(trifluorometil)piridin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-((4-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

7-(3,4-difluorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-

il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*S*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico;

addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one adipico;

(*R*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-

8(5*H*)-one; e

(*R*)-7-(3-metossibenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one.

In tutte le combinazioni di cui sopra, sarà compreso che la combinazione può anche essere somministrata con un trattamento standard di cura, come compreso dal tecnico del ramo, ad esempio altri trattamenti da (i) a (xi) qui sopra. In altri aspetti, opportunamente lo standard di cura può essere selezionato da (i) sopra.

Pertanto in un ulteriore aspetto della presente divulgazione, viene fornita una triplice combinazione adatta all'uso nel trattamento del cancro

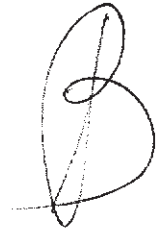
a) un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile;

b) un composto selezionato da (iii) sopra (come un altro composto che agisce su MAPK chinasi) o un suo sale farmaceuticamente accettabile; e

c) terapia standard di cura per il cancro da trattare.

Opportunamente la terapia standard di cura può essere somministrata secondo il normale regime di dosaggio, come compreso dal tecnico del ramo.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un kit comprendente un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile in combinazione con un agente anti-tumorale selezionato da



uno elencato in (i) - (xi) sopra nel presente documento.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un kit comprendente:

- a) un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in una prima forma farmaceutica unitaria;
- b) un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (i)-(xi) qui sopra in una seconda forma farmaceutica unitaria; e
- c) mezzi contenitori per contenere detta prima e seconda forma farmaceutica.

Secondo un ulteriore aspetto viene fornito un kit comprendente:

- a) un composto di Formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in una prima forma farmaceutica unitaria;
- b) un agente anti-tumorale selezionato da uno elencato in (i) - (xi) sopra nel presente documento in una seconda forma farmaceutica;
- c) mezzi contenitori per contenere dette prima e seconda forma di dosaggio; e facoltativamente
- d) istruzioni per l'uso.

Qui, laddove è usato il termine "combinazione", si deve intendere che questo si riferisce a somministrazione simultanea, separata o sequenziale. In un aspetto della presente divulgazione il termine "combinazione" si riferisce a una somministrazione simultanea. In un altro aspetto della presente divulgazione il termine "combinazione" si riferisce a una somministrazione separata. In un ulteriore aspetto della presente divulgazione il termine "combinazione" si riferisce a una somministrazione sequenziale. Laddove la

somministrazione sia sequenziale o separata, il ritardo nella somministrazione del secondo componente non deve essere tale da perdere l'effetto benefico.

Sebbene i composti della Formula (I) siano principalmente preziosi come agenti terapeutici per l'uso in animali omeotermi (incluso l'uomo), essi sono utili anche ogniqualvolta è necessario inibire ERK. Perciò, essi sono utili come standard farmacologici per l'uso nello sviluppo di nuovi test biologici e nella ricerca di nuovi agenti farmacologici.

Cure sanitarie personalizzate

Un altro aspetto della presente divulgazione si basa sull'identificazione di un collegamento tra lo stato del gene codificante per KRAS e la suscettibilità al trattamento con un composto di Formula (I). Questo pertanto fornisce opportunità, metodi e strumenti per selezionare pazienti per il trattamento con un composto di Formula (I), in particolare pazienti oncologici, e/o evitare il trattamento di pazienti che meno probabilmente risponderanno terapeuticamente al trattamento evitando così trattamento non necessario ed eventuali effetti collaterali che possono associarsi a tale trattamento inefficace.

La presente divulgazione riguarda strumenti e metodi di selezione di pazienti (inclusa medicina personalizzata). La selezione si basa sul fatto che le cellule tumorali da trattare possiedano o meno il gene KRAS di tipo selvatico o mutante. Lo stato del gene KRAS può pertanto essere usato come biomarcatore della suscettibilità al

trattamento con un inibitore di ERK.

Vi è una chiara necessità di biomarcatori che arricchiranno o selezioneranno pazienti i cui tumori risponderanno al trattamento con un inibitore di ERK, come un composto di Formula (I). I biomarcatori di selezione dei pazienti che identificano i pazienti che più probabilmente risponderanno ad un agente sono ideali nel trattamento del cancro, poiché riducono il trattamento non necessario dei pazienti con tumori non responsivi ai potenziali effetti collaterali di tali agenti.

Un biomarcatore può essere descritto come "una caratteristica che viene oggettivamente misurata e valutata come indicatore di normali processi biologici, processi patogeni, o risposte farmacologiche ad un intervento terapeutico". Un biomarcatore è qualsiasi indicatore identificabile e misurabile associato ad una particolare condizione o malattia in cui vi è una correlazione tra la presenza o il livello del biomarcatore e un certo aspetto della condizione o malattia (inclusa la presenza di, il livello o il livello modificato di, il tipo di, lo stadio di, la suscettibilità alla condizione o malattia, o la responsività a un farmaco usato per trattare la condizione o malattia). La correlazione può essere qualitativa, quantitativa, o sia qualitativa sia quantitativa. Tipicamente un biomarcatore è un composto, frammento di composto o gruppo di composti. Tali composti possono essere qualsiasi composto trovato in o prodotto da un organismo, incluse proteine (e peptidi), acidi nucleici e altri composti.

Biomarcatori possono avere un potere predittivo, e pertanto

possono essere usati per prevedere o rilevare la presenza, il livello, il tipo o lo stadio di particolari condizioni o malattie (inclusa la presenza o il livello di particolari microorganismi o tossine), la suscettibilità (inclusa la predisposizione genetica) a particolari condizioni o malattie, o la risposta a particolari trattamenti (inclusi trattamenti farmacologici). Si ritiene che i biomarcatori svolgeranno un ruolo sempre più importante nel futuro della scoperta e dello sviluppo di farmaci, migliorando l'efficienza dei programmi di ricerca e sviluppo. I biomarcatori possono essere usati come agenti diagnostici, elementi di controllo della progressione della malattia, elementi di controllo del trattamento e predittori dell'esito clinico. Per esempio, vari progetti di ricerca sui biomarcatori stanno tentando di identificare marcatori di specifici cancri e di specifiche malattie cardiovascolari e immunologiche. Si ritiene che lo sviluppo di nuovi biomarcatori convalidati porterà sia a significative riduzioni dei costi sanitari e dello sviluppo di farmaci sia a significativi miglioramenti nel trattamento di un'ampia varietà di malattie e condizioni.

Per progettare in modo ottimale sperimentazioni cliniche e per raccogliere la maggioranza delle informazioni da queste sperimentazioni, può essere necessario un biomarcatore. Il marcatore può essere misurabile in tessuti surrogati e tumorali. Idealmente questi marcatori saranno correlati anche all'efficacia e perciò potrebbero infine essere usati per la selezione dei pazienti.

Perciò, il problema tecnico alla base di questo aspetto della

presente divulgazione è l'identificazione di mezzi per la stratificazione di pazienti per il trattamento con un composto di Formula (I). Il problema tecnico viene risolto fornendo le forme di realizzazione caratterizzate nelle rivendicazioni e/o nella presente descrizione.

La presente divulgazione fornisce un metodo di determinazione della sensibilità delle cellule ad un composto di Formula (I). Il metodo comprende determinare lo stato del gene KRAS in dette cellule. Le cellule vengono identificate come probabilmente sensibili ad un composto di Formula I se le cellule possiedono un gene KRAS mutato. Si prevede pertanto che i pazienti con un gene KRAS mutato sono particolarmente suscettibili al trattamento con un composto di Formula (I). Una cellula è definita sensibile ad un composto di Formula (I) se inibisce l'aumento di numero di cellule in un saggio di crescita cellulare (tramite inibizione della proliferazione cellulare e/o tramite morte cellulare aumentata). I metodi della presente divulgazione sono utili per prevedere quali cellule più probabilmente risponderanno ad un composto di Formula (I) mediante inibizione della crescita.

La presente divulgazione si basa inoltre, in parte, su metodi che possono essere usati per determinare la responsività di un paziente ad un composto di Formula (I) incluso determinare se somministrare un composto di Formula (I). Specificamente i metodi della presente divulgazione includono la determinazione dello stato del gene KRAS. La presenza di un gene KRAS mutato indica che le cellule tumorali risponderanno più probabilmente mediante inibizione della crescita

quando poste a contatto con un composto di Formula (I). Lo stato del gene KRAS può pertanto essere usato per selezionare pazienti per il trattamento con un composto di Formula (I).

Un campione "rappresentativo del tumore" può essere l'effettivo campione tumorale isolato, o può essere un campione che è stato ulteriormente processato, ad esempio un campione di acido nucleico amplificato con PCR dal campione tumorale.

Definizioni:

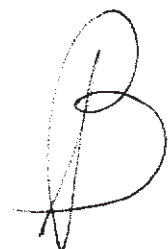
In questa sezione Cure sanitarie personalizzate:

"Allele" si riferisce ad una particolare forma di un locus genetico, che si distingue da altre forme per la sua particolare sequenza nucleotidica o amminoacidica.

"Reazioni di amplificazione" sono reazioni di acidi nucleici che possono dare come risultato l'amplificazione di acidi nucleici bersaglio rispetto ad acidi nucleici non bersaglio. La reazione a catena della polimerasi (PCR) è una reazione di amplificazione ben nota.

"Cancro" è qui usato per fare riferimento a una crescita neoplastica derivante dalla trasformazione cellulare in un fenotipo neoplastico. Tale trasformazione cellulare spesso implica una mutazione genetica.

"Gene" è un segmento di DNA che contiene tutte le informazioni per la biosintesi regolata di un prodotto di RNA, inclusi un promotore, esoni, introni, e altri elementi di sequenza che possono trovarsi all'interno delle regioni fiancheggianti 5' o 3' (non all'interno



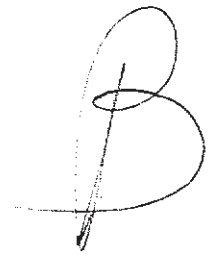
delle porzioni trascritte del gene) che controllano l'espressione.

"Stato del gene" si riferisce a se il gene è wild type o meno (cioè mutante).

"Marcatura" si riferisce a una composizione in grado di produrre un segnale rilevabile indicativo della presenza del polinucleotide bersaglio in un campione di saggio. Marcature adatte includono radioisotopi, cromofori nucleotidici, enzimi, substrati, molecole fluorescenti, frazioni chemiluminescenti, particelle magnetiche, frazioni bioluminescenti, e simili. Perciò, una marcatura è qualsiasi composizione rilevabile mediante mezzi spettroscopici, fotochimici, biochimici, immunochimici, elettrici, ottici o chimici.

"Variazione non sinonimica" si riferisce a una variazione (varianza) in o sovrapposta alla sequenza codificante di un gene che determina la produzione di una sequenza polipeptidica distinta (alterata). Queste variazioni possono influenzare o meno la funzione proteica e includono varianti missenso (che danno luogo alla sostituzione di un amminoacido ad un altro), varianti nonsense (che danno luogo a un polipeptide tronco a causa della generazione di un codone di stop prematuro) e varianti di inserzione/delezione.

"Variazioni sinonimica" si riferisce a una variazione (varianza) nella sequenza codificante di un gene che non influenza la sequenza del polipeptide codificato. Queste variazioni possono influenzare la funzione proteica indirettamente (per esempio alterando l'espressione del gene), ma, in assenza di evidenza del contrario, sono generalmente



considerate innocue.

"Acido nucleico" si riferisce a molecole di DNA e RNA a singolo o doppio filamento che includono acidi nucleici naturali trovati in natura e/o acidi nucleici modificati, artificiali che hanno scheletri o basi modificati, come noto nell'arte.

"Primer" si riferisce a una sequenza oligonucleotidica di DNA a singolo filamento in grado di agire come punto di inizio di sintesi di un prodotto di estensione di primer che è complementare al filamento di acido nucleico da copiare. La lunghezza e la sequenza del primer devono essere tali da essere in grado di innescare la sintesi di prodotti di estensione. Un tipico primer contiene almeno circa 7 nucleotidi di lunghezza di una sequenza sostanzialmente complementare alla sequenza bersaglio, ma si preferiscono primer assai più lunghi. Solitamente i primer contengono circa 15-26 nucleotidi, ma possono anche essere impiegati primer più lunghi o più corti.

"Sito polimorfico" è una posizione all'interno di un locus in corrispondenza della quale almeno due sequenze alternative si trovano in una popolazione.

"Polimorfismo" si riferisce alla variazione di sequenza osservata in un individuo in corrispondenza di un sito polimorfico. Polimorfismi includono sostituzioni nucleotidiche, inserzioni, delezioni e microsatelliti e possono, ma non necessariamente, portare a differenze rilevabili nell'espressione genica o nella funzione proteica. In assenza di evidenza di un effetto sull'espressione o la funzione proteica,

polimorfismi comuni, incluse varianti non sinonomiche, sono generalmente considerati inclusi nella definizione di sequenza genica wild-type. Un catalogo dei polimorfismi umani e annotazioni associate, incluse convalida, frequenze osservate, e associazione di malattie, è mantenuta da NCBI (dbSNP: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>). Si prega di notare che il termine "polimorfismo" quando usato nel contesto di sequenze geniche non deve essere confuso con il termine "polimorfismo" quando usato nel contesto di forma di stato solido di un composto, cioè la natura cristallina o amorfa di un composto. Il tecnico del ramo comprenderà i significati desiderati dal contesto.

"Sonda" si riferisce a oligonucleotidi sequenza-specifici a singolo filamento che hanno una sequenza che è esattamente complementare alla sequenza bersaglio dell'allele da rilevare.

"Risposta" è definita dalle misurazioni effettuate in base ai criteri di valutazione della risposta nei tumori solidi (Response Evaluation Criteria in Solid Tumours (RECIST)) che comportano la classificazione dei pazienti in due gruppi principali: quelli che mostrano una risposta parziale o una malattia stabile e quelli che mostrano segni di malattia in progressione.

"Condizioni di ibridazione stringenti" si riferisce a un'incubazione per tutta la notte a 42°C in una soluzione comprendente 50% formammide, 5x SSC (NaCl 750 mM, trisodio citrato 75 mM), fosfato di sodio 50 mM (pH 7,6), 5x soluzione di Denhardt, 10% solfato

di destrano, e DNA tagliato di sperma di salmone, denaturato, 20 pg/ml, seguito da lavaggio dei filtri in 0,1x SSC a circa 65°C.

"Sopravvivenza" contempla la sopravvivenza complessiva dei pazienti e la sopravvivenza in assenza di progressione.

"Sopravvivenza complessiva" (OS) è definita come il tempo dall'inizio della somministrazione di farmaci alla morte per qualsiasi causa. "Sopravvivenza in assenza di progressione" (PFS) è definita come il tempo dall'inizio della somministrazione di farmaci alla prima comparsa di malattia progressiva o morte per qualsiasi causa.

La presente invenzione divulga un metodo per selezionare un paziente affetto da cancro adatto per il trattamento con un composto di Formula (I), il metodo comprendente;

(a) testare un paziente affetto da cancro per determinare se il gene KRAS nel tumore del paziente è di tipo selvatico o mutante; e selezionare un paziente per il trattamento con un composto di Formula (I) sulla base di questo.

In una forma di realizzazione, lo stato del gene KRAS nel tumore di un paziente è determinato da un campione biologico ottenuto da detto paziente. In una forma di realizzazione il campione biologico è un campione contenente cellule tumorali. In una forma di realizzazione il campione biologico è uno che contiene DNA tumorale, come un campione ematico. Secondo un aspetto della presente divulgazione viene fornito un metodo per selezionare un paziente per il trattamento con un composto di Formula (I), il metodo comprendente ottenere un



campione da un paziente che comprende cellule tumorali o acido nucleico dalla cellula tumorale; determinare se il gene KRAS nelle cellule tumorali del paziente sono di tipo selvatico o mutante; e selezionare un paziente per il trattamento con un composto di Formula (I) sulla base di questo.

Il metodo può includere o escludere la fase di effettivo isolamento del campione del paziente. Perciò, secondo un aspetto della presente divulgazione viene fornito un metodo di selezione di un paziente per il trattamento con un composto di Formula (I), il metodo comprendendo determinare se il gene KRAS in un campione contenente la cellula tumorale o acido nucleico precedentemente isolato dal paziente è di tipo selvatico o mutante; e selezionare un paziente per il trattamento con un composto di Formula (I) sulla base di questo.

In una forma di realizzazione, il paziente è selezionato per il trattamento con un composto di Formula (I) se la cellula tumorale ha un gene KRAS mutante.

Secondo un altro aspetto della presente divulgazione viene fornito un metodo di previsione della responsività di un paziente ad un composto di Formula (I), il metodo comprendendo determinare se il gene KRAS nelle cellule tumorali del paziente è di tipo selvatico o mutante; e, sulla base di questo, prevedere la responsività di un paziente al trattamento con un composto di Formula (I).

Secondo un altro aspetto della divulgazione viene fornito un

metodo di determinazione della probabilità di efficacia di trattamento con un composto di Formula I in un paziente umano affetto da cancro comprendente: determinare se il(i) gene(i) KRAS nelle cellule tumorali del paziente è di tipo selvatico o mutante e, sulla base di questo, prevedere la responsività di un paziente al trattamento con un composto di Formula (I).

Per gli scopi della presente divulgazione, uno stato del gene di tipo selvatico intende indicare l'espressione normale o appropriata del gene e la funzione normale della proteina codificata. Di contro, lo stato mutante intende indicare l'espressione genica anomala o inappropriata, o l'espressione di una proteina con funzione alterata, coerentemente con i noti ruoli di KRAS mutante nel cancro (come descritto nel presente documento). Qualsiasi numero di alterazioni genetiche o epigenetiche, incluse ma senza limitazione, mutazione, amplificazione, delezione, riarrangiamento genomico, o modifiche del profilo di metilazione, può determinare uno stato mutante. Tuttavia, se tali alterazioni determinano comunque un'espressione appropriata della proteina normale, o una variante funzionalmente equivalente, allora lo stato del gene viene considerato wild-type. Esempi di varianti che non determineranno tipicamente uno stato di gene mutante funzionale includono varianti di codifica sinonimiche e polimorfismi comuni (sinonimici o non sinonimici). Come discusso di seguito, lo stato del gene può essere valutato con un saggio funzionale, o può essere dedotto dalla natura delle deviazioni rilevate da una sequenza di

riferimento.

In alcune forme di realizzazione lo stato del gene di tipo selvatico o mutante del gene KRAS è determinato dalla presenza o assenza di variazioni di acido nucleico non sinonimiche nei geni. Variazioni non sinonimiche osservate corrispondenti a noti polimorfismi comuni senza alcun effetto funzionale annotato non contribuiscono ad uno stato del gene mutante.

Dettagli di accesso di GeneBank di KRAS: KRAS NM_004985

Sarà evidente che il gene e le sequenze di mRNA divulgate per KRAS e per la sequenza di proteina KRAS sono ciascuna una sequenza rappresentativa. In individui normali vi sono due copie di ciascun gene, una copia materna e una paterna, che avranno probabilmente alcune differenze di sequenza, inoltre all'interno di una popolazione esisteranno numerose varianti alleliche della sequenza genica. Altre sequenze considerate di tipo selvatico includono quelle che possiedono uno o più cambiamenti sinonimici alla sequenza di acido nucleico (cambiamenti che non alterano la sequenza di proteina codificata), polimorfismi comuni non sinonimici (ad esempio polimorfismi di linea germinale) che alterano la sequenza di proteina ma non influenzano la funzione della proteina, e cambiamenti di sequenza intronica non di sito di splicing.

Secondo un altro aspetto della presente divulgazione viene fornito un metodo per determinare la probabilità di efficacia di trattamento con un composto di Formula (I) in un paziente umano

affetto da cancro comprendente: rilevare la presenza o l'assenza di almeno una varianza di acido nucleico non sinonimica nel gene KRAS di detto paziente rispetto al gene di tipo selvatico, in cui la presenza di almeno una varianza di acido nucleico non sinonimica somatica nel gene KRAS indica che il trattamento con il composto di Formula (I) sarà probabilmente efficace.

Secondo un altro aspetto della presente divulgazione viene fornito un metodo per valutare la suscettibilità di un individuo al trattamento con un composto di Formula (I), metodo che comprende:

(i) determinare lo stato di mutazione non sinonimica del gene KRAS nell'acido nucleico della cellula tumorale dell'individuo; e,

(ii) determinare la probabile suscettibilità dell'individuo al trattamento con un composto di Formula (I) facendo riferimento allo stato di mutazione non sinonimica del gene KRAS nelle cellule tumorali.

Sono disponibili numerose tecniche per il tecnico del ramo per determinare lo stato genico di KRAS. Lo stato genico può essere determinato tramite determinazione della sequenza di acido nucleico. Questo potrebbe avvenire tramite sequenziamento diretto del gene a piena lunghezza o l'analisi di specifici siti all'interno del gene, ad esempio siti comunemente mutati.

Un mezzo alternativo per determinare se il gene KRAS è o meno di tipo selvatico o mutante è di valutare la funzione del gene trascritto. La mutazione funzionale di questo gene KRAS produce una proteina che ha capacità di idrolisi di GTP compromessa. Una KRAS

mutante persiste in uno stato attivo legato a GTP, causando una stimolazione costitutiva e deregolata della segnalazione a valle della via nelle cellule, inclusa ma senza limitazione l'attivazione delle vie di Raf, PI3K e Ral.

I saggi per valutare lo stato funzionale di varianti di KRAS quando espressa nelle cellule includono, ma senza limitazione:

- (i) legame aumentato al dominio legante Ras (RBD) di Raf1
- (ii) livelli aumentati di ERK1/2, MEK1/2, o Akt fosforilate;
- (iii) formazione aumentata del focus e delle colonie di cellule NIH-3T3 trasfettate con la variante di KRAS.

Campioni

Il campione del paziente da testare per lo stato genico può essere qualsiasi campione contenente tessuto tumorale, contenente cellule tumorali o acido nucleico tumorale ottenuto o ottenibile dall'individuo. Il campione di test è opportunamente un campione di sangue, tampone orale, biopsia, o altro fluido o tessuto corporeo da un individuo. Particolari esempi includono: cellule tumorali circolanti, DNA circolante nel plasma o nel siero, cellule isolate dal fluido ascitico di pazienti affette da cancro ovarico, espettorato polmonare di pazienti con tumori nel polmone, aspirato con ago sottile da un paziente affetto da cancro mammario, urina, sangue periferico, una raschiatura cellulare, un follicolo pilifero, un punch cutaneo o un campione buccale.

Si apprezzerà che il campione di test può ugualmente essere una sequenza di acido nucleico corrispondente alla sequenza nel



campione di test, vale a dire che tutta o parte della regione nell'acido nucleico del campione può innanzitutto essere amplificata usando qualsiasi tecnica conveniente, ad esempio reazione a catena della polimerasi (PCR), prima dell'analisi. L'acido nucleico può essere DNA genomico o RNA frazionato o di cellule intere. In particolari forme di realizzazione l'RNA è RNA di cellule intere ed è usato direttamente come template per marcare un primo filamento di cDNA usando primer casuali o primer poli A. L'acido nucleico o proteina nel campione di test può essere estratto dal campione secondo metodologie standard (si veda Green & Sambrook, Ed., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (2012, 4a edizione, Vol. 1-3, ISBN 9781936113422), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.).

I metodi diagnostici della presente divulgazione possono essere intrapresi usando un campione precedentemente prelevato dall'individuo o paziente. Tali campioni possono essere conservati tramite congelamento o fissati e inclusi in formalina-paraffina o altri mezzi. In alternativa, un campione fresco contenente cellule tumorali può essere ottenuto e usato.

I metodi della divulgazione possono essere applicati usando cellule di qualsiasi tumore. Tumori adatti per il trattamento con un composto di Formula (I) sono stati descritti in precedenza.

Metodi per il rilevamento di acidi nucleici

Il rilevamento di acidi nucleici di KRAS mutante possono essere impiegati, nel contesto della presente divulgazione, per prevedere la



risposta al trattamento farmacologico. Dato che le mutazioni in questi geni avvengono a livello del DNA, i metodi della presente divulgazione possono essere basati sul rilevamento di mutazioni o variazioni nel DNA genomico, nonché trascritti e proteine stessi. Può essere auspicabile confermare le mutazioni nel DNA genomico mediante analisi dei trascritti e/o dei polipeptidi, al fine di garantire che la mutazione rilevata sia effettivamente espressa nel soggetto.

Sarà evidente al tecnico del ramo che esistono numerose procedure analitiche che si possono usare per rilevare la presenza o l'assenza di nucleotidi varianti in una o più posizioni in un gene. In generale, il rilevamento di variazione allelica richiede una tecnica di discriminazione di mutazione, facoltativamente una reazione di amplificazione (quale una basata sulla reazione a catena della polimerasi) e facoltativamente un sistema di generazione di segnale. Esiste una moltitudine di tecniche di rilevamento di mutazioni disponibile nell'arte e queste possono essere usate in combinazione con un sistema di generazione di segnale, di cui ne esistono numerose nell'arte. Molti metodi per il rilevamento della variazione allelica sono esaminati da Nollau et al., Clin. Chem., 1997, 43, 1114-1120; Anderson SM. Expert Rev Mol Diagn., 2011, 11, 635-642; Meyerson M. et al., Nat Rev Genet., 2010, 11, 685-696; e in testi standard, per esempio "Laboratory Protocols for Mutation Detection", a cura di U. Landegren, Oxford University Press, 1996 e "PCR", 2a edizione di Newton & Graham, BIOS Scientific Publishers Limited, 1997.

Come indicato sopra, la determinazione della presenza o dell'assenza di una particolare varianza o pluralità di varianze nel gene KRAS in un paziente affetto da cancro può essere eseguita in una varietà di modi. Tali test sono comunemente eseguiti usando DNA o RNA raccolto da campioni biologici, ad esempio biopsie di tessuto, urina, feci, espettorato, sangue, cellule, raschiature di tessuto, aspirati mammari o altri materiali cellulari, e possono essere eseguiti mediante una varietà di metodi inclusi, ma senza limitazioni, PCR, ibridazione con sonde allele-specifiche, rilevamento di mutazione enzimatica, clivaggio chimico di appaiamenti errati, spettrometria di massa o sequenziamento di DNA, incluso minisequenziamento.

Tecniche di rilevamento di mutazione adatte includono sistema di mutazione refrattaria all'amplificazione (ARMS™), estensione lineare del sistema di mutazione refrattaria all'amplificazione (ALEX™), sistema di priming oligonucleotidico competitivo (COPS), Taqman, Molecular Beacons, polimorfismo da lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLP), e PCR basata su siti di restrizione e tecniche di trasferimento di energia per risonanza fluorescenza (FRET).

In particolari forme di realizzazione il metodo impiegato per determinare gli uno o più nucleotidi all'interno di un gene biomarcatore è selezionato tra: amplificazione allele-specifica (PCR allele specifica) - quale sistema di mutazione refrattaria all'amplificazione (ARMS), sequenziamento, saggio di discriminazione allelica, ibridazione, polimorfismo da lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLP) o saggio

di ligazione oligonucleotidica (OLA).

La generazione di acidi nucleici per l'analisi dai campioni richiede generalmente l'amplificazione degli acidi nucleici. Molti metodi di amplificazione si basano su una reazione a catena enzimatica (quale una reazione a catena della polimerasi, una reazione a catena della ligasi, o una replicazione di sequenze auto-sostenuta) o dalla replicazione di tutto o parte del vettore in cui è stato clonato. Preferibilmente, l'amplificazione secondo la presente divulgazione è un'amplificazione esponenziale, come mostrato da, per esempio, la reazione a catena della polimerasi.

Molti metodi di amplificazione di bersaglio e di segnale sono stati descritti in letteratura, per esempio, rassegne generali di questi metodi in Landegren, U., et al., *Science*, 1988 242, 229-237 e Lewis, R., *Genetic Engineering News* 1990, 10, 54-55. Questi metodi di amplificazione possono essere usati nei metodi della presente divulgazione, e includono la reazione a catena della polimerasi (PCR), PCR in situ, reazione di amplificazione di ligasi (LAR), ibridazione di ligasi, replicasi del batteriofago Q β , sistema di amplificazione basato su trascrizione (TAS), amplificazione genomica con sequenziamento di trascritto (GAWTS), amplificazione basata su sequenza di acido nucleico (NASBA) e ibridazione in situ. Primer adatti all'uso in varie tecniche di amplificazione possono essere preparati secondo metodi noti nell'arte.

La reazione a catena della polimerasi (PCR) PCR è un metodo

di amplificazione di acido nucleico descritto tra le altre cose nei brevetti U.S. n. 4,683,195 e 4,683,202. La PCR consiste in cicli ripetuti di reazioni di estensione di primer generati da DNA polimerasi. Il DNA bersaglio viene denaturato a caldo e due oligonucleotidi, che abbracciano la sequenza bersaglio su filamenti opposti del DNA da amplificare, vengono ibridate. Questi oligonucleotidi diventano primer per l'uso con DNA polimerasi. Il DNA viene copiato mediante estensione di primer per realizzare una seconda copia di entrambi i filamenti. Ripetendo il ciclo di denaturazione a caldo, ibridazione e estensione di primer, il DNA bersaglio può essere amplificato un milione di volte o più in circa da due a quattro ore. La PCR è uno strumento di biologia molecolare, che deve essere usato insieme a una tecnica di rilevamento per determinare i risultati dell'amplificazione. Un vantaggio della PCR è che essa aumenta la sensibilità amplificando la quantità di DNA bersaglio di 1 milione - 1 miliardo di volte in circa 4 ore. La PCR può essere usata per amplificare qualsiasi acido nucleico noto in un contesto diagnostico (Mok et al., *Gynaecologic Oncology*, 1994, 52: 247-252,).

Una tecnica di amplificazione allele specifica quale il sistema di mutazione refrattario all'amplificazione (ARMS™) (Newton et al., *Nucleic Acids Res.*, 1989, 17, 2503-2516) può anche essere usata per rilevare singole mutazioni di base. Alle condizioni di amplificazione di PCR appropriate un singolo appaiamento errato di basi situato all'estremità 3' del primer è sufficiente per l'amplificazione preferenziale

dell'allele perfettamente appaiato (Newton et al., 1989, *supra*), consentendo la discriminazione di specie strettamente correlate. La base di un sistema di amplificazione che utilizza i primer sopra descritti è che gli oligonucleotidi con un residuo in 3' appaiato in modo errato non funzioneranno come primer nella PCR alle condizioni appropriate. Questo sistema di amplificazione permette la genotipizzazione solamente tramite ispezione di miscele di reazione dopo elettroforesi su gel di agarosio.

L'analisi dei prodotti di amplificazione può essere eseguita usando qualsiasi metodo in grado di separare i prodotti di amplificazione in base alla loro dimensione, inclusa elettroforesi su gel automatizzata e manuale, spettrometria di massa e simili.

I metodi di isolamento, amplificazione e analisi di acido nucleico sono di routine per un tecnico del ramo ed esempi di protocolli si possono trovare, per esempio, Green & Sambrook, Ed., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (2012, 4a edizione, Vol. 1-3, ISBN 9781936113422), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.) Una sorgente di protocollo particolarmente utile per metodi usati in amplificazione PCR è *PCR (Basics: From Background to Bench)* a cura di M. J. McPherson, S. G. Mailer, R. Beynon, C. Howe, Springer Verlag; 1a edizione (15 ottobre 2000), ISBN: 0387916008.

In ancora ulteriori forme di realizzazione, la presente divulgazione riguarda una composizione farmaceutica comprendente un composto di Formula (I) per l'uso nella prevenzione e nel trattamento

di un cancro con cellule tumorali identificate come ospitanti un gene KRAS mutante.

Per tutti gli aspetti precedenti, le forme mutanti di KRAS determinate/identificate si trovano in tutte le posizioni nel gene.

In ulteriori aspetti, i composti della presente divulgazione possono anche essere utili nel trattamento di cancro mutanti di BRAF. Le informazioni fornite sopra in questa sezione Cure sanitarie personalizzate per cancro mutanti di KRAS possono essere analogamente applicate a cancro resistenti a BRAF, diverse dai dettagli di accesso GeneBank. Dettagli di accesso GeneBank di BRAF: BRAF NM_004333.

Descrizione delle figure

La Figura 1 mostra il pattern di diffrazione di raggi X su polveri di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico Forma 1 (Esempio 18a).

La Figura 2 mostra il termogramma DSC di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico Forma 1 (Esempio 18a).

La Figura 3 mostra il pattern di diffrazione di raggi X su polveri di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico Forma 1 (Esempio 34).

La Figura 4 mostra il termogramma DSC di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico Forma 1 (Esempio 34).

La Figura 5 mostra l'inibizione della crescita tumorale con l'Esempio 18a in combinazione con selumetinib (ARRY-142886) in modello di xenotrapianto A549.

Figura 6: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare A549 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Matrice di dose rappresentante i valori in percentuale di inibizione della crescita presi dalle curve dose-risposta adattate.

Figura 7: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare A549 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Modello di additività di Loewe calcolato dalle curve dose-risposta della monoterapia.

Figura 8: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare A549 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Mappa del calore in eccesso (sinergia) calcolata sottraendo i dati del modello di additività di Loewe dai dati adattati.

Figura 9: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2122 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in

KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Matrice di dose rappresentante i valori in percentuale di inibizione della crescita presi dalle curve dose-risposta adattate.

Figura 10: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2122 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Modello di additività di Loewe calcolato dalle curve dose-risposta della monoterapia.

Figura 11: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2122 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Mappa del calore in eccesso (sinergia) calcolata sottraendo i dati del modello di additività di Loewe dai dati adattati.

Figura 12: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2009 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Matrice di dose rappresentante i valori in percentuale di inibizione della crescita presi dalle curve dose-risposta adattate.

Figura 13: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2009 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Modello di additività di Loewe calcolato dalle curve dose-risposta della monoterapia.

Figura 14: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare

H2009 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Mappa del calore in eccesso (sinergia) calcolata sottraendo i dati del modello di additività di Loewe dai dati adattati.

Figura 15: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare Calu6 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Matrice di dose rappresentante i valori in percentuale di inibizione della crescita presi dalle curve dose-risposta adattate.

Figura 16: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare Calu6 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Modello di additività di Loewe calcolato dalle curve dose-risposta della monoterapia.

Figura 17: Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare Calu6 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Mappa del calore in eccesso (sinergia) calcolata sottraendo i dati del modello di additività di Loewe dai dati adattati.

Esempi

La presente divulgazione sarà ora illustrata nei seguenti Esempi in cui, in generale:

(i) le operazioni sono state eseguite a temperatura ambiente, vale a dire nell'intervallo da 17 a 25 °C e in un'atmosfera di un gas

inerte come azoto se non altrimenti indicato;

(ii) le evaporazioni sono state eseguite mediante evaporazione rotante o utilizzando apparecchiatura Genevac o l'evaporatore Biotage v10 sotto vuoto, e sono state effettuate procedure di work-up dopo la rimozione di solidi residui mediante filtrazione;

(iii) le purificazioni con cromatografia flash sono state eseguite su un Teledyne Isco CombiFlash® Rf o Teledyne Isco CombiFlash® Companion® automatizzato usando colonne di silice RediSep Rf Gold™ preconfezionate (20-40 µm, particelle sferiche), cartucce GraceResolv™ (silice Davisil®) o cartucce Silicycle (40-63 µm).

(iv) la cromatografia preparativa è stata eseguita su uno strumento Gilson prep HPLC con raccolta UV;

(v) la cromatografia chirale preparativa è stata eseguita su uno strumento Gilson con raccolta UV (iniettore/raccoglitore di frazione 233, pompe 333 e 334, rilevatore UV 155), o un sistema Interchim PuriFlash 4250-250 o un sistema Novasep LC50 con rilevatore UV Knauer K2501;

(vi) le rese, laddove presenti, non sono necessariamente il massimo raggiungibile;

(vii) in generale le strutture dei prodotti finali della Formula I sono state confermate mediante spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR); i valori di spostamento chimico NMR sono stati misurati sulla scala delta [spettri di risonanza magnetica protonica sono stati determinati usando uno strumento Bruker Avance 500 (500 MHz) o Bruker Avance 400 (400 MHz)]; le misurazioni sono state prese a

temperatura ambiente se non altrimenti specificato; sono state utilizzate le seguenti abbreviazioni: s, singoletto; d, doppietto; t, tripletto; q, quartetto; m, multipletto; dd, doppietto di doppietti; ddd, doppietto di doppietto di doppietto; dt, doppietto di tripletto; bs, segnale ampio; in cui "DMSO" indicato come solvente usato nella NMR è inteso essere d6-DMSO;

(viii) in generale anche i prodotti finali della Formula I sono stati caratterizzati mediante spettroscopia di massa dopo cromatografia liquida (LCMS o UPLC); l'UPLC è stata effettuata usando una UPLC Waters dotata di uno spettrometro di massa Waters SQ (temp. di colonna 40, UV = 220-300 nm, spettri di massa = ESI con commutazione positiva/negativa) a una portata di 1 ml/min usando un sistema solvente da A 97% + B 3% ad A 3% a B 97% per 1,50 min (tempo di esecuzione totale con equilibratura alle condizioni di partenza, ecc. 1,70 min), in cui A = acido formico 0,1% in acqua (per acidificazione) o ammoniaca 0,1% in acqua (per basificazione) B = acetonitrile. Per l'analisi degli acidi, la colonna utilizzata era Waters Acquity HSS T3 da 1,8 μm 2,1 x 50 mm, per analisi delle basi la colonna utilizzata era Waters Acquity BEH da 1,7 μm 2,1 x 50 mm; la LCMS è stata effettuata utilizzando un Waters Alliance HT (2795) dotato di uno spettrometro di massa Waters ZQ ESCi e una colonna Phenomenex Gemini-NX (50 x 2,1 mm, 5 μm) a una portata di 1,1 ml/min da A 95% a B 95% per 4 minuti con un mantenimento di 0,5 min. Il modificatore è mantenuto ad un 5% C costante (50:50

acetonitrile:acqua con 0,1% di acido formico) o D (50:50 acetonitrile:acqua con 0,1% di idrossido di ammonio (0,88 SG) a seconda che si tratti di un metodo acido o basico.

(ix) la purificazione a scambio ionico è stata generalmente eseguita usando una cartuccia SCX-2 (Biotage, silice funzionalizzata con acido propilsolfonico. Prodotta usando silano trifunzionale. Senza tappo all'estremità).

(viii) la purezza dell'intermedio è stata valutata mediante analisi cromatografica su strato sottile, spettrale di massa, HPLC (cromatografia liquida ad alta prestazione) e/o NMR.

(xi) La diffrazione di raggi X su polveri è stata eseguita usando un Bruker D4. Il diffrattogramma di raggi X su polveri è stato determinato montando un campione del materiale cristallino su un vetrino di wafer di silicio monocristallino (SSC) Bruker e stendendo il campione in uno strato sottile con l'aiuto di un vetrino portaoggetti. Il campione è stato centrifugato a 30 giri al minuto (per migliorare le statistiche di conteggio) e irradiato con raggi X generati mediante un tubo in rame con messa a fuoco fine da lontano azionato a 40 kV e 40 mA con una lunghezza d'onda di 1,5418 angstrom. La sorgente di raggi X collimata è stata fatta passare attraverso una fenditura di divergenza variabile automatica impostata a V20 e la radiazione riflessa diretta attraverso una fenditura anti-diffusione da 5,89 mm e una fenditura di rivelatore da 9,55 mm. I dati sono stati misurati in geometria di riflessione in configurazione $\theta - 2\theta$ nell'intervallo di scansione da 2° a

40° 2θ con un'esposizione nominale di 0,12 secondi per incremento di 0,02°. Lo strumento è stato dotato di un rilevatore sensibile alla posizione (Lynxeye). I tecnici del ramo esperti nella diffrazione di raggi X su polveri comprenderanno che l'intensità relativa dei picchi può essere influenzata, per esempio, da grani di dimensioni superiori a 30 micron e da rapporti d'aspetto non unitari che possono influenzare l'analisi dei campioni. Il tecnico del ramo comprenderà anche che la posizione delle riflessioni può essere influenzata dall'altezza precisa alla quale il campione si trova nel diffrattometro e dalla calibrazione dello zero del diffrattometro. Anche la planarità superficiale del campione può avere un piccolo effetto. I dati relativi ai pattern di diffrazione presentati non devono quindi essere considerati come valori assoluti.

(xii) La calorimetria differenziale a scansione (DSC) è stata eseguita usando uno strumento Q2000 DSC TA Instruments. Tipicamente meno di 5 mg di materiale contenuto in un contenitore di alluminio standard dotato di coperchio sono stati riscaldati nell'intervallo di temperatura da 25°C a 300°C ad una velocità di riscaldamento costante di 10°C al minuto. È stato usato un gas di spurgo che utilizzava azoto; la velocità di flusso era 50 ml al minuto.

(xiii) sono state usate le seguenti abbreviazioni:

Precatalizzatore di 2^a generazione XantPhos cloro[(4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxantene)-2-(2'-ammino-1,1'-bifenil)]palladio(II)

18-corona-61,4,7,10,13,16-esaossacicloottadecano

acq. Acquoso

atm un'unità di pressione atmosferica

Boc *terz*-butossicarbonile

Precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos [2-(di-1-adamantilfosfino)-2',4',6'-triisopropil-3,6-dimetossibifenil][2-(2'-ammino-1,1'-bifenil)]palladio(II) metansolfonato

CDCl₃ deutero-cloroformio

DAST (dietilammino)zolfo trifluoruro

DCM diclorometano

DIEA N,N-diisopropiletilammina

DIPEA diisopropiletilammina

DMF dimetilformammide

DMSO dimetil solfossido

DSC calorimetria a scansione differenziale

EtOH etanolo

EtOAc etil acetato

IPA *iso*-propitalcol

MeOH metanolo

MeTHF *rac*-2-metiltetraidrofurano

NBS *N*-bromosuccinimide

Pd₂dba₃ tris(dibenzilidenacetone)dipalladio(0)

rt/RT temperatura ambiente

sat. Saturo

B

SEM-Cl 2-(Trimetilsilil)etossimetil cloruro

TEA trietilammina

THF tetraidrofurano

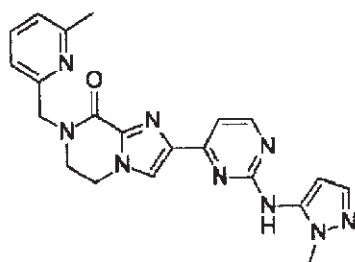
Tos tostile

Precatalizzatore di 2a generazione XPhos cloro(2-dicicloesilfosfino-2',4',6'-trisopropil-1,1'-bifenil)[2-(2'-ammino-1,1'-bifenil)]palladio(II)

XRPD diffrazione di raggi X su polveri

Esempio 1

2-(2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-metilpiridin-2-il)metile)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

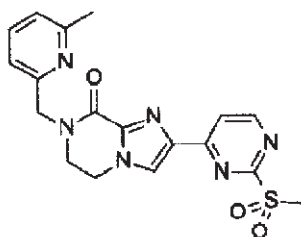


NaH (12,05 mg, 0,50 mmol) è stato aggiunto a 7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-2-(2-(metilsolfonil)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 1; 100 mg, 0,25 mmol) e *N*-(1-metil-1H-pirazol-5-il)formammide (Intermedio 2; 94 mg, 0,75 mmol) in THF (1,5 mL) a 25°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 25 °C per 3 ore. È stato aggiunto EtOH (2 mL), e agitato per 10 minuti. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (50 mL) ed estratta in EtOAc (30 x 25 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare un

prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante HPLC preparativa (colonna Waters XBridge Prep C18 OBD, silice 5 μ , diametro 19 mm, lunghezza 100 mm), usando come eluenti miscele polari di acqua in modo decrescente (contenenti NH_4HCO_3 allo 0,1%) e MeCN. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 1; 40 mg, 38%) come un solido bianco. ^1H NMR (300 MHz, DMSO, 26°C) δ 2,51 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,84-3,88 (2H, m), 4,40-4,44 (2H, m), 4,76 (2H, s), 6,30 (1H, s), 7,14-7,18 (2H, m), 7,32-7,35 (2H, m), 7,64-7,69 (1H, m), 7,93 (1H, s), 8,46 (1H, d), 9,38 (1H, s). *m/z* (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 416$.

Intermedio 1

7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-2-(2-(metilsolfonil)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

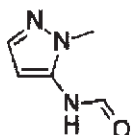


Persolfato di potassio (1,01 g, 3,75 mmol) è stato aggiunto in porzioni a 7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-2-(2-(metiltio)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 3; 275 mg, 0,75 mmol) in MeOH (5 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 25°C per 12 ore. La reazione è stata poi riscaldata fino a 40°C e

agitata per ulteriori 6 ore. La miscela di reazione è stata poi diluita con DCM (100 mL) e lavata con acqua (25 mL x 2). Lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare per fornire il prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 10% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-2-(2-(metilsolfonil)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 1; 210 mg, 70%) come un solido bianco. ¹HNMR (300 MHz, DMSO, 26 °C) δ 2,50 (3H, s), 3,46 (3H, s), 3,85-3,95 (2H, m), 4,42-4,46 (2H, m), 4,86 (2H, s), 7,15-7,20 (2H, m), 7,64-7,69 (1H, m), 8,15 (1H, d), 8,40 (1H, s), 9,05 (1H, d). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 399.

Intermedio 2

N-(1-metil-1H-pirazol-5-il)formammide

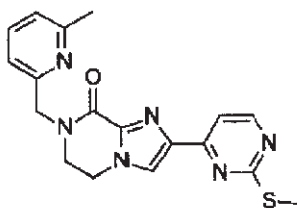


Acido formico (3,1 mL, 67,35 mmol) è stato aggiunto ad anidride acetica (7,7 mL, 75,42 mmol) a dare una soluzione incolore. La soluzione risultante è stata agitata a 45°C per 45 minuti. La miscela di reazione è stata poi raffreddata fino a 0°C ed è stata aggiunta 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (2 g, 20,59 mmol). La soluzione risultante è stata agitata a 0°C per 10 minuti. La miscela di reazione è stata poi versata in una miscela di acqua (50 mL) ed EtOAc (50 mL) e la miscela di reazione è stata regolata fino a pH 8 con K₂CO₃ saturo. Lo strato

acquoso è stato estratto con EtOAc (6 x 50 mL) e lavato con acqua (2 x 50 mL). Le fasi organiche combinate sono state essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare il prodotto desiderato *N*-(1-metil-1*H*-pirazol-5-il)formammide (Intermedio 2; 1,21 g, 47%) come solido bianco. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 26°C) 3,80 (3H, s), 6,11 (1H, s), 7,44 (2H, s), 8,35 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 126.

Intermedio 3

7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-2-(2-(metiltio)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



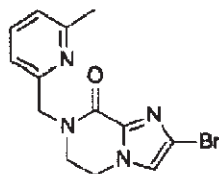
4-tributilstannil-2-tiometilpirimidina (2,66 g, 6,41 mmol) è stata aggiunta a 2-bromo-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 4; 1,87 g, 5,82 mmol) e Pd-118 ([1,1'-bis(di-*terz*-butilfosfino)ferrocene]dicloropalladio(II)) (0,204 g, 0,29 mmol) in DMF (5 mL) sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 150°C in un reattore a microonde per 8 ore. La miscela di reazione è stata filtrata attraverso celite, diluita con EtOAc (200 mL), e lavata in sequenza con acqua (50 mL x 2). Gli strati organici combinati sono stati essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash C18, gradiente di eluizione MeCN da 0 al 50% in acqua. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 7-((6-metilpiridin-

B

2-il)metil)-2-(2-(metiltio)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 3; 0,28 g, 13%) come un solido grigio. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 22 °C) δ 2,50 (3H, s), 2,63 (3H, s), 3,85-3,89 (2H, m), 4,39-4,43 (2H, m), 4,85 (2H, s), 7,15-7,19 (2H, m), 7,59-7,69 (2H, m), 8,23 (1H, s), 8,63 (1H, d). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 367$.

Intermedio 4

2-bromo-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



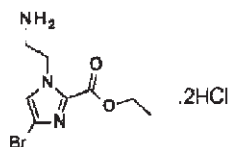
Acetato di sodio (3,24 g, 39,6 mmol) è stato aggiunto in porzioni a etil 1-(2-amminoetil)-4-bromo-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 5; 5,3 g, 15,8 mmol) e 6-metil-2-piridincarbossaldeide (1,92 g, 15,8 mmol) in MeOH (100 mL) raffreddato a 0°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata poi agitata a 0°C per 15 minuti. È stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (10,1 g, 47,5 mmol) in porzioni a 0°C e la soluzione risultante è stata agitata a temperatura ambiente per 12 ore. La miscela di reazione è stata poi regolata fino a pH 7-8 con NaHCO_3 saturo e diluito con DCM (250 mL). La fase con DCM è stata poi lavata in sequenza con acqua (50 mL x 2). Le fasi organiche combinate sono state essiccate su Na_2SO_4 , filtrate e fatte evaporare a dare il prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 9% in

B

DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 2-bromo-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 4; 2,5 g, 49%) come un solido bianco. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 27 °C) δ 2,44 (3H, s), 3,80-3,84 (2H, m), 4,28-4,32 (2H, m) 4,73 (2H, s), 7,13-7,16 (2H, m), 7,63-7,68 (1H, m), 7,96 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 321$.

Intermedio 5

Etil 1-(2-amminoetil)-4-bromo-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato

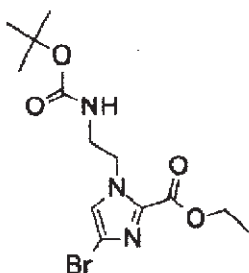


Etil 4-bromo-1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)etil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 6; 4,6 g, 12,70 mmol) è stato aggiunto a HCl (eccesso) in 1,4-diossano (40 mL) e la soluzione risultante è stata agitata a temperatura ambiente per 2 ore. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e il solido risultante è stato titolato con eptano e filtrato a dare etil 1-(2-amminoetil)-4-bromo-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 5; 5,30 g, 140%) come solido bianco. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO, 25 °C) δ 1,33 (3H, t), 3,03-3,16 (2H, m), 4,35 (2H, q), 4,63 (2H, t), 7,34 (1H, s).

Intermedio 6

Etil 4-bromo-1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)etil)-1H-imidazol-2-carbossilato

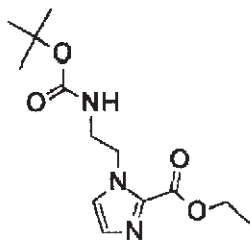
B



NBS (10,05 g, 56,5 mmol) è stato aggiunto in porzioni a etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)etil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 7; 16 g, 56,5 mmol) in DCM (80 mL) e DMF (80 mL) a 0°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata poi agitata a temperatura di 0°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata diluita con DCM (300 mL) e lavata in sequenza con acqua (100 mL x 2). Lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare per fornire il prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 20% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare etil 4-bromo-1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)etil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 6; 4,60 g, 22,49%) come un solido bianco. ¹H-NMR (300 MHz, DMSO, 27 °C) δ 1,39-1,44 (12H, m), 3,47-3,53 (2H, m), 4,37-4,44 (2H, q), 4,53 (1H, s), 7,04 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 362.

Intermedio 7

Etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)etil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato

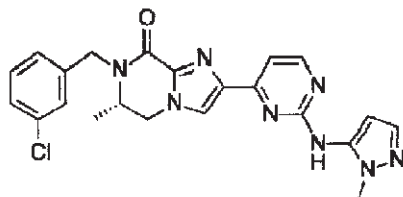


Terz-butil (2-bromoetil)carbammato (17,59 g, 78,49 mmol) è stato aggiunto a etil 1*H*-imidazol-2-carbossilato (10 g, 71,36 mmol) e K₂CO₃ (11,83 g, 85,63 mmol) in DMF (200 mL) sotto azoto e la miscela risultante è stata agitata a 80°C per 8 ore. La miscela di reazione è stata diluita con EtOAc (300 mL), e lavata in sequenza con acqua (50 mL x 2). Lo strato acquoso è stato poi ulteriormente essiccato con EtOAc (50 mL x 5). Le fasi organiche combinate sono state essiccate su MgSO₄, filtrate e fatte evaporare a dare il prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 100% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)etil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 7; 10,7 g, 53%) come un liquido incolore. ¹HNMR (400 MHz, DMSO, 21 °C) δ 1,20 (3H, t), 1,29 (9H, s), 3,26-3,34 (2H, m), 4,27 (2H, q), 4,32-4,40 (2H, m), 6,90 (1H, s), 7,06 (1H, s), 7,32 (1H, s).

Esempio 2

(S)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

B

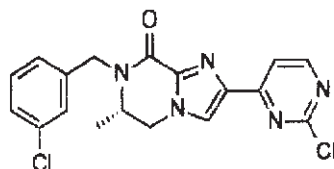


(S)-7-(3-clorobenzil)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 8; 216 mg, 0,56 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (59,4 mg, 0,61 mmol), carbonato di cesio (363 mg, 1,11 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (25,2 mg, 0,03 mmol) sono stati sospesi in *terz*-butanolo (8 mL) e degassati con azoto per 10 minuti. La reazione è stata riscaldata fino a 80°C per 2 giorni sotto azoto. La reazione è stata poi lasciata raffreddare fino a temperatura ambiente, diluita con etil acetato (100 mL) e lavata con bicarbonato di sodio acquoso saturo (25 mL). Le fasi organiche sono state essiccate su Na₂SO₄ e concentrate sotto vuoto a dare un solido marrone (250 mg). Il solido è stato ripreso in DMSO (5 mL) e filtrato. La soluzione con DMSO del prodotto grezzo è stata poi purificata mediante HPLC preparativa (colonna Waters XBridge Prep C18 OBD, silice 5 μ, diametro 30 mm, lunghezza 100 mm), utilizzando come eluenti miscele polari in modo decrescente di acqua (contenenti NH₃ all'1%) e MeCN. Il solvente è stato rimosso dalle frazioni contenenti il prodotto e il solido è stato disciolto in una miscela di DCM e metanolo, poi assorbito su gel di silice. Il prodotto grezzo è stato poi purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 15% in EtOAc. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(2-

((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-
a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 2; 43 mg, 17,22%) come un solido bianco.
¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,13 (3H, d), 3,71 (3H, s), 3,95 -
4,02 (1H, m), 4,28 - 4,45 (3H, m), 5,07 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,32 - 7,43
(5H, m), 7,46 (1H, s), 7,92 (1H, s), 8,48 (1H, d), 9,33 (1H, s). *m/z*: ES+
[M+H]⁺ 449.

Intermedio 8

(*S*)-7-(3-clorobenzil)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7- diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

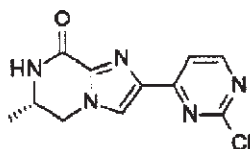


Idruro di sodio (dispersione al 60%) (25,03 mg, 0,63 mmol) è
stato aggiunto a (*S*)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7-
diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 9; 150 mg, 0,57 mmol)
in DMF (12 mL) sotto azoto. La sospensione risultante è stata agitata a
20 °C per 30 minuti. 3-clorobenzil cloruro (101 mg, 0,63 mmol) è stato
aggiunto seguito da ioduro di tetrabuttilammonio (42,0 mg, 0,11 mmol) e
la soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 18 ore. La miscela di
reazione è stata versata in NH₄Cl acquoso saturo (25 mL) e la fase
acquosa estratta con EtOAc (75 mL). Le fasi organiche sono state
essiccate su Na₂SO₄ e concentrate sotto vuoto a dare (*S*)-7-(3-
clorobenzil)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-
a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 8; 221 mg, 100%) come un solido

marrone chiaro. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 21 °C) 1,13 (3H, d), 4,00 (1H, td), 4,27 (1H, dd), 4,38 (1H, d), 4,46 (1H, dd), 5,07 (1H, d), 7,36 - 7,4 (2H, m), 7,41 (1H, dd), 7,47 (1H, s), 7,93 (1H, d), 8,27 (1H, s), 8,75 (1H, d). m/z : ES+ [M+H]⁺ 388.

Intermedio 9

(S)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

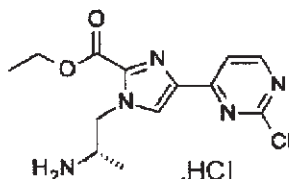


Una miscela di (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloropirimidin-4-il)-1Himidazol-2-carbossilato HCl (Intermedio 10; 2,16 g, 6,24 mmol) e ammoniaca 7 N in metanolo (107 ml, 748,7 mmol) è stata agitata sotto azoto a temperatura ambiente per 1 ora. Le sostanze volatili sono state rimosse a pressione ridotta e il solido risultante è stato titolato con dietilere e DCM a dare un solido bianco sporco. Il solido è stato ulteriormente titolato con acqua e lavato con dietilere e poi assorbito su silice da una miscela di DCM/metanolo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice, eluendo con metanolo allo 0-10% in DCM. Le frazioni pure sono state combinate e fatte evaporare a dare un solido bianco, questo è stato titolato con dietilere a dare (S)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 9; 0,6 g, 37%) come un solido bianco. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,22 (3H, d), 3,93 - 4,08 (2H, m), 4,39 (1H, d), 7,89 (1H, d), 8,23 (1H, s), 8,36 (1H, s), 8,73 (1H, d). m/z :

ES+ [M+H]⁺ 264.

Intermedio 10

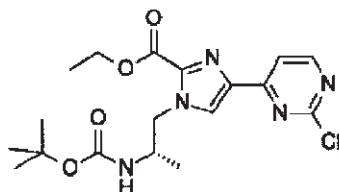
(S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloropirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato cloridrato



A una soluzione di (S)-etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)propil)-4-(2-cloropirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 11; 2,56 g, 6,25 mmol) in 1,4-diossano (50 mL) è stato aggiunto HCl (4 N in 1,4-diossano, 39 mL, 156,2 mmol) e la reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 2 ore. Le sostanze volatili sono state rimosse a pressione ridotta a dare (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloropirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato. HCl (Intermedio 10; 2,16 g) come una gomma che è stata presa nella preparazione dell'Intermedio 9 senza ulteriore purificazione. *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 310.

Intermedio 11

(S)-etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)propil)-4-(2-cloropirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato



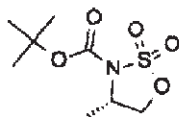
K₂CO₃ (4,32 g, 31,3 mmol) è stato aggiunto a (S)-*terz*-butil 4-

B

metil-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido (Intermedio 12; 2,23 g, 9,38 mmol), etil 4-(2-cloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 14; 1,58 g, 6,25 mmol) e 1,4,7,10,13,16-esaossacicloottadecano (0,413 g, 1,56 mmol) in 1,4-diossano (50 mL) a 22°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 3 ore. L'evaporazione della fase organica ha dato una gomma, che è stata sospesa in diclorometano ed estratta con acqua ed essiccata passando attraverso una cartuccia separatrice di fase. L'evaporazione ha dato (S)-etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)propil)-4-(2-cloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 11; 2,56 g, 100%) come un solido. *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 410.

Intermedio 12

(4*S*)-*terz*-butil 4-metil-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido

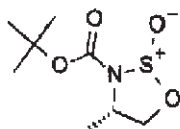


Cloruro di rutenio (III) idrato (0,062 g, 0,28 mmol) è stato aggiunto a una miscela agitata di *terz*-butil (4*S*)-4-metil-2-ossido-ossatiazolidin-2-ilo-3-carbossilato (Intermedio 13; 87,36 g, 394,80 mmol) in acetonitrile (778 mL) e acqua (419 mL) a 15°C, seguito dall'aggiunta in porzioni di periodato di sodio (93 g, 434,29 mmol). La miscela bifasica è stata agitata a 20°C per 1 ora. È stata aggiunta acqua (600 mL) e la miscela è stata estratta in etil acetato (3 x 600 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (500 mL),

salamoia (250 mL), essiccate su MgSO₄, filtrate e concentrate sotto vuoto a dare (*S*)-*terz*-butil 4-metil-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido (Intermedio 12; 84,3 g, 355 mmol, 90%) come un solido bianco sporco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 30 °C) 1,51 (3H, d), 1,55 (9H, s), 4,19 (1H, dd), 4,37 - 4,46 (1H, m), 4,66 (1H, dd).

Intermedio 13

tert-butil (4*S*)-4-metil-2-ossido-ossatiazolidin-2-io-3-carbossilato

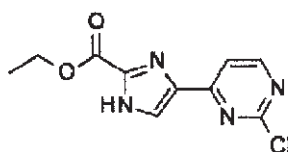


A una soluzione di 1*H*-imidazolo (106 g, 1553,20 mmol) e trietilammina (124 mL, 893,09 mmol) in diclorometano anidro (1427 mL) a -55°C è stato aggiunto cloruro di tionile (32,6 mL, 446,54 mmol) goccia a goccia (esotermico, mantenendo T < -40°C). La miscela è stata agitata per 5 minuti mentre si raffreddava fino a -60°C e una soluzione di (*S*)-*terz*-butil 1-idrossipropan-2-ilcarbammato (Sigma-Aldrich; 68,04 g, 388,30 mmol) in diclorometano anidro (1427 mL) è stata aggiunta goccia a goccia per 3,5 ore mediante un imbuto gocciolatore. La miscela di reazione è stata agitata riscaldando al contempo fino a temperatura ambiente per tutta la notte. È stata aggiunta acqua (750 mL) e le fasi sono state separate. Lo strato acquoso è stato ulteriormente estratto in diclorometano (500 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con acqua (250 mL), salamoia satura (250 mL), essiccate su MgSO₄, filtrate e concentrate

sotto vuoto a dare *terz*-butil (4*S*)-4-metil-2-ossido-ossatiazolidin-2-io-3-carbossilato (Intermedio 13; 87,3 g, 395 mmol, 100%) come un olio pallido. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 30 °C) 1,50 (3H, d), 4,29 (1H, d), 4,68 (1H, t), 4,77 (1H, dd).

Intermedio 14

Etil 4-(2-cloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato

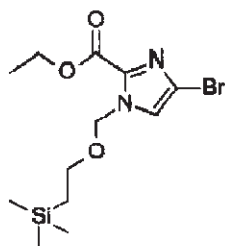


Un precatalizzatore di 2a generazione XPhos (0,435 g, 0,55 mmol) è stato aggiunto a una soluzione degassata di etil 4-bromo-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 15; 3,86 g, 11,05 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-ottametil-2,2'-bi(1,3,2-diossaborolano) (4,21 g, 16,58 mmol) e KOAc (2,17 g, 22,10 mmol) in diossano (100 mL) a temperatura ambiente sotto azoto e la soluzione risultante è stata riscaldata fino a 85°C per 3 ore. La miscela di reazione è stata lasciata raffreddare fino a 50°C e carbonato di cesio (7,20 g, 22,10 mmol), 2,4-dicloropirimidina (1,646 g, 11,05 mmol) e acqua (20 mL) sono stati aggiunti seguiti da $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,638 g, 0,55 mmol) e la miscela di reazione riscaldata a 85°C per 2 ore. La miscela di reazione è stata poi passata attraverso celite e lavata con MeOH e le sostanze volatili sono state rimosse a pressione ridotta. Sono stati aggiunti acqua e DCM e lo strato organico è stato estratto ed essiccato facendo passare attraverso una cartuccia separatrice di fase. Le sostanze volatili sono state poi rimosse a pressione ridotta a dare un solido marrone impuro etil 4-(2-

cloropirimidin-4-il)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (4,24 g, 11,07 mmol). Acido 2,2,2-trifluoroacetico (8,48 mL, 110,73 mmol) è stato aggiunto a etil 4-(2-cloropirimidin-4-il)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (4,24 g, 11,07 mmol) in DCM (100 mL) e la soluzione risultante è stata agitata a temperatura ambiente per 2 ore e poi lasciata riposare a temperatura ambiente per 16 ore. Le sostanze volatili sono state rimosse a pressione ridotta, il solido risultante è stato disciolto in DCM e acqua e filtrato attraverso uno strato di celite. Lo strato acquoso è stato separato e basificato con bicarbonato di sodio saturo ed estratto in DCM, poi essiccato facendo passare attraverso una cartuccia separatrice di fase e il solvente è stato rimosso a dare un solido. Lo strato organico è stato passato attraverso una cartuccia separatrice di fase, combinato con il solido, preassorbito su silice e sottoposto a cromatografia su silice eluendo dietiletere allo 0-100% in DCM. Le frazioni pure sono state combinate e fatte evaporare a dare etil 4-(2-cloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 14; 1,58 g, 57%) come un solido. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30°C) 1,35 (3H, t), 4,38 (2H, q), 7,93 (1H, d), 8,19 (1H, s), 8,73 (1H, d), 13,95 (1H, s). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 253.

Intermedio 15

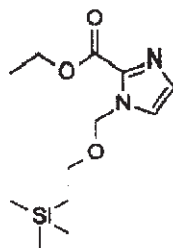
Etil 4-bromo-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato



NBS (26,3 g, 147,93 mmol) è stato aggiunto a etil 1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 16; 40 g, 147,93 mmol) in DMF (150 mL) sotto azoto e la miscela risultante è stata agitata a 25°C per 20 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (200 mL), estratta con EtOAc (2 x 300 mL), gli strati organici sono stati lavati con salamoia ed essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 10% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare etil 4-bromo-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 15; 21 g, 41%) come un olio incolore che si è solidificato stando a riposo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25 °C) δ 0,02 (9H, s), 0,92 - 1,01 (2H, m), 1,45 (3H, t), 3,56 - 3,65 (2H, m), 4,45 (2H, q), 5,79 (2H, s), 7,28 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 349/351.

Intermedio 16

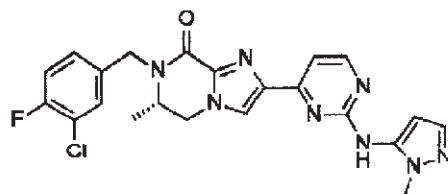
Etil 1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato



SEM-Cl (18,98 mL, 107,04 mmol) è stato aggiunto a etil 1*H*-imidazol-2-carbossilato (10 g, 71,36 mmol) e NaH (4,28 g, 107 mmol) in DMF (50 mL) a 0°C sotto azoto. La miscela risultante è stata poi agitata a 25°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (50 mL), estratta con EtOAc (2 x 100 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc dal 30 al 70% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare etil 1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 16; 20 g, 100%) come un olio giallo. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) δ 0,00 (9H, s), 0,03 - 0,08 (2H, m), 1,37 (3H, t), 3,53 - 3,62 (2H, m), 4,37 (2H, q), 5,76 (2H, s), 7,18 (1H, d), 7,68 (1H, d). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 271.

Esempio 3

(S)-7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



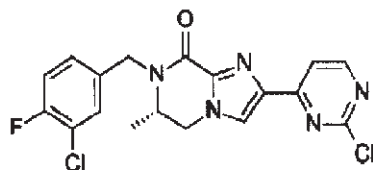
(S)-7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 17; 226 mg, 0,56 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (59,4 mg, 0,61 mmol), carbonato di cesio (363 mg, 1,11 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (25,2 mg, 0,03 mmol) sono stati sospesi in *terz*-butanolo (8 mL) e degassati con azoto per 10 minuti. La reazione è stata riscaldata fino a 80°C per 2 giorni sotto azoto. La reazione è stata poi raffreddata fino a temperatura ambiente, diluita con etil acetato (100 mL) e la fase organica è stata lavata con bicarbonato di sodio acquoso saturo (25 mL), essiccata su Na₂SO₄ e concentrata sotto vuoto a dare una gomma marrone. Questa gomma è stata ripresa in DMSO (5 mL) e filtrata. La soluzione DMSO del prodotto grezzo è stato poi purificato mediante HPLC preparativa (colonna Waters XBridge Prep C18 OBD, silice 5 μ, diametro 19 mm, lunghezza 100 mm), utilizzando come eluenti miscele polari in modo decrescente di acqua (contenenti NH₃ all'1%) e MeCN. Frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un materiale grezzo. Questo è stato disciolto in un minimo di DCM, e assorbito su gel di silice mediante concentrazione a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato poi ulteriormente purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 15% in EtOAc. Le frazioni pure

B

sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 3; 40 mg, 15%) come un solido bianco sporco. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) δ 1,13 (3H, d), 3,71 (3H, s), 3,96 - 4,03 (1H, m), 4,26 - 4,39 (2H, m), 4,41 (1H, dd), 5,04 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,35 (2H, dd), 7,39 - 7,44 (2H, m), 7,55 - 7,69 (1H, m), 7,92 (1H, s), 8,48 (1H, d), 9,33 (1H, s). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 467.

Intermedio 17

(S)-7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



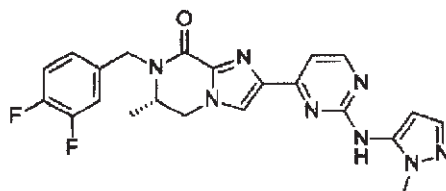
Ildruo di sodio (dispersione al 60%, 25 mg, 0,63 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 9; 150 mg, 0,57 mmol) in DMF (12 mL) sotto azoto. La sospensione risultante è stata agitata a 20 °C per 30 minuti. 2-cloro-4-(clorometil)-1-fluorobenzene (112 mg, 0,63 mmol) è stato aggiunto seguito da ioduro di tetrabuttilammonio (42,0 mg, 0,11 mmol) e la soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 18 ore. La miscela di reazione è stata versata in NH₄Cl acquoso saturo (25 mL) ed estratta con etil acetato (75 mL). Le fasi organiche sono state essiccate su Na₂SO₄ e concentrate sotto vuoto a dare (S)-7-(3-cloro-4-

B

fluorobenzil)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 17; 230 mg, 100%) come un solido marrone chiaro. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 33°C) δ 1,13 (3H, d), 4,01 (1H, ddd), 4,26 (1H, dd), 4,36 (1H, d), 4,46 (1H, dd), 5,05 (1H, d), 7,39 - 7,41 (1H, m), 7,42 (1H, s), 7,59 - 7,66 (1H, m), 7,93 (1H, d), 8,27 (1H, s), 8,74 (1H, dd). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 406.

Esempio 4

(S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

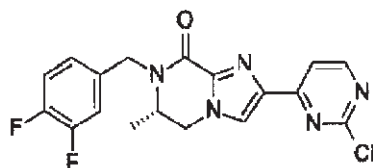


(S)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 18; 218 mg, 0,56 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (59,7 mg, 0,62 mmol), carbonato di cesio (364 mg, 1,12 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (25,3 mg, 0,03 mmol) sono stati sospesi in *terz*-butanolo (8 mL) e degassati con azoto per 10 minuti. La reazione è stata riscaldata fino a 80°C per 18 ore sotto azoto. La reazione è stata raffreddata fino a temperatura ambiente, diluita con etil acetato (100 mL) e lavata con NaHCO₃ acquoso saturo (25 mL), essiccata su Na₂SO₄ e concentrata sotto vuoto a dare un solido marrone. Il materiale grezzo è stato disciolto in DCM, concentrato sotto vuoto e adsorbito su silice. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice,

gradiente di eluizione MeOH da 0 al 15% in EtOAc. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 4; 88 mg, 34,9%) come un solido bianco sporco. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) δ 1,13 (3H, d), 3,71 (3H, s), 3,96 - 4,03 (1H, m), 4,27 - 4,38 (2H, m), 4,43 (1H, dd), 5,05 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,22 - 7,28 (1H, m), 7,35 (2H, dd), 7,37 - 7,5 (2H, m), 7,92 (1H, s), 8,47 (1H, d), 9,33 (1H, s). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 451.

Intermedio 18

(S)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

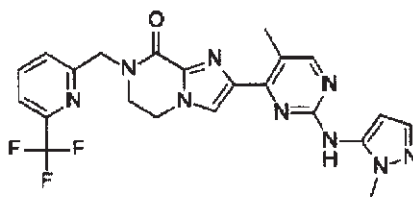


Ildruo di sodio (dispersione al 60%) (25,03 mg, 0,63 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 9; 150 mg, 0,57 mmol) in DMF (12 mL) sotto azoto. La sospensione risultante è stata agitata a 20 °C per 30 minuti. 4-(bromometil)-1,2-difluorobenzene (130 mg, 0,63 mmol) è stato aggiunto seguito da ioduro di tetrabuttilammonio (42,0 mg, 0,11 mmol) e la soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 18 ore. La miscela di reazione è stata versata in NH₄Cl acquoso saturo (25 mL) ed estratta con etil acetato (75 mL). Le fasi organiche sono state

essiccate su Na_2SO_4 e concentrate sotto vuoto a dare (S)-2-(2-cloropirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 18; 222 mg, 100%) come una gomma marrone. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30°C) δ 1,14 (3H, d), 3,94 - 4,07 (1H, m), 4,27 (1H, dd), 4,36 (1H, d), 4,47 (1H, dd), 5,06 (1H, d), 7,26 (1H, s), 7,37 - 7,51 (2H, m), 7,93 (1H, d), 8,26 (1H, s), 8,74 (1H, d). m/z : ES^+ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 390.

Esempio 5

2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

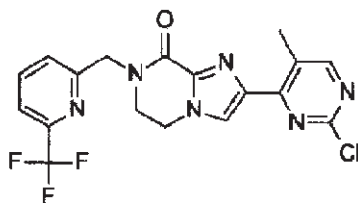


Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (10,72 mg, 0,01 mmol) è stato aggiunto a 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 19; 50 mg, 0,12 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (22,97 mg, 0,24 mmol) e Cs_2CO_3 (96 mg, 0,30 mmol) in 1,4-diossano (3 mL) a 25°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 120°C per 8 ore. Il solvente è stato rimosso mediante distillazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 3 al 4% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare il prodotto grezzo. Il

prodotto grezzo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₄HCO₃ allo 0,05%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 5; 23,5 mg, 41%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20,1 °C) δ 2,51 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,90 - 3,98 (2H, m), 4,43 - 4,51 (2H, m), 4,91 (2H, s), 6,31 (1H, d), 7,34 (1H, d), 7,76 (1H, d), 7,84 (1H, d), 7,95 (1H, s), 8,10 (1H, t), 8,33 (1H, s), 9,24 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 484.

Intermedio 19

2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

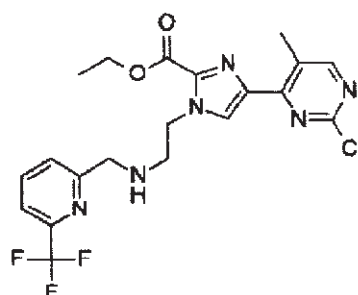


NH₃ (7N in MeOH, 3 mL) è stato aggiunto a etile 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)etil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 20; 60 mg, 0,13 mmol) a 25°C sotto aria e la soluzione risultante è stata agitata a 50°C per 12 ore. Il solvente è stato rimosso mediante distillazione sotto vuoto a dare 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 19; 50 mg, 92%)
come un solido bianco. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 423$.

Intermedio 20

Etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)etil)-1H-imidazol-2-carbossilato

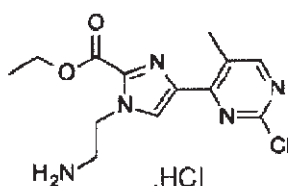


6-(trifluorometil)picolinaldeide (114 mg, 0,65 mmol) è stato aggiunto a etil 1-(2-amminoetil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dihydrochloride (Intermedio 21; 250 mg, 0,65 mmol) in DCM (10 mL) a 25°C sotto aria. La soluzione risultante è stata agitata a 40°C per 3 ore. È stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (415 mg, 1,96 mmol) a una miscela di reazione a 25°C e la soluzione risultante è stata agitata a 25°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (10 mL) ed estratta con DCM (3 x 15 mL). Gli strati organici sono stati combinati e lavati con salamoia (15 mL), essiccati su Na₂SO₄, filtrati e le sostanze volatili rimosse a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 2 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a

dare etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)etil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 20; 60 mg, 19,6%) come un solido bianco. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 469.

Intermedio 21

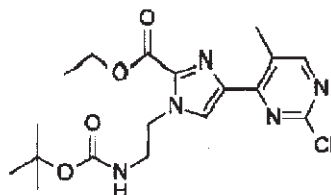
1-(2-amminoetil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato. HCl



HCl (4 N in 1,4-diossano, 50 mL) è stato aggiunto a etil 1-(2-(((*terz*-butossicarbonil)ammino)etil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 22; 3,2 g, 7,81 mmol) a 25°C sotto aria e la soluzione risultante è stata agitata a 25°C per 12 ore. Il solvente è stato rimosso mediante distillazione sotto vuoto e il residuo grezzo è stato titolato con EtOAc a dare un solido che è stato raccolto mediante filtrazione ed essiccato sotto vuoto a dare etil 1-(2-amminoetil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato. HCl (Intermedio 21; 2,90 g, 97%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20,1°C) δ 1,35 (3H, t), 2,60 - 2,65 (3H, m), 4,38 (2H, q), 4,75 (2H, t), 8,37 (3H, s), 8,46 (1H, s), 8,63 (1H, d), 10,17 (2H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 310.

Intermedio 22

Etil 1-(2-(((*terz*-butossicarbonil)ammino)etil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato

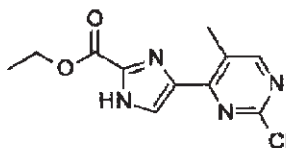


Terz-butil 1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido (2,76 g, 12,37 mmol) è stato aggiunto in porzioni a etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 23; 3,0 g, 11,25 mmol), K₂CO₃ (4,66 g, 33,75 mmol) e 18-corona-6 etere (0,595 g, 2,25 mmol) in 1,4-diossano (60 mL) a 100°C sotto aria. La soluzione risultante è stata agitata a 100 °C per 2 ore. La miscela è stata raffreddata, filtrata e il solido risultante è stato lavato con etil acetato. Il filtrato è stato poi concentrato a pressione ridotta.

Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc dal 25 al 30% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)etil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 22; 3,20 g, 69,4%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20,2 °C) δ 1,25 (9H, s), 1,35 (3H, t), 2,62 (3H, s), 3,35 (2H, dd), 4,37 (2H, q), 4,49 (2H, t), 6,93 (1H, t), 8,18 (1H, s), 8,61 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 410.

Intermedio 23

Etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato



Acido trifluoroacetico (20 mL, 259,60 mmol) è stato aggiunto a etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 24; 5,6 g, 14,11 mmol) in DCM (20 mL) a 25°C e la miscela risultante è stata agitata a 25°C per 12 ore. Le sostanze volatili sono state poi rimosse a pressione ridotta e la miscela di reazione è stata basificata con NaHCO₃ saturo. Il precipitato risultante formato è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con acqua (100 mL) ed essiccato sotto vuoto a dare etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 23; 3,50 g, 93%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 23 °C) δ 1,35 (3H, t), 2,62 (3H, s), 4,37 (2H, q), 8,13 (1H, s), 8,62 (1H, s), NH non osservato. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 267.

Metodo alternativo per la preparazione dell'Intermedio 23:

etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 24; 176 g, 443,38 mmol) è stato aggiunto a TFA (500 mL, 6489,91 mmol) in DCM (500 mL). La miscela di reazione risultante è stata agitata a temperatura ambiente per 16 ore. Le sostanze volatili sono state poi rimosse a pressione ridotta. È stato aggiunto Na₂CO₃ acquoso saturo e il precipitato risultante è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con acqua (1 L) ed essiccato sotto vuoto. Il solido grezzo è stato titolato con MeCN a dare un solido che è stato raccolto mediante filtrazione ed essiccato sotto vuoto a dare etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 23; 106 g, 90%) come un solido

bianco. ^1H NMR (300 MHz, DMSO, 19,7 °C) δ 1,34 (3H, t), 2,61 (3H, s), 4,33-4,41 (2H, m), 8,13 (1H, s), 8,61 (1H, s), 13,99 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 267$.

Metodo alternativo per la sintesi one-pot dell'Intermedio 23:

Fase 1:

a una soluzione agitata di 3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina (3,72 g, 15,41 mmol) e di-*mu*-metossobis(1,5-cicloottadiene)diiridio (I) (5,21 g, 7,71 mmol) in MeTHF anidro (900 mL) sono stati aggiunti successivamente bis(pinacolato)diboro (108 g, 423,86 mmol) e una soluzione di etil 1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (114,5 g, 385,33 mmol) in MeTHF (100 mL) in atmosfera di azoto. La miscela risultante è stata degassata 3 volte sotto azoto, riscaldata fino a 70°C e agitata per 3 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (25 mL), la fase organica separata e concentrata fino a 500 mL. Questa soluzione è stata usata direttamente nella Fase 2 senza purificazione.

Fase 2:

la soluzione di MeTHF (500 mL) prodotta nella Fase 1 è stata aggiunta lentamente a una miscela agitata di K_2CO_3 acquoso (161 g, 1156 mmol) in acqua (500 mL), 2,4-dicloro-5-metilpirimidina (77 g, 462,4 mmol) e addotto di 1,1'-bis(difenilfosfino) ferrocene dicloropalladio (II) diclorometano (9,44 g, 15,56 mmol) in MeTHF (500 mL) a 40°C in 3 ore. Terminata l'aggiunta, gli strati sono stati separati e lo strato organico è stato lavato con acqua (500 mL) e concentrato fino

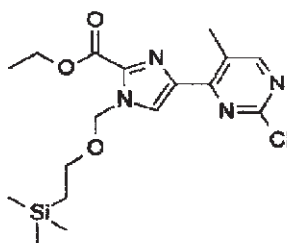
a 500 mL. Questo è stato usato direttamente nella Fase 3 senza purificazione.

Fase 3:

HCl in *iso*-propilalcol (5-6 N, 116 mL, 578 mmol) è stato aggiunto alla soluzione prodotta nella Fase 2 a temperatura ambiente e agitato per 30 minuti. La miscela di reazione è stata poi diluita con acqua (500 mL). Lo strato acquoso è stato estratto con MeTHF (500 mL) e gli strati organici combinati sono stati lavati con bicarbonato di sodio acquoso (soluzione al 4% p/p, 500 mL) e acqua (200 mL). La fase organica è stata concentrata fino a metà e agitata con eptano (1000 mL). Il precipitato risultante è stato filtrato, lavato con una miscela di MeTHF/eptano (1:4, 500 mL) ed essiccato sotto vuoto a dare etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato come un solido (Intermedio 23, 60,5 g, 59%, resa complessiva in 3 Fasi). ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 23 °C) δ 1,35 (3H, t), 2,62 (3H, s), 4,37 (2H, q), 8,13 (1H, s), 8,62 (1H, s), NH non osservato. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 267.

Intermedio 24

Etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato



Pd(Ph₃P)₄ (1,158 g, 1,00 mmol) è stato aggiunto ad acido (2-

(etossicarbonil)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-4-il)boronico (Intermedio 25; 6,3 g, 20,05 mmol), 2,4-dicloro-5-metilpirimidina (3,27 g, 20,05 mmol) e Cs₂CO₃ (13,07 g, 40,10 mmol) in 1,4-diossano (120 mL) e acqua (20 mL) a 25°C sotto azoto e la miscela risultante è stata agitata a 85°C per 2 ore. La miscela di reazione è stata versata in acqua (200 mL), estratta con DCM (2 x 250 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 10% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 24; 5,60 g, 70,4%) come un solido giallo pallido. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 23°C) δ 0,02 (9H, s), 0,93 - 1,03 (2H, m), 1,48 (3H, t), 2,71 - 2,76 (3H, m), 3,59 - 3,69 (2H, m), 4,48 (2H, q), 5,85 (2H, s), 8,16 (1H, s), 8,42 - 8,47 (1H, m). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 397.

Metodo alternativo per la preparazione dell'Intermedio 24:

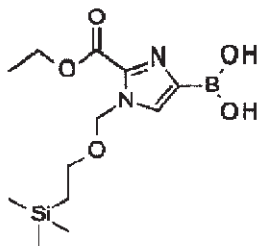
Lotto 1: Pd(Ph₃P)₄ (1,655 g, 1,43 mmol) è stato aggiunto ad acido (2-(etossicarbonil)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-4-il)boronico (Intermedio 25; 9 g, 28,64 mmol), 2,4-dicloro-5-metilpirimidina (4,67 g, 28,64 mmol) e Cs₂CO₃ (28,0 g, 85,93 mmol) in 1,4-diossano (80 mL) e acqua (20 mL) sotto azoto. La miscela di reazione è stata quindi agitata a 85°C per 2 ore e poi raffreddata fino a temperatura ambiente.

Lotto 2: Pd(Ph₃P)₄ (24,82 g, 21,48 mmol) è stato aggiunto a

2,4-dicloro-5-metilpirimidina (70,0 g, 429,64 mmol), acido (2-(etossicarbonil)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-4-il)boronico (Intermedio 25; 135 g, 429,64 mmol) e Cs₂CO₃ (420 g, 1288,91 mmol) in 1,4-diossano (2000 mL) e acqua (400 mL) sotto azoto. La miscela di reazione è stata quindi agitata a 85°C per 2 ore e poi raffreddata fino a temperatura ambiente. I lotti 1 e 2 precedenti sono stati combinati e fatti evaporare fino a essiccazione. Il residuo è stato disciolto in EtOAc (2 L) e lavato in sequenza con NaHCO₃ acquoso saturo (450 mL), acqua (300 mL) e salamoia (350 mL). La fase organica è stata essiccata su Na₂SO₄, filtrata e le sostanze volatili sono state rimosse a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su colonna, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 5% in etere di petrolio. Le frazioni contenenti il prodotto puro sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 24; 123 g, 67,4%) come un solido. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 23 °C) δ 0,02 (9H, s), 0,93 - 1,03 (2H, m), 1,48 (3H, t), 2,71 - 2,76 (3H, m), 3,59 - 3,69 (2H, m), 4,48 (2H, q), 5,85 (2H, s), 8,16 (1H, s), 8,42 - 8,47 (1H, m). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 397.

Intermedio 25

Etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato



Un precatalizzatore di 2a generazione XPhos (0,788 g, 1,00 mmol) è stato aggiunto a etil 4-bromo-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 25a, anche disponibile in commercio; 7 g, 20,04 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-ottametil-2,2'-bi(1,3,2-diossaborolano) (7,63 g, 30,06 mmol) e KOAc (3,93 g, 40,08 mmol) in 1,4-diossano (100 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata poi agitata a 85 °C per 3 ore. La miscela di reazione è stata filtrata e il filtrato è stato usato nella fase successiva direttamente senza ulteriore purificazione. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 315.

Metodo alternativo per preparare l'Intermedio 25:

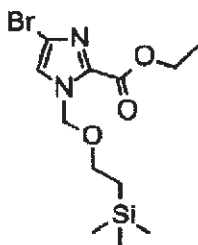
2-dicicloesilfosfino-2',4',6'-tri-iso-propil-1,1'-bifenile (12,28 g, 25,77 mmol) è stato aggiunto ad addotto di tris(dibenzilidenacetone)dipalladio(0)-cloroformio (11,11 g, 10,74 mmol) in 1,4-diossano (2000 mL) a temperatura ambiente sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata poi agitata a temperatura ambiente per 45 ore. Etil 4-bromo-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (150 g, 429,43 mmol), bis(pinacolato)diboro (131 g, 515,32 mmol) e acetato di potassio (126 g, 1288,29 mmol) sono stati aggiunti a temperatura ambiente sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 80 °C per 8 ore. La miscela di reazione è stata poi filtrata attraverso

B

celite. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta a dare acido (2-(etossicarbonil)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-4-il)boronico (Intermedio 25; 135 g, 100%) come un olio giallo. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 315$.

Intermedio 25a

Etil 4-bromo-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato

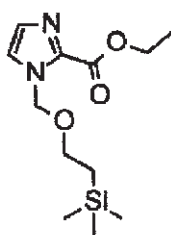


NBS (158 g, 887,56 mmol) è stato aggiunto in porzioni a etil 1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 25b; 160 g, 591,71 mmol) in DMF (1200 mL) e DCM (1300 mL) a 0°C. La reazione risultante è stata agitata a 25°C per 48 ore. In seguito le sostanze volatili sono state rimosse a pressione ridotta ed è stato aggiunto EtOAc (7 L). La fase organica è stata poi lavata in sequenza con NaHCO₃ saturo (1 L), acqua (1 L), e salamoia satura (750 mL). Lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare il prodotto grezzo che è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 4% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare etil 4-bromo-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 25a; 106 g, 51,3%) come un olio giallo pallido

che si è solidificato stando a riposo. ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ - 0,07 (9H, s), 0,77-0,85 (2H, m), 1,29 (3H, t), 3,53 (2H, t), 4,30 (2H, q), 5,66 (2H, s), 7,83 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 349/351$.

Intermedio 25b

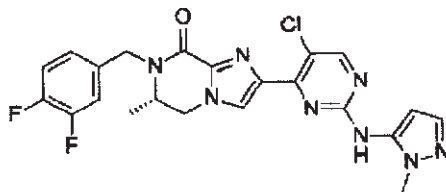
Etil 1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1H-imidazol-2-carbossilato



SEM-Cl (286 g, 1712,55 mmol) è stato aggiunto goccia a goccia a etil 1H-imidazol-2-carbossilato (200 g, 1427,12 mmol) e K_2CO_3 (592 g, 4281,37 mmol) in acetone (3 L) a 0°C . La miscela risultante è stata agitata a temperatura ambiente per 16 ore. Il precipitato risultante è stato rimosso mediante filtrazione e lavato con EtOAc (1 L). Gli strati organici combinati sono stati poi essiccati su Na_2SO_4 e le sostanze volatili sono state rimosse a pressione ridotta. Il materiale grezzo risultato è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 30% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare etil 1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 25b; 328 g, 85%) come un olio giallo pallido. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ - 0,01 (9H, s), 0,90-0,97 (2H, m), 1,45 (3H, t), 3,50-3,63 (2H, m), 4,43 (2H, q), 5,81 (2H, s), 7,22 (1H, s), 7,28 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 271$.

Esempio 6

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



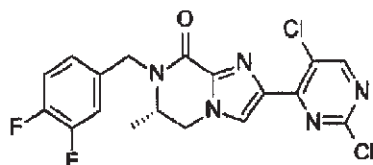
Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (20,95 mg, 0,02 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 26; 100 mg, 0,24 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (Intermedio 26; 57,2 mg, 0,59 mmol) e Cs₂CO₃ (154 mg, 0,47 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) a 25°C sotto azoto e la miscela risultante è stata agitata a 100°C per 8 ore. Le sostanze volatili sono state rimosse a pressione ridotta e il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Il prodotto è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-

B

6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 6; 16,00 mg, 14%)
come un solido bianco. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 22 °C) δ 1,15 (3H, d), 3,71 (3H, s), 4,00 (1H, s), 4,34 (2H, d), 4,47 (1H, dd), 5,07 (1H, d), 6,32 (1H, s), 7,27 (1H, s), 7,35 (1H, d), 7,38 - 7,51 (2H, m), 8,19 (1H, s), 8,54 (1H, s), 9,73 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 485$.

Intermedio 26

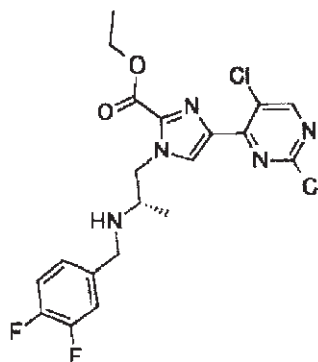
(S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



Una soluzione di (S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-((3,4-difluorobenzil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 27; 200 mg, 0,43 mmol) in NH_3 (7 N in MeOH, 5 mL, 35,00 mmol) è stata agitata a 50°C per 2 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 26; 100 mg, 55,4%) come un solido giallo. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 424$.

Intermedio 27

(S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-((3,4-difluorobenzil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato

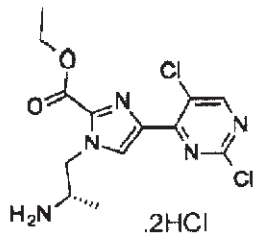


3,4-difluorobenzaldeide (74,9 mg, 0,53 mmol) è stato aggiunto a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 28; 200 mg, 0,48 mmol) in DCM (10 mL) a 25°C sotto azoto. Dopo agitazione a 40°C per 3 ore, è stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (305 mg, 1,44 mmol) e la miscela risultante è stata agitata a 25°C per 3 ore. La miscela di reazione è stata poi sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (20 mL), estratta con DCM (2 x 50 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare il prodotto grezzo (S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-((3,4-difluorobenzil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 27; 200 mg, 89%) come un solido giallo. Il prodotto è stato utilizzato nel passaggio successivo direttamente senza ulteriore purificazione. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 470.

Intermedio 28

(S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato

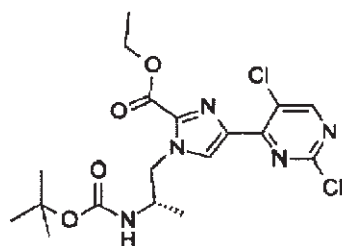
B



Una soluzione di (S)-etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)propil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 29; 2,8 g, 6,30 mmol) in HCl (4 N in 1,4-diossano, 20 mL) è stata agitata a 25°C per tutta la notte. Il precipitato è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con EtOAc (20 mL) ed essiccato sotto vuoto a dare (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 28; 2,50 g, 95%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 24 °C) δ 1,26 (3H, d), 1,37 (3H, t), 3,75 (1H, s), 4,40 (2H, d), 4,63 (2H, d), 8,05 (3H, s), 8,61 (1H, s), 8,94 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 344.

Intermedio 29

(S)-etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)propil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato



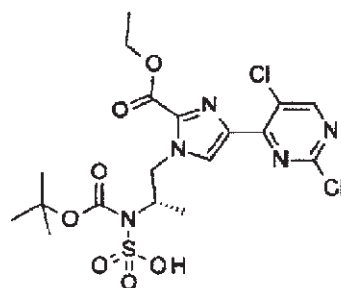
1 M di HCl (20 mL, 20,00 mmol) è stato aggiunto ad acido (S)-((*terz*-butossicarbonil)(1-(4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-2-(etossicarbonil)-1*H*-imidazol-1-il)propan-2-il)solfammico (Intermedio 30; 6 g, 11,44 mmol) in EtOH (20 mL) a 25°C sotto aria. La miscela risultante è stata

B

agitata a 50°C per 20 minuti. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (50 mL), estratta con DCM (3 x 100 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 30% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)propil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 29; 2,80 g, 55,1%) come un solido bianco. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 27 °C) δ 1,24 (3H, d), 1,35 (9H, s), 1,46 (2H, t), 4,03 - 4,17 (1H, m), 4,46 (2H, q), 4,58 - 4,69 (2H, m), 5,30 (1H, s), 8,08 (1H, s), 8,58 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 444.

Intermedio 30

Acido (S)-(terz-butossicarbonil)(1-(4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-2-(etossicarbonil)-1*H*-imidazol-1-il)propan-2-il)solfammico

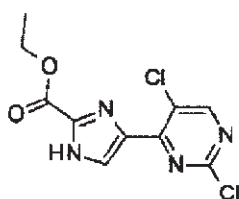


(S)-*terz*-butil 4-metil-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido (Intermedio 12; 4,59 g, 19,33 mmol) è stato aggiunto in porzioni a etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 31; 3,7 g, 12,89 mmol) e K₂CO₃ (5,34 g, 38,66 mmol) in

acetonitrile (30 mL) a 80°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 85 °C per 12 ore. La miscela di reazione è stata poi filtrata e lavata con MeCN. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta a dare il prodotto desiderato acido (S)-(*terz*-butossicarbonil)(1-(4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-2-(etossicarbonil)-1*H*-imidazol-1-il)propan-2-il)solfammico (Intermedio 30; 6,00 g, 89%) come un olio giallo. Il prodotto è stato utilizzato nel passaggio successivo direttamente senza ulteriore purificazione. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 524$.

Intermedio 31

Etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato



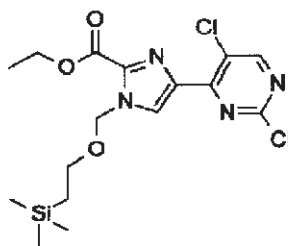
Acido trifluoroacetico (20 mL, 259,60 mmol) è stato aggiunto a etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 32; 5,6 g, 13,42 mmol) in DCM (20 mL) a 25°C. La miscela risultante è stata agitata a 25°C per 12 ore. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e la miscela di reazione è stata basificata con NaHCO₃ saturo in eccesso. Il precipitato risultante formato è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con acqua (100 mL) ed essiccato sotto vuoto a dare etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 31; 3,70 g, 96%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 25 °C) δ 1,36 (3H, t), 4,39 (2H, q), 7,59 (1H, s), 8,32 (1H, s), 8,90 (1H, s). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 287$.

Intermedio 32

Etil

4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-((2-

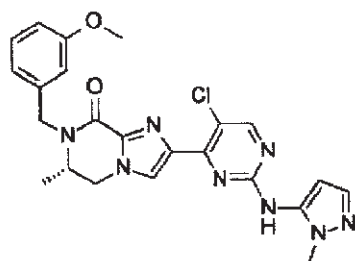
(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato



$\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (1,14 g, 0,99 mmol) è stato aggiunto ad acido (2-(etossicarbonil)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-4-il)boronico (Intermedio 25; 6,2 g, 19,73 mmol), 2,4,5-tricloropirimidina (3,62 g, 19,73 mmol) e Cs_2CO_3 (9,64 g, 29,60 mmol) in 1,4-diossano (160 mL) e acqua (40 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 85 °C per 2 ore. La miscela di reazione è stata versata in acqua (150 mL), estratta con DCM (2 x 250 mL), gli strati organici sono stati essiccati su Na_2SO_4 , filtrati e fatti evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 10% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-((2-(trimetilsilil)etossi)metil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 32; 5,60 g, 68%) come un solido bianco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25 °C) δ 0,01 (9H, s), 0,93 - 1,02 (2H, m), 1,48 (3H, t), 3,60 - 3,69 (2H, m), 4,48 (2H, q), 5,89 (2H, s), 8,29 (1H, s), 8,63 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 417$.

Esempio 7

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one



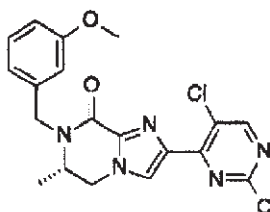
Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (31,9 mg, 0,04 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 33; 150 mg, 0,36 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (87 mg, 0,90 mmol) e Cs₂CO₃ (234 mg, 0,72 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta e il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Il residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-6,7-

B

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 7; 31,0 mg, 18,05%)
come un solido bianco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO, 20 °C) δ 1,13 (3H,
d), 3,71 (3H, s), 3,76 (3H, s), 3,96 (1H, d), 4,26 - 4,36 (2H, m), 4,41 (1H,
dd), 5,09 (1H, d), 6,32 (1H, s), 6,84 - 6,91 (1H, m), 6,96 (2H, d), 7,24 -
7,38 (2H, m), 8,20 (1H, s), 8,54 (1H, s), 9,74 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+$
= 479.

Intermedio 33

(*S*)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-metil- 6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one



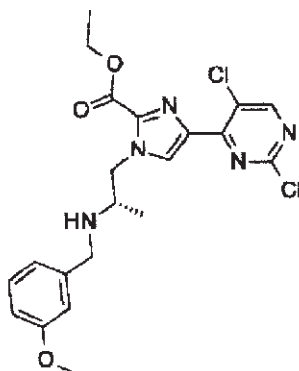
TEA (0,162 mL, 1,16 mmol) è stato aggiunto a (*S*)-etil 4-(2,5-
dicloropirimidin-4-il)-1-(2-((3-metossibenzil)ammino)propil)-1*H*-imidazol-
2-carbossilato (Intermedio 34; 180 mg, 0,39 mmol) in toluene (8 mL) a
25°C sotto aria. La miscela risultante è stata agitata a 140 °C per 8 ore.
Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta e il prodotto grezzo è
stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di
eluizione MeOH da 0 al 3% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte
evaporare fino a essiccazione a dare (*S*)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-7-
(3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one
(Intermedio 33; 150 mg, 93%) come un solido giallo. m/z (ES+),
 $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 418$. (*S*)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-
metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 33) è stato

B

usato nella fase successiva senza ulteriore purificazione.

Intermedio 34

(S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-((3-metossibenzil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato

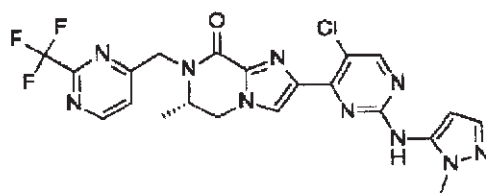


3-metossibenzaldeide (71,8 mg, 0,53 mmol) è stato aggiunto a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 28; 200 mg, 0,48 mmol) in DCM (10 mL) a 25°C sotto azoto. Dopo agitazione a 40°C per 3 ore, è stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (305 mg, 1,44 mmol) e la miscela risultante è stata agitata a 25°C per 3 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (20 mL), estratta con DCM (2 x 50 mL), gli strati organici sono stati essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-((3-metossibenzil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 34; 180 mg, 81%) come un solido giallo. *m/z*

(ES+), [M+H]⁺ = 464.

Esempio 8

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



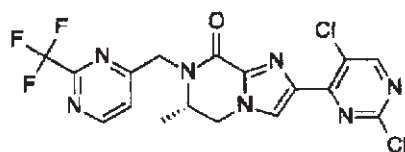
Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (12,41 mg, 0,01 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 35; 64 mg, 0,14 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (33,9 mg, 0,35 mmol) e Cs₂CO₃ (91 mg, 0,28 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) a 25°C sotto azoto e la miscela risultante è stata agitata a 100°C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1H-

B

pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 8; 15,2 mg, 21%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20,1 °C) δ 1,25 (3H, d), 3,71 (3H, s), 4,18 (1H, ddd), 4,42 (1H, dd), 4,60 - 4,69 (2H, m), 5,23 (1H, d), 6,32 (1H, d), 7,35 (1H, d), 7,94 (1H, d), 8,25 (1H, s), 8,55 (1H, s), 9,03 (1H, d), 9,74 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 519.

Intermedio 35

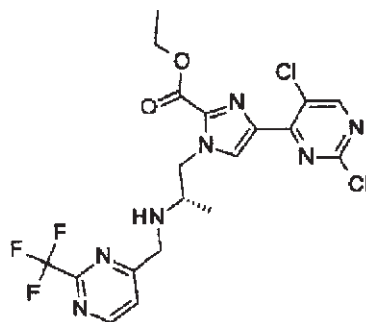
(S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one



TEA (0,129 mL, 0,93 mmol) è stato aggiunto a (S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-(((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)ammino)propil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 36; 156 mg, 0,31 mmol) in toluene (3 mL) a 25°C sotto aria. La miscela risultante è stata agitata a 140°C per 4 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 3 al 4% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 35; 64,0 mg, 45,2%) come un solido giallo. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 458.

Intermedio 36

(S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-(((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato

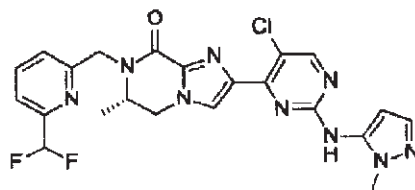


2-(trifluorometil)pirimidin-4-carbaldeide (127 mg, 0,72 mmol) è stata aggiunta a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 28; 300 mg, 0,72 mmol) in DCM (10 mL) a 25°C sotto aria. La soluzione risultante è stata agitata a 40°C per 3 ore. È stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (457 mg, 2,16 mmol) alla miscela di reazione a 25°C. La soluzione risultante è stata agitata a 25°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (10 mL) ed estratta con DCM (3 x 15 mL). Gli strati organici sono stati combinati e lavati con salamoia (15 mL), essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un olio giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 2 al 3% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-(((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 36; 156

mg, 43%) come un olio giallo. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 20,2 °C) δ 1,26 - 1,38 (3H, m), 1,44 (3H, t), 2,85 (1H, s), 4,01 (2H, q), 4,33 - 4,51 (2H, m), 4,55 - 4,70 (1H, m), 4,92 (2H, s), 7,65 (1H, d), 8,65 (1H, d), 8,74 - 8,85 (1H, m), 8,91 (1H, d). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 504$.

Esempio 9

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

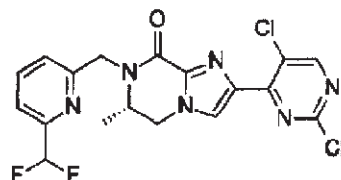


Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (24,28 mg, 0,03 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 37; 120 mg, 0,27 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (66,3 mg, 0,68 mmol) e Cs_2CO_3 (178 mg, 0,55 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta e il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 μm , 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo

decescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 9; 27 mg, 19,8%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 23 °C) δ 1,21 (3H, d), 3,71 (3H, s), 4,12 (1H, s), 4,38 (1H, d), 4,48 - 4,63 (2H, m), 5,22 (1H, d), 6,32 (1H, s), 6,97 (1H, t), 7,35 (1H, d), 7,59 - 7,67 (2H, m), 8,00 (1H, t), 8,23 (1H, s), 8,54 (1H, s), 9,72 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 500.

Intermedio 37

(S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

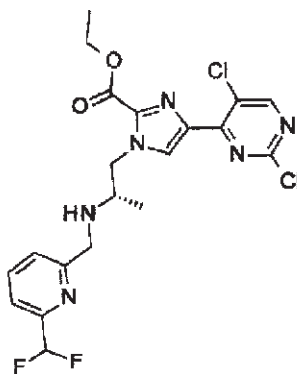


Una soluzione di (S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 38; 200 mg, 0,41 mmol) in NH₃ (7N in MeOH, 5 mL, 35,00 mmol) è stata agitata a 50°C per 2 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta e il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-7-((6-

(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 37; 120 mg, 66,3%) come un solido giallo. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 439.

Intermedio 38

(S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato

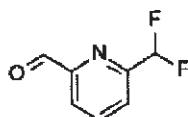


6-(difluorometil)picolinaldeide (Intermedio 39; 226 mg, 1,44 mmol) è stata aggiunta a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 28; 200 mg, 0,48 mmol) in DCM (15 mL) a 25°C sotto azoto. Dopo agitazione a 40°C per 3 ore, è stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (305 mg, 1,44 mmol) e la miscela risultante è stata agitata a 25°C per 3 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (20 mL) ed estratta con DCM (2 x 50 mL). Gli strati organici combinati sono stati essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare il prodotto desiderato (S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-

carbossilato (Intermedio 38; 200 mg, 86%) come un solido giallo. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 485$.

Intermedio 39

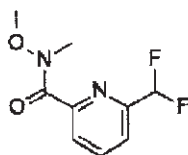
6-(difluorometil)picolinaldeide



LiAlH_4 (1,141 g, 30,07 mmol) è stato aggiunto a 6-(difluorometil)-*N*-metossi-*N*-metilpicolinammide (Intermedio 40; 5 g, 23,13 mmol) in THF (80 mL) raffreddato fino a -78°C sotto azoto e la soluzione risultante è stata agitata a -78°C per 1 ora. La reazione è stata diluita con EtOAc (6 mL), poi sottoposta a quenching con acqua (1 mL) a -78°C . Sono stati aggiunti NaOH (acquoso al 15%, 3,0 mL) e acqua (1,0 mL) e i solidi risultanti sono stati rimossi per filtrazione. Il filtrato è stato essiccato su Na_2SO_4 , filtrato e fatto evaporare a dare 6-(difluorometil)picolinaldeide (Intermedio 39; 3,60 g, 99%) come un olio giallo. Il prodotto è stato usato nella fase successiva senza ulteriore purificazione. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 158$.

Intermedio 40

6-(difluorometil)-*N*-metossi-*N*-metilpicolinammide



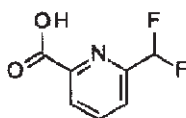
Ossalil dicloruro (7,92 g, 62,39 mmol) è stato aggiunto goccia a goccia ad acido 6-(difluorometil)picolinico (Intermedio 41; 5,4 g, 31,19 mmol) e DMF (0,242 mL, 3,12 mmol) in DCM (30 mL) a 25°C sotto

B

azoto. La miscela risultante è stata agitata a 25°C per 2 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta a dare il prodotto desiderato 6-(difluorometil)picolinoil cloruro (6,00 g, 100%) come un olio giallo che è stato usato immediatamente. *N,O*-dimetilidrossilammina cloridrato (4,58 g, 46,98 mmol) è stato aggiunto in porzioni a 6-(difluorometil)picolinoil cloruro (6,0 g, 31,32 mmol) e TEA (17,46 mL, 125,29 mmol) in DCM (50 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata poi agitata a 25°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (50 mL), estratta con DCM (2 x 100 mL), gli strati organici sono stati essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 30% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 6-(difluorometil)-*N*-metossi-*N*-metilpicolinammide (Intermedio 40; 5,00 g, 73,8%) come un liquido giallo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20 °C) δ 3,42 (3H, s), 3,80 (3H, s), 6,68 (1H, t), 7,74 (2H, d), 7,98 (1H, t). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 217.

Intermedio 41

Acido 6-(difluorometil)picolinico

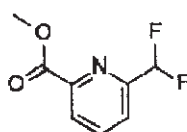


Una soluzione di metil 6-(difluorometil)picolinato (Intermedio 42; 6,2 g, 33,13 mmol) in HCl (30 mL, 360,00 mmol) è stata riscaldata a 90°C per 8 ore. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta a dare il

prodotto desiderato acido 6-(difluorometil)picolinico (Intermedio 41; 5,40 g, 94%) come un solido bianco. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 20 °C) δ 7,05 (1H, t), 7,94 (1H, t), 8,16- 8,22 (2H, m), 13,56 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 174$.

Intermedio 42

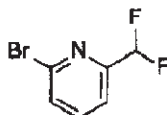
Metil 6-(difluorometil)picolinato



2-bromo-6-(difluorometil)piridina (Intermedio 43; 8,5 g, 40,86 mmol), acetato di potassio (8,02 g, 81,73 mmol) e $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (1,495 g, 2,04 mmol) in MeOH (100 mL) sono stati agitati in un'atmosfera di CO a 10 atm a 70°C per 6 ore. La miscela di reazione è stata poi filtrata e il filtrato è stato fatto evaporare a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 20% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare metil 6-(difluorometil)picolinato (Intermedio 42; 6,20 g, 81%) come un liquido incolore. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 20 °C) δ 4,06 (3H, s), 6,79 (1H, t), 7,89 (1H, d), 8,05 (1H, t), 8,24 - 8,31 (1H, m). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 188$.

Intermedio 43

2-bromo-6-(difluorometil)piridina

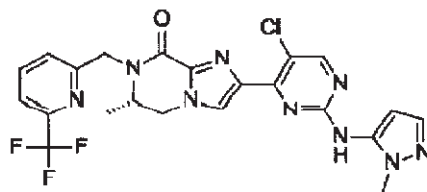


DAST (17,76 mL, 134,40 mmol) è stato aggiunto goccia a

goccia a 6-bromopicolinaldeide (10 g, 53,76 mmol) in DCM (150 mL) raffreddato fino a 0°C in un periodo di 10 minuti. La miscela risultante è stata agitata a 25°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (20 mL) e basificata mediante l'aggiunta di NaHCO₃ (acq. sat.). La fase acquosa è stata estratta con DCM (3 x 150 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare un liquido marrone. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 all'8% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 2-bromo-6-(difluorometil)piridina (Intermedio 43; 9,00 g, 80%) come un liquido incolore. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 22 °C) δ 6,59 (1H, t), 7,58 - 7,65 (2H, m), 7,71 (1H, t). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 208/210.

Esempio 10

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



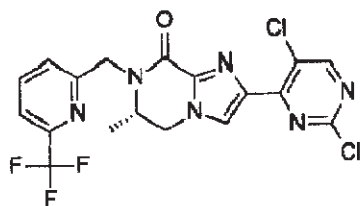
Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (14,97 mg, 0,02 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 44; 77 mg, 0,17 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina

(40,9 mg, 0,42 mmol) e Cs_2CO_3 (110 mg, 0,34 mmol) in 1,4-diossano (3 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 6 ore. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 5 al 6% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un prodotto grezzo giallo. Questo prodotto grezzo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 μm , 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH_3 allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 10; 18,5 mg, 21%) come un solido bianco. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 23,0 °C) δ 1,22 (3H, d), 3,71 (3H, s), 4,15 (1H, ddd), 4,40 (1H, dd), 4,53 - 4,64 (2H, m), 5,23 (1H, d), 6,32 (1H, d), 7,35 (1H, d), 7,75 - 7,87 (2H, m), 8,10 (1H, t), 8,23 (1H, s), 8,54 (1H, s), 9,73 (1H, s). *m/z* (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 518$.

Intermedio 44

(S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

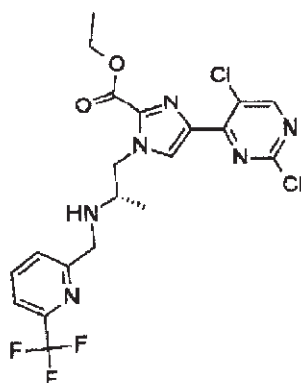
B



NH_3 (7 N in MeOH, 3 mL) è stato aggiunto a (S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 45; 98 mg, 0,19 mmol). La soluzione risultante è stata agitata a 50 °C per 2 ore. Il solvente è stato rimosso mediante distillazione sotto vuoto a dare (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 44; 77 mg, 86%) come un olio incolore. Il prodotto è stato utilizzato nel passaggio successivo direttamente senza ulteriore purificazione. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 457$.

Intermedio 45

(S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato

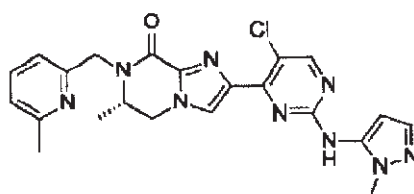


6-(trifluorometil)picolinaldeide (115 mg, 0,66 mmol) è stata

aggiunta a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 28; 250 mg, 0,60 mmol) in DCM (10 mL) a 20°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 40 °C per 4 ore. È stato poi aggiunto triacetossiboroidruro di sodio (254 mg, 1,20 mmol) a 20°C e la soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (10 mL), estratta con DCM (3 x 15 mL). Gli strati organici combinati sono stati lavati con salamoia (15 mL), essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un olio giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 2 al 2,5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-etil 4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 45; 98 mg, 32,5%) come un olio giallo. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 503.

Esempio 11

(S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



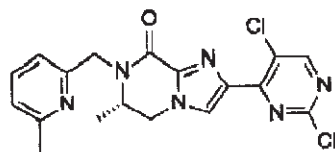
Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (26,4 mg, 0,03 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-

B

metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one
(Intermedio 46; 120 mg, 0,30 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (72,2 mg, 0,74 mmol) e Cs₂CO₃ (194 mg, 0,60 mmol) in 1,4-diossano (8 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(5-cloro-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 11; 50 mg, 36,2%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 22 °C) δ 1,19 (3H, d), 2,47 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,08 (1H, d), 4,32 - 4,43 (2H, m), 4,53 (1H, dd), 5,15 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,21 (2H, dd), 7,34 (1H, d), 7,68 (1H, t), 8,21 (1H, s), 8,53 (1H, s), 9,72 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 464.

Intermedio 46

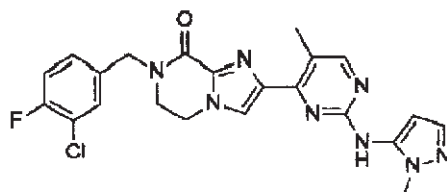
(S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one



Acetato di sodio (118 mg, 1,44 mmol) è stato aggiunto a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 28; 200 mg, 0,48 mmol) e 6-metilpicolinaldeide (63,9 mg, 0,53 mmol) in MeOH (10 mL) a 20°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 25 °C per 30 minuti. È stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (203 mg, 0,96 mmol) e la miscela di reazione è stata agitata a 25°C per 18 ore. La reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ acquoso saturo (25 mL) e la fase acquosa è stata estratta con DCM (3 x 50 mL). Le fasi organiche combinate sono state essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2,5-dicloropirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-metilpiridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 46; 120 mg, 62,1%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 24 °C) δ 1,33 (3H, d), 2,60 (3H, s), 4,09 (1H, d), 4,19 - 4,46 (2H, m), 4,52 (1H, d), 5,42 (1H, d), 7,15 (1H, s), 7,34 (1H, s), 7,63 (1H, s), 8,02 (1H, s), 8,61 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 403.

Esempio 12

7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



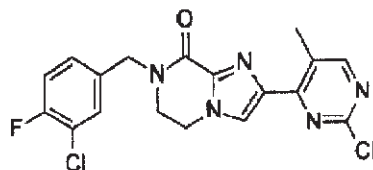
B

Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (63,9 mg, 0,07 mmol) è stato aggiunto a 7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 47; 292 mg, 0,72 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (140 mg, 1,44 mmol) e Cs₂CO₃ (585 mg, 1,80 mmol) in 1,4-diossano (3 mL) a 25°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 100 °C per 4 ore. Il solvente è stato rimosso mediante distillazione sotto vuoto e il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 7% in DCM. Le frazioni contenenti prodotto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare il prodotto grezzo. Questo prodotto grezzo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₄HCO₃ allo 0,05%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 12; 59,7 mg, 17,79%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20,1 °C) δ 2,70 (3H, s), 3,72 (2H, dd), 3,81 (3H, s), 4,26 - 4,34 (2H, m), 4,77 (2H, s), 6,31 (1H, d), 6,98 (1H, s), 7,15 (1H, t), 7,23 -

7,32 (1H, m), 7,45 (1H, dd), 7,49 (1H, d), 7,73 (1H, s), 8,30 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 467.

Intermedio 47

7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one

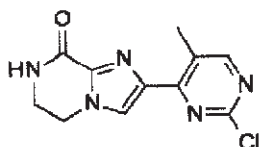


NaH (68,3 mg, 1,71 mmol) è stato aggiunto a 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 48; 150 mg, 0,57 mmol) in DMF (5 mL) a 25°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata poi agitata a 25 °C per 30 minuti. 4-(bromometil)-2-cloro-1-fluorobenzene (254 mg, 1,14 mmol) è stato aggiunto a 25°C e l'agitazione è continuata per 2 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ acquoso saturo (25 mL), il precipitato risultante è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con acqua (50 mL) ed essiccato sotto vuoto a dare 7-(3-cloro-4-fluorobenzil)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 48; 292 mg, >100%) come un solido giallo, che è stato usato senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20,1 °C) δ 2,64 (3H, s), 3,74 - 3,82 (2H, m), 4,35 - 4,43 (2H, m), 4,70 (2H, s), 7,34 - 7,49 (2H, m), 7,60 (1H, ddd), 8,25 (1H, s), 8,61 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 406.

Intermedio 48

B

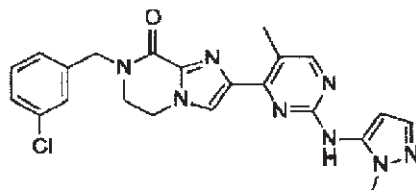
2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



NH₃ (7 N in MeOH, 15 mL) è stato aggiunto a etil 1-(2-amminoetil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 21; 1,3 g, 3,40 mmol) a 20°C sotto aria e la soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 12 ore. Il solvente è stato rimosso mediante distillazione sotto vuoto, il solido risultante è stato messo in sospensione con acqua (50 mL), filtrato ed essiccato sotto vuoto a dare 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 48; 0,80 g, 89%) come un solido bianco, che è stato usato senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20,3 °C) δ 2,62 (3H, s), 3,61 (2H, ddd), 4,29 - 4,37 (2H, m), 8,26 (1H, s), 8,35 (1H, t), 8,59 (1H, d). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 264.

Esempio 13

7-(3-clorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

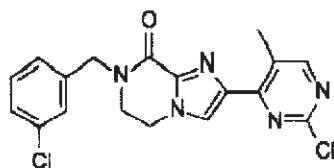


Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (62,0 mg, 0,07 mmol) è stato aggiunto a 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-

clorobenzil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 49; 271 mg, 0,70 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (136 mg, 1,40 mmol) e Cs₂CO₃ (569 mg, 1,75 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) a 25°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 100 °C per 4 ore. Il solvente è stato poi rimosso mediante distillazione sotto vuoto e il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 7% in DCM. Le frazioni contenenti prodotto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare il prodotto grezzo. Questo prodotto grezzo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₄HCO₃ allo 0,05%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 7-(3-clorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 13; 43,5 mg, 13,9%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20,1 °C) δ 2,69 (3H, s), 3,68 - 3,76 (2H, m), 3,81 (3H, s), 4,29 (2H, dd), 4,80 (2H, s), 6,31 (1H, d), 7,06 (1H, s), 7,25 - 7,29 (1H, m), 7,30 - 7,34 (2H, m), 7,36 - 7,39 (1H, m), 7,49 (1H, d), 7,73 (1H, s), 8,29 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 449.

Intermedio 49

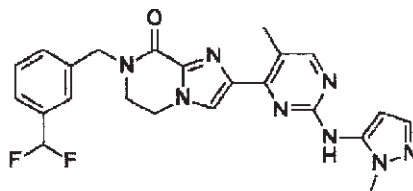
2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-clorobenzil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one



NaH (68,3 mg, 1,71 mmol) è stato aggiunto a 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 48; 150 mg, 0,57 mmol) in DMF (5 mL) a 25 °C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 25 °C per 30 minuti. È stato aggiunto 1-(bromometil)-3-clorobenzene (234 mg, 1,14 mmol) e la soluzione risultante è stata agitata a 25°C per 2 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (25 mL), il precipitato risultante è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con acqua (50 mL) ed essiccato sotto vuoto a dare 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-clorobenzil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 49; 271 mg) come un solido giallo, che è stato usato senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20,1 °C) δ 2,64 (3H, s), 3,74 - 3,82 (2H, m), 4,36-4,44 (2H, m), 4,72 (2H, s), 7,39-7,48 (4H, m), 8,26 (1H, s), 8,61 (1H, s). *m/z* (ES+) [M+H]⁺ = 388.

Esempio 14

7-(3-(difluorometil)benzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one

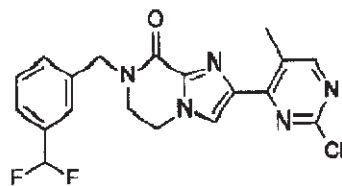


Un precatalizzatore di 2a generazione XantiPhos (61,6 mg, 0,07

mmol) è stato aggiunto a 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 50; 280 mg, 0,69 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (135 mg, 1,39 mmol) e Cs₂CO₃ (565 mg, 1,73 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) a 25°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 100 °C per 4 ore. Il solvente è stato poi rimosso mediante distillazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 7% in DCM. Le frazioni contenenti il composto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare il prodotto impuro. Questo prodotto impuro è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₄HCO₃ allo 0,05%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 7-(3-(difluorometil)benzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 14; 14; 69,6 mg, 21,6%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20,2 °C) δ 2,70 (3H, s), 3,68 - 3,76 (2H, m), 3,81 (3H, s), 4,24 - 4,32 (2H, m), 4,88 (2H, s), 6,31 (1H, d), 6,66 (1H, t), 6,98 (1H, s), 7,43 - 7,56 (5H, m), 7,73 (1H, s), 8,30 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 465.

Intermedio 50

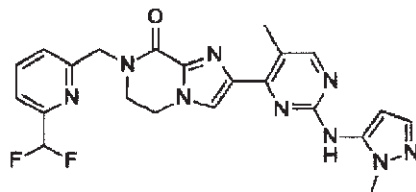
2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one



NaH (68,3 mg, 1,71 mmol) è stato aggiunto a 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (150 mg, 0,57 mmol) in DMF (5 mL) a 25°C sotto azoto e la soluzione risultante è stata agitata a 25°C per 30 minuti. È stato aggiunto 1-(bromometil)-3-(difluorometil)benzene (251 mg, 1,14 mmol) e la soluzione risultante è stata agitata a 25°C per 2 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (25 mL) e il precipitato risultante è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con acqua (50 mL) ed essiccato sotto vuoto a dare 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 50; 280 mg) come un solido giallo, che è stato usato senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 19,9 °C) δ 2,64 (3H, s), 3,74 - 3,82 (2H, m), 4,36 - 4,44 (2H, m), 4,79 (2H, s), 7,06 (1H, td), 7,49-7,56 (4H, m), 8,26 (1H, s), 8,61 (1H, s).

Esempio 15

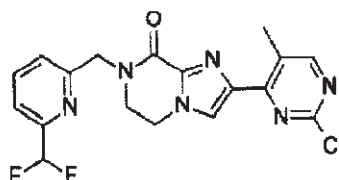
7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one



Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (22,95 mg, 0,03 mmol) è stato aggiunto a 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 51; 205 mg, 0,51 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (123 mg, 1,27 mmol) e Cs₂CO₃ (330 mg, 1,01 mmol) in 1,4-diossano (8 mL) a 25°C sotto azoto e la miscela risultante è stata agitata a 100°C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni contenenti il composto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 15; 122 mg, 51,8%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20°C) δ 2,50 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,87 - 3,95 (2H, m), 4,42 - 4,50 (2H, m), 4,87 (2H, s), 6,30 (1H, d), 6,95 (1H, t), 7,33 (1H, d), 7,61 (2H, t), 7,94 (1H, s), 8,00 (1H, t), 8,32 (1H, s), 9,24 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 466.

Intermedio 51

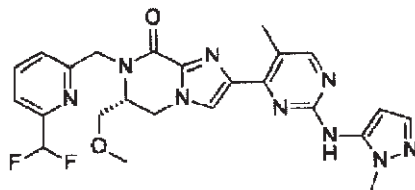
2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



6-(difluorometil)picolinaldeide (Intermedio 39; 123 mg, 0,78 mmol) è stata aggiunta a etil 1-(2-amminoetil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 21; 200 mg, 0,52 mmol), DIPEA (0,274 mL, 1,57 mmol) e AcOH (0,090 mL, 1,57 mmol) in DCM (10 mL) a 25°C sotto azoto. Dopo agitazione a 25°C per 1 ora, è stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (332 mg, 1,57 mmol) e la miscela risultante è stata agitata a 25°C per 1 ora e poi riscaldata a 50°C per 3 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (20 mL), estratta con DCM (2 x 75 mL), le fasi organiche combinate sono state essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 51; 205 mg, 97%) come un solido giallo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20 °C) δ 2,74 (3H, d), 3,95 - 4,04 (2H, m), 4,27 - 4,39 (2H, m), 4,94 (2H, s), 6,43 - 6,73 (1H, m), 7,57 (2H, d), 7,84 (1H, t), 7,96 (1H, s), 8,42 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 405.

Esempio 16

(R)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



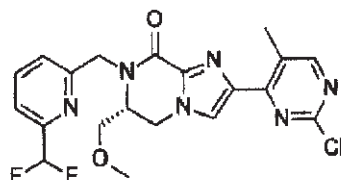
Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (30,3 mg, 0,03 mmol) è stato aggiunto a (R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 52; 150 mg, 0,33 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (81 mg, 0,84 mmol) e Cs₂CO₃ (218 mg, 0,67 mmol) in 1,4-diossano (8 mL) a 25°C sotto azoto e la miscela risultante è stata agitata a 120°C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il residuo risultante è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM a dare un residuo giallo. Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (R)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-

3

one (Esempio 16; 27 mg, 15,9%) come un solido bianco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO, 25 °C) δ 2,50 (3H, s), 3,20 (3H, s), 3,34 - 3,42 (1H, m), 3,52 (1H, dd), 3,71 (3H, s), 4,15 (1H, s), 4,59 (3H, d), 5,24 (1H, d), 6,28 - 6,33 (1H, m), 6,97 (1H, t), 7,34 (1H, d), 7,59 - 7,66 (2H, m), 7,95 - 8,04 (2H, m), 8,32 (1H, s), 9,21 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 510$.

Intermedio 52

(R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

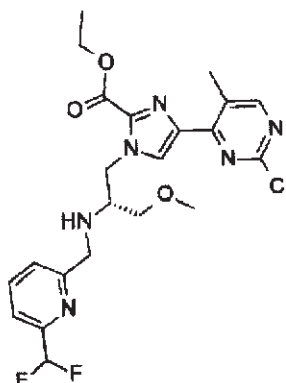


Una soluzione di (R)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)-3-metossipropil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 53; 360 mg, 0,73 mmol) in NH_3 in MeOH (20 mL, 140,00 mmol) è stata agitata a 25°C per 48 ore. Le sostanze volatili sono state poi rimosse a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 52; 300 mg, 92%) come un solido giallo. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 449$.

Intermedio 53

B

(R)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)-3-metossipropil)-1H-imidazol-2-carbossilato



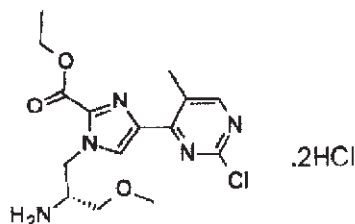
6-(difluorometil)piccolinaldeide (442 mg, 2,81 mmol) è stata aggiunta a (R)-etil 1-(2-ammino-3-metossipropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 54; 400 mg, 0,94 mmol) in DCM (20 mL) a 25°C sotto azoto. Dopo agitazione a 40°C per 3 ore, è stato aggiunto triacetossiboroidruro di sodio (596 mg, 2,81 mmol) e la miscela risultante è stata agitata a 25°C per 3 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (20 mL), estratta con DCM (2 x 50 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (R)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)-3-metossipropil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 53; 360 mg, 78%) come un solido giallo. *m/z*

B

(ES+), [M+H]⁺ = 495.

Intermedio 54

(R)-etil 1-(2-ammino-3-metossi-propil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato

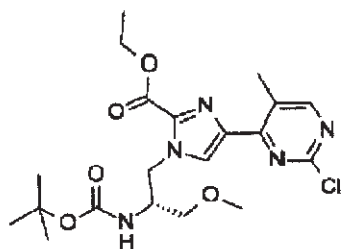


Una soluzione di (R)-etil 1-(2-((terz-butossicarbonil)ammino)-3-metossi-propil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 55; 1 g, 2,20 mmol) in 1,4-diossano/HCl (20mL) è stata agitata a 25°C per tutta la notte. Il precipitato è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con EtOAc (20 mL) ed essiccato sotto vuoto a dare (R)-etil 1-(2-ammino-3-metossi-propil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 54; 0,80 g, 85%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 22 °C) δ 1,36 (3H, t), 2,64 (3H, s), 3,48 - 3,66 (5H, m), 3,85 (1H, s), 4,39 (2H, q), 4,64 - 4,79 (2H, m), 8,36 (2H, s), 8,41 (1H, s), 8,62 - 8,67 (1H, m). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 354.

Intermedio 55

(R)-etil 1-(2-((terz-butossicarbonil)ammino)-3-metossi-propil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato

B



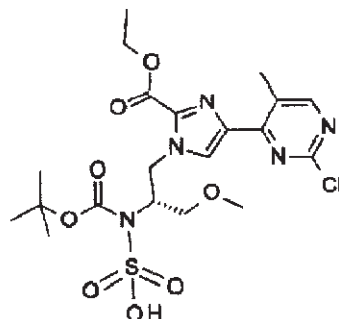
HCl 1 M (20 mL, 20,00 mmol) è stato aggiunto ad acido (*R*)-
(*tert*-butossicarbonil)(1-(4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-2-
(etossicarbonil)-1*H*-imidazol-1-il)-3-metossipropan-2-il)solfammico
(Intermedio 56; 5 g, 9,36 mmol) in EtOH (20 mL) a 25°C sotto aria e la
miscela risultante è stata agitata a 50°C per 20 minuti. La miscela di
reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (50 mL),
estratto con DCM (3 x 100 mL), le fasi organiche sono state essiccate
su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto
grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice,
gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 30% in etere di petrolio. Le frazioni
pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*R*)-etil 1-(2-
((*tert*-butossicarbonil)ammino)-3-metossipropil)-4-(2-cloro-5-
metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 55; 1,0 g,
23,53%) come un solido giallo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 22 °C) δ
1,32 (9H, s), 1,47 (3H, t), 2,71 (3H, s), 3,40 (3H, s), 3,51 (2H, qd), 4,24
(1H, d), 4,41 - 4,57 (3H, m), 4,73 (1H, dd), 5,11 (1H, d), 7,98 (1H, s),
8,41 (1H, s).

Intermedio 56

Acido (*R*)-(*tert*-butossicarbonil)(1-(4-(2-cloro-5-
metilpirimidin-4-il)-2-(etossicarbonil)-1*H*-imidazol-1-il)-3-

B

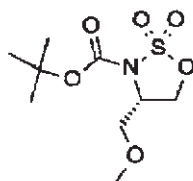
metossipropan-2-il)solfammico



(*S*)-*tert*-butil 4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido (Intermedio 57; 3,26 g, 12,19 mmol) è stato aggiunto in porzioni a etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 23; 2,5 g, 9,37 mmol), K₂CO₃ (3,89 g, 28,12 mmol) e 18-corona-6 (0,496 g, 1,87 mmol) in 1,4-diossano (30 mL) a 100°C sotto azoto e la miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 12 ore. La miscela di reazione è stata poi filtrata e lavata con DCM e il solvente è stato rimosso a pressione ridotta a dare il prodotto desiderato acido (*R*)-(*tert*-butossicarbonil)(1-(4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-2-(etossicarbonil)-1*H*-imidazol-1-il)-3-metossipropan-2-il)solfammico (5,00 g, 100%) come un olio giallo, che è stato usato direttamente nella fase successiva. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 534.

Intermedio 57

(*S*)-*tert*-butil 4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido



A una soluzione di (4S)-*terz*-butil 4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2-ossido (Intermedio 58; 3,34 g, 13,29 mmol) in acetonitrile (30 mL) a 0°C sotto azoto è stato aggiunto in sequenza metaperiodato di sodio (3,13 g, 14,62 mmol), cloruro di rutenio (III) (0,276 g, 1,33 mmol) e acqua (30,0 mL) e poi agitato a 0°C per 3 ore. La miscela di reazione è stata diluita con acqua (100 mL) e filtrata per rimuovere sali inorganici insolubili. La soluzione risultante è stata estratta con etere (2 x 100 mL), lavata con salamoia (2 x 100 mL) ed essiccata su MgSO₄ a dare (S)-*terz*-butil 4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido (Intermedio 57; 2,86 g, 80%) come un olio. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 27 °C) 1,56 (9H, s), 3,41 (3H, s), 3,59 (1H, t), 3,66 (1H, ddd), 4,38 (1H, dddd), 4,52 - 4,67 (2H, m). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 268.

Preparazione alternativa dell'Intermedio 57:

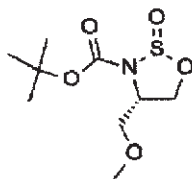
Una soluzione di metaperiodato di sodio (95 g, 444,49 mmol) e cloruro di rutenio (0,349 g, 1,33 mmol) in acqua (800 mL) è stata aggiunta a una soluzione di *terz*-butil (4S)-4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2-ossido (Intermedio 58; 111,7 g, 444,49 mmol) in acetonitrile (800 mL) a 10°C. La reazione è risultata completa mediante ¹H NMR immediatamente dopo l'aggiunta. La miscela di reazione è stata diluita con MTBE (1000 mL) e gli strati sono stati separati. Lo strato organico è stato lavato con acqua (2 x 500 mL) e concentrato a dare (S)-*terz*-butil 4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido (Intermedio 57; 115 g, 95%) come un olio. ¹H

B

NMR (400 MHz, MeOD) δ 1,54 (s, 9H), 3,40 (s, 3H), 3,61 (d, 2H), 4,46 (qd, 1H), 4,60 (dd, 1H), 4,68 (dd, 1H).

Intermedio 58

(4S)-tert-butil 4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2-ossido



Imidazolo (1,629 g, 23,92 mmol) è stato aggiunto in una porzione a cloruro di tionile (1,75 mL, 23,92 mmol) e trietilammina (3,33 mL, 23,92 mmol) in DCM (100 mL) e raffreddato fino a -78°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata per 20 minuti. Una soluzione di (*R*)-*terz*-butil (1-idrossi-3-metossiopropan-2-il)carbammato (Intermedio 59; 4,91 g, 23,92 mmol) in DCM (26,7 mL) è stata aggiunta goccia a goccia in 10 minuti. La soluzione risultante è stata agitata a -78°C per 3 ore e poi lasciata riscaldare fino a temperatura ambiente. Alla miscela di reazione è stata aggiunta acqua (100 mL) e poi estratta con DCM (2 x 100 mL). Le fasi organiche sono state combinate e lavate con salamoia (100 mL), essiccate su MgSO_4 e fatte evaporare a dare un prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, eluendo con Et_2O al 10% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*4S*)-*terz*-butil 4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2-ossido (Intermedio 58; 3,34 g, 55,6%) come un olio incolore e come una

miscela 2:1 di diastereomeri. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 27 °C) 1,55 - 1,58 (9H, d), 3,31 (0,5H, t), 3,41 (3H, s), 3,52 - 3,63 (1H, m), 3,90 (0,5 H, dd), 4,17 - 4,4 (1H, m), 4,64 - 4,92 (1H, m), 4,94 - 5,07 (1H, m). *m/z*: ES^+ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 252.

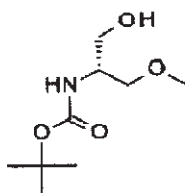
Preparazione alternativa dell'Intermedio 58:

A una soluzione di 1*H*-imidiazolo (672 g, 9,76 mol) in diclorometano (5 L) è stata aggiunta trietilammina (568 g, 5,61 mol) e la soluzione risultante è stata raffreddata fino a -60°C. Cloruro di tionile (377 g, 3,17 mol) è stato aggiunto goccia a goccia alla miscela mantenendo una temperatura al di sotto di -50°C (2 ore). (*R*)-*terz*-butil (1-idrossi-3-metossiopropan-2-il)carbammato (Intermedio 59; 500 g, 2,44 mol) disciolto in diclorometano (5 L) è stato poi aggiunto goccia a goccia nel corso di 4 o 5 ore mantenendo la temperatura al di sotto di -55°C durante l'aggiunta. Una volta aggiunto tutto il materiale di partenza, la reazione è stata lasciata riscaldare fino a temperatura ambiente per tutta la notte. La miscela di reazione è stata poi versata in acqua (~3 L), gli strati sono stati separati, e lo strato acquoso estratto con DCM (1 L). Gli strati organici combinati sono stati essiccati su MgSO_4 , e la miscela è stata filtrata attraverso un tampone di silice (2 Kg) eluendo con diclorometano, e concentrata a pressione ridotta a dare un olio. Questo olio è stato posto sotto alto vuoto con agitazione per rimuovere il diclorometano residuo a dare (*4S*)-*terz*-butil 4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2-ossido (Intermedio 58; 489 g, 80%) come un olio e come una miscela 36:64 di

diastereomeri.

Intermedio 59

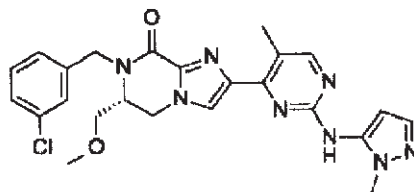
(R)-terz-butil (1-idrossi-3-metossiopropan-2-il)carbammato



Iso-butil cloroformiato (0,599 mL, 4,56 mmol) è stato aggiunto goccia a goccia ad acido (S)-2-((terz-butossicarbonil)ammino)-3-metossiopropanoico (1 g, 4,56 mmol) e N-metilmorfolina (0,501 mL, 4,56 mmol) in THF (6 mL) e raffreddato fino a 0°C per un periodo di 15 minuti sotto azoto. La sospensione risultante è stata agitata a 0°C per ulteriori 15 minuti. Boridruro di sodio (0,500 g, 13,23 mmol) disciolto in acqua (1,2 mL) è stato aggiunto lentamente alla reazione a 0°C. La reazione è stata agitata per 30 minuti prima di essere diluita con EtOAc (50 mL) e neutralizzata con HCl acquoso (2 M). È stata aggiunta acqua (50 mL) e lo strato organico è stato separato, lavato con salamoia (50 mL) ed essiccato su MgSO₄. L'evaporazione del solvente ha dato un prodotto grezzo che è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 50% in eptano. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (R)-terz-butil (1-idrossi-3-metossiopropan-2-il)carbammato (Intermedio 59; 0,510 g, 54,5%) come un olio incolore. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 27 °C) 1,45 (9H, s), 3,36 (3H, s), 3,5 - 3,62 (2H, m), 3,64 - 3,73 (1H, m), 3,74 - 3,84 (2H, m), 5,16 (1H, s). *m/z*: ES+ [M+Na]⁺ 228.

Esempio 17

(R)-7-(3-clorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



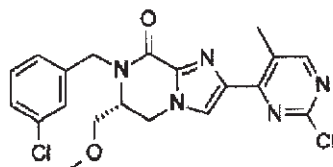
Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (30,8 mg, 0,03 mmol) è stato aggiunto a (R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-clorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 60; 150 mg, 0,35 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (84 mg, 0,87 mmol) e Cs₂CO₃ (226 mg, 0,69 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni contenenti il prodotto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il prodotto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (R)-7-(3-clorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-

B

il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 17; 34,0 mg, 19,9%) come un solido bianco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO, 24 °C) δ 2,51(3H, s), 3,18 (3H, s), 3,29 (1H, s), 3,40 (1H, dd), 3,70 (3H, s), 4,04 (1H, s), 4,39 - 4,57 (3H, m), 5,09 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,31 - 7,50 (5H, m), 7,94 (1H, s), 8,32 (1H, s), 9,21 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 493$.

Intermedio 60

(R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-clorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



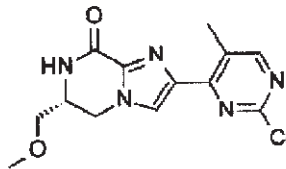
1-(bromometil)-3-clorobenzene (187 mg, 0,91 mmol) è stato aggiunto a (R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 61; 140 mg, 0,45 mmol) e NaH (54,6 mg, 1,36 mmol) in DMF (5 mL) a 25°C sotto azoto e la miscela risultante è stata agitata a 25°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (25 mL) ed estratta con EtOAc (3 x 25 mL). Le fasi organiche combinate sono state lavate con salamoia, essiccate su Na_2SO_4 , filtrate e fatte evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-clorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 60;

B

150 mg, 76%) come un solido giallo. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25 °C) δ 2,81 (3H, s), 3,30 (4H, s), 3,41 (1H, s), 3,84 (1H, s), 4,17 - 4,28 (2H, m), 4,43 (1H, d), 5,44 (1H, d), 7,33 (2H, d), 7,40 (2H, s), 7,97 (1H, s), 8,04 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 432$.

Intermedio 61

(R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



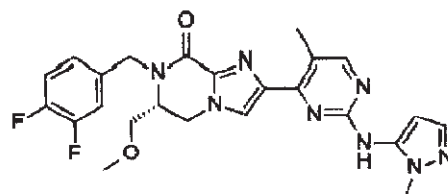
Una soluzione di (*R*)-etil 1-(2-ammino-3-metossipropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 54; 400 mg, 0,94 mmol) in NH_3 in MeOH (15 mL, 105,00 mmol) è stata agitata a 25°C per tutta la notte. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 61; 280 mg, 97%) come un solido bianco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 23 °C) δ 2,78 (3H, s), 3,43 (3H, s), 3,49 - 3,58 (2H, m), 4,16 - 4,33 (2H, m), 4,37 (1H, dd), 6,56 (1H, s), 8,01 (1H, s), 8,45 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 308$.

Preparazione alternativa dell'Intermedio 61:

Una soluzione di *terz*-butil (S)-4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido (Intermedio 57; 105 g, 383,60 mmol) in acetone (500 mL) è stata aggiunta a una sospensione agitata di etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 23; 93 g, 348,73 mmol) e K₂CO₃ (57,8 g, 418,47 mmol) in una miscela di acetone (500 mL) e 1,4 diossano (500 mL) a temperatura ambiente. La miscela risultante è stata agitata a 25 °C per 16 ore. La miscela di reazione è stata filtrata e il filtrato è stato concentrato fino a 500 mL. Alla soluzione concentrata è stato aggiunto HCl in iso-propilalcol (5-6N, 500 mL, 2500 mmol) e agitato a 25°C per 24 ore. Et₃N (486 mL, 3487,26 mmol) è stato poi aggiunto alla miscela e agitato a 55°C per 16 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (1500 mL) e il solido risultante è stato filtrato. La torta solida è stata lavata con acqua (400 mL) e una miscela 1:1 di acetone/acqua (200 mL × 2) a dare (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo [1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (82 g, 76%) come un solido. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20 °C) δ 2,62 (s, 3H), 3,27 (s, 3H), 3,39 (dd, 2H), 3,99 (s, 1H), 4,30 (dd, 1H), 4,43 (dd, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,42 (d, 1H), 8,59 (s, 1H). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 308.

Esempio 18

(*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (0,784 g, 0,86 mmol) è stato aggiunto a (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 62; 7,5 g, 17,29 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (4,20 g, 43,22 mmol) e Cs₂CO₃ (11,27 g, 34,58 mmol) in 1,4-diossano (200 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni contenenti il prodotto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo. Questo residuo è stato purificato ulteriormente mediante cromatografia flash C18, gradiente di eluizione MeCN dal 5 al 50% in acqua (NH₄HCO₃ allo 0,1%). Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 18; 5,50 g, 64,3%) come un solido. (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one è risultato essere amorfo mediante XRPD.

Preparazione alternativa dell'Esempio 18:

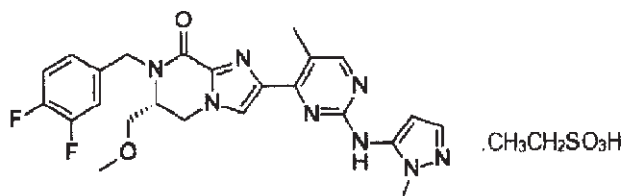
A una miscela di (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-

difluorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 62; 104,7 g, 225,64 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (33,5 g, 338,47 mmol) in 2-metil tetraidrofurano (1200 mL) e Cs₂CO₃ (147 g, 451,29 mmol) in acqua (120 mL) sono stati aggiunti 2'-(dicicloesilfosfanil)-*N,N*-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-ammina (7,10 g, 18,05 mmol) e Pd₂(dba)₃ (8,27 g, 9,03 mmol) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata degassata 3 volte sotto azoto e poi agitata a 70°C per 24 ore. La miscela di reazione è stata raffreddata fino a temperatura ambiente e gli strati sono stati separati. Lo strato organico è stato lavato successivamente con acqua (500 mL), acido citrico acquoso (1 N, 600 mL) e acqua (200 mL). Silicido (Si-SH, 150 g) è stato aggiunto allo strato organico a 40°C e agitato per 20 ore. Dopo filtrazione, il filtrato è stato concentrato e il residuo è stato purificato mediante cromatografia a fluido supercritico usando una colonna Kromasil DIOL, gradiente di eluizione EtOH/NH₃ al 25% 100/0,5 in CO₂, 140 bar. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 18; 72,6 g, 65%) come un solido. ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 2,51 (3H, s), 3,17 (3H, s), 3,30 (1H, dd), 3,39 (1H, dd), 3,69 (3H, s), 4,03 (1H, dtd), 4,38 (1H, d), 4,44 (1H, dd), 4,51 (1H, dd), 5,08 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,22 - 7,28 (1H, m), 7,33 (1H, d), 7,41 (1H, dt), 7,47 (1H, ddd), 7,93 (1H, s), 8,31 (1H, s), 9,21 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 495.

Esempio 18a

B

Preparazione di addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico Forma 1



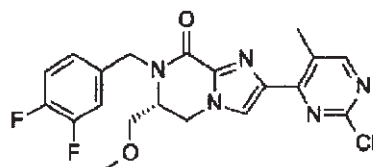
A una soluzione calda di (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 18; 114 g, 200,56 mmol) in MeCN (500 mL) a 55°C è stata aggiunta una soluzione di acido etansolfonico (17,02 mL, 210,59 mmol) in acetonitrile (100 mL). La miscela di reazione è stata raffreddata lentamente fino a 5°C in 24 ore, il solido risultante è stato filtrato e lavato con MeCN freddo (200 mL) a dare l'addotto di acido etansolfonico Forma 1 di (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one Forma 1 (Esempio 18a; 119 g, 98%) come un solido. Mediante ¹H NMR, l'addotto è risultato essere un rapporto molare 1:1 di acido etansolfonico: (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 24 °C) δ 1,08 (3H, t), 2,44 - 2,49 (2H, m), 2,51 (3H, s), 3,16 (3H, s), 3,32 (1H, dd), 3,41 (1H, dd), 3,76 (3H, s), 3,97 - 4,12 (1H, m), 4,32 - 4,62 (3H, m), 5,08 (1H, d),

B

6,48 (1H, d), 7,17 - 7,30 (1H, m), 7,34 - 7,52 (2H, m), 7,55 (1H, d), 8,04 (1H, s), 8,39 (1H, s), 9,67 (1H, s). Addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico Forma 1 è risultato essere cristallino mediante XRPD (Figura 1) e aveva un punto di fusione di 203,8°C (inizio) (Figura 2).

Intermedio 62

(*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



4-(bromometil)-1,2-difluorobenzene (6,05 g, 29,25 mmol) è stato aggiunto a (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 61; 6 g, 19,50 mmol) e NaH (2 g, 50, mmol) in DMF (80 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 25°C per 2 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (400 mL), estratta con EtOAc (3 x 250 mL), gli strati organici sono stati lavati con salamoia, essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-

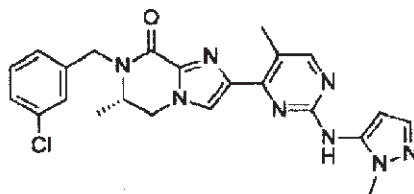
(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 62; 8,00 g, 95%) come un solido giallo chiaro. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2,76 (3H, s), 3,25-3,35 (1H, m), 3,28 (3H, s), 3,35-3,42 (1H, m), 3,78-3,85 (1H, m), 4,18-4,26 (2H, m), 4,42 (1H, d), 5,34 (1H, d), 7,08-7,30 (3H, m), 7,95 (1H, s), 8,43 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 434$.

Preparazione alternativa dell'Intermedio 62:

Cs_2CO_3 (115 g, 354,44 mmol) è stato aggiunto a (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 61: 79,5 g, 253,17 mmol) in MeCN (800 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata riscaldata fino a 40°C e MeCN (100 mL) è stato rimosso per distillazione. 4-(bromometil)-1,2-difluorobenzene (64,2 g, 303,80 mmol) è stato aggiunto a 60°C e agitato a 60-70°C per 20 ore. La miscela di reazione è stata concentrata fino a 500 mL e diluita con EtOAc (1000 mL) e acqua (500 mL). Gli strati sono stati separati e lo strato organico è stato lavato con acqua (2 x 500 mL) e le sostanze volatili rimosse a pressione ridotta. Il residuo è stato agitato in una miscela di MTBE (120 mL) ed eptano (480 mL) a 40°C, il solido risultante è stato filtrato e lavato con eptano (250 mL) a dare (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (100 g, 91%) come un solido. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 24 °C) δ 2,37 (3H,s), 3,04 (3H, s), 3,11 - 3,19 (1H, m), 3,28 (1H, dd), 3,92 (1H, m), 4,27 (1H, d), 4,35 (2H d), 4,95 (1H, d), 7,06 - 7,22 (1H, m), 7,22 - 7,48 (2H, m), 8,13 (1H, s), 8,47 (s, 1H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 434$.

Esempio 19

(S)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

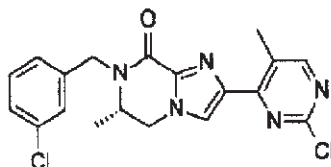


Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (33,1 mg, 0,04 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 63; 150 mg, 0,37 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (91 mg, 0,93 mmol) e Cs₂CO₃ (243 mg, 0,75 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 4 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 19; 71,0 mg, 41,1%)
come un solido bianco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO, 24 °C) δ 1,14 (3H, d),
2,53 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,00 (1H, s), 4,30 - 4,48 (3H, m), 5,07 (1H, d),
6,30 (1H, d), 7,31 - 7,45 (4H, m), 7,48 (1H, s), 7,93 (1H, s), 8,33 (1H, s),
9,22 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 463$.

Intermedio 63

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-clorobenzil)-6-metil- 6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

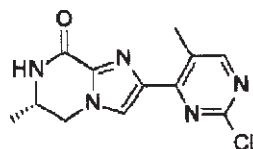


1-(bromometil)-3-clorobenzene (1332 mg, 6,48 mmol) è stato
aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-6,7-
diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 64; 300 mg, 1,08
mmol) e NaH (259 mg, 6,48 mmol) in DMF (10 mL) a 25°C sotto azoto.
La miscela risultante è stata agitata a 25°C per 2 ore. La miscela di
reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (25 mL), estratta
con EtOAc (2 x 25 mL), gli strati organici sono stati lavati con salamoia
ed essiccati su Na_2SO_4 , filtrati e fatti evaporare a dare un residuo giallo.
Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su
silice, gradiente di eluizione EtOAc dal 10 al 60% in etere di petrolio. Le
frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-
2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-6,7-
diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 63; 300 mg, 69,0%)

come un solido bianco. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 22 °C) δ 1,24 - 1,34 (3H, m), 2,81 (3H, s), 3,84 - 3,92 (1H, m), 4,03 - 4,19 (2H, m), 4,37 (1H, dd), 5,45 (1H, d), 7,27 (1H, d), 7,30 - 7,34 (2H, m), 7,38 (1H, s), 7,99 (1H, s), 8,45 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 402$.

Intermedio 64

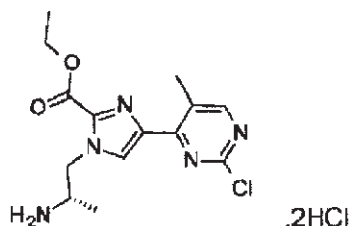
(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



Una soluzione di (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 65; 2,8 g, 7,77 mmol) in NH_3 (7 N in MeOH, 20 mL, 140 mmol) è stata agitata a 25°C per tutta la notte. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta a dare il prodotto desiderato (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (2,1 g, 97%) come un solido bianco, che è stato usato nella fase successiva senza purificazione. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 278$.

Intermedio 65

(S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato

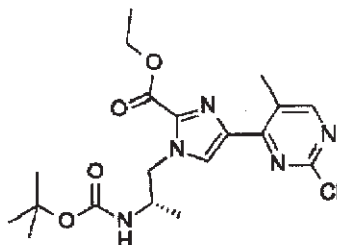


B

Una soluzione di (S)-etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)propil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 66; 3,4 g, 8,02 mmol) in HCl al 33% (gas) in EtOH (20 mL) è stata agitata a 25°C per tutta la notte. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta a dare il prodotto desiderato (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 65; 2,80 g, 97%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 24 °C) δ 1,28 (3H, d), 1,35 (3H, t), 2,64 (3H, s), 3,74 (1H, s), 4,39 (2H, q), 4,58 - 4,76 (2H, m), 8,37 (2H, s), 8,47 (1H, s), 8,61 - 8,67 (1H, m). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 324.

Intermedio 66

(S)-etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)propil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato



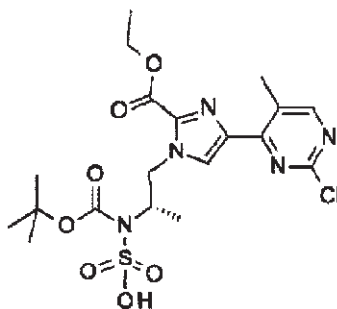
HCl 1 M (20 mL, 20,00 mmol) è stato aggiunto ad acido (S)-((*terz*-butossicarbonil)(1-(4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-2-(etossicarbonil)-1*H*-imidazol-1-il)propan-2-il)solfammico (Intermedio 67; 5 g, 9,92 mmol) in EtOH (20 mL) a 25°C sotto aria. La miscela risultante è stata agitata a 50°C per 20 minuti. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (50 mL), estratta con DCM

B

(3 x 100 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 30% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-etil 1-(2-((*terz*-butossicarbonil)ammino)propil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 66; 3,40 g, 81%) come un solido giallo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 24 °C) δ 1,27 (3H, dd), 1,35 (9 H, s), 1,48 (3H, t), 2,72 (3H, s), 4,09 - 4,18 (1H, m), 4,47 (3H, qd), 4,64 (2H, dd), 8,01 (1H, s), 8,42 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 424.

Intermedio 67

Acido (S)-(*terz*-butossicarbonil)(1-(4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-2-(*etossicarbonil*)-1*H*-imidazol-1-il)propan-2-il)solfammico



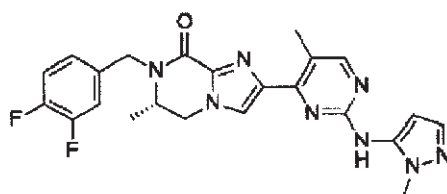
(S)-*terz*-butil 4-metil-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido (Intermedio 12; 3,34 g, 14,06 mmol) è stato aggiunto in porzioni a etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 23; 3 g, 11,25 mmol) e K₂CO₃ (3,11 g, 22,50 mmol) in acetonitrile (3 mL) a 80°C sotto azoto. La miscela risultante è stata

B

agitata a 85 °C per 4 ore. La miscela di reazione è stata filtrata e lavata con MeCN, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta a dare il prodotto desiderato acido (S)-(terz-butossicarbonil)(1-(4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-2-(etossicarbonil)-1H-imidazol-1-il)propan-2-il)solfammico (5,00 g, 88%) come un olio giallo. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 504$.

Esempio 20

(S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



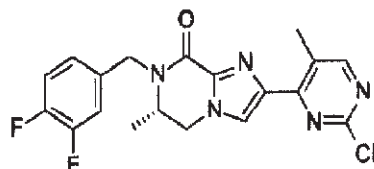
(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 68; 189 mg, 0,47 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (91 mg, 0,94 mmol), Cs₂CO₃ (457 mg, 1,40 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (42,4 mg, 0,05 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) è stato agitato in un'atmosfera di azoto a 110°C per 8 ore. Il solvente è stato rimosso mediante distillazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 4 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un solido giallo. Il solido è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18

B

OBD, silice 5 μm , 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH_4HCO_3 allo 0,01%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 20; 63,8 mg, 29,3%) come un solido bianco. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 24,8 $^\circ\text{C}$) δ 1,14 (3H, d), 2,53 (3H, d), 3,70 (3H, s), 3,95 - 4,03 (1H, m), 4,29 - 4,38 (2H, m), 4,44 (1H, dd), 5,06 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,27 (1H, s), 7,34 (1H, d), 7,37 - 7,53 (2H, m), 7,93 (1H, s), 8,33 (1H, d), 9,21 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 465$.

Intermedio 68

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

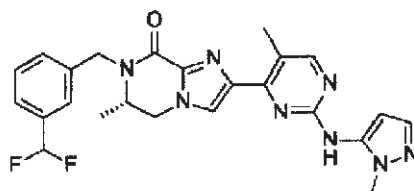


NaH (108 mg, 2,70 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 64; 250 mg, 0,90 mmol) in DMF (5 mL) a 0 $^\circ\text{C}$ sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 0 $^\circ\text{C}$ per 30 minuti. 4-(bromometil)-1,2-difluorobenzene (373 mg, 1,80 mmol) è stato poi aggiunto e la soluzione risultante è stata agitata a 20 $^\circ\text{C}$ per 12 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (15 mL),

estratta con EtOAc (4 x 10 mL). Gli strati organici sono stati combinati e lavati con acqua (3 x 20 mL), salamoia (20 mL). Gli strati organici sono stati essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un olio giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 3% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 68; 189 mg, 52%) come un solido giallo. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 404.

Esempio 21

(S)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

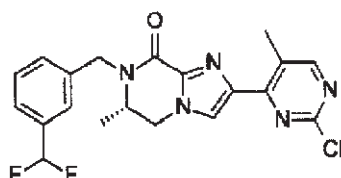


Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (12,44 mg, 0,02 mmol) è stato aggiunto a Cs₂CO₃ (304 mg, 0,93 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (91 mg, 0,93 mmol) e (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 69; 130 mg, 0,31 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 4 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash

su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo. Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 μ m, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti acido formico allo 0,1%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 21; 85 mg, 57,1%) come un solido bianco. ^1H NMR (300 MHz, DMSO, 23 °C) δ 1,12 (3H, s), 2,40 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,90-4,10 (1H, m), 4,36-4,44 (3H, m), 5,14 (1H, d), 6,29 (1H, d), 7,04 (1H, t), 7,33 (1H, d), 7,50-7,59 (4H, m), 7,93 (1H, s), 8,32 (1H, s), 9,21 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 479$.

Intermedio 69

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

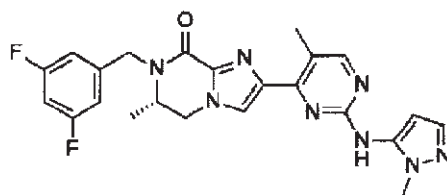


1-(bromometil)-3-(difluorometil)benzene (207 mg, 0,94 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 64; 130 mg, 0,47 mmol) e NaH (56,2 mg, 1,40 mmol) in DMF (3 mL). La miscela risultante è stata agitata a 25 °C per 18 ore. La miscela di reazione è stata versata in NaHCO₃ saturo (50 mL), estratta con EtOAc (2 x 50 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare un prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 4% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (130 mg, 66,5%) come un olio giallo pallido. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 418.

Esempio 22

(S)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one

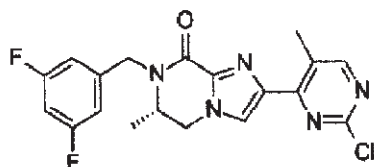


Un precatalizzatore di 3a generazione Brettphos (12,88 mg, 0,02 mmol) è stato aggiunto a 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (94 mg, 0,97 mmol), (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 70; 130 mg, 0,32 mmol) e Cs₂CO₃ (315 mg, 0,97 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 4 ore. Il

solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 7% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo. Il prodotto grezzo è stato purificato ulteriormente mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 μ , 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti acido formico allo 0,1%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 22; 60 mg, 40,1%) come un solido bianco. ^1H NMR (300 MHz, DMSO, 23°C) δ 1,15 (3H, d), 2,60 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,90-4,10 (1H, m), 4,32-4,38 (2H, m), 4,46-4,52 (1H, dd), 5,08 (1H, d), 6,29 (1H, d), 7,12-7,18(3H, m), 7,33(1H, s), 7,93 (1H, s), 8,32 (1H, s), 9,21 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 465.

Intermedio 70

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



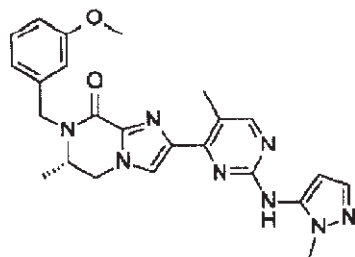
1-(bromometil)-3,5-difluorobenzene (194 mg, 0,94 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-6,7-

B

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 64; 130 mg, 0,47 mmol) e NaH (37,4 mg, 0,94 mmol) in DMF (3 mL) e la miscela risultante è stata agitata a 25°C per 18 ore. La miscela di reazione è stata versata in NaHCO₃ saturo (50 mL), estratta con EtOAc (2 x 50 mL), gli strati organici sono stati essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 4% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 70; 130 mg, 68,8%) come un olio giallo pallido. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20 °C) δ 1,15 (3H, d), 2,64 (3H, s), 4,02 (1H, s), 4,26 - 4,42 (2H, m), 4,47 - 4,57 (1H, m), 5,09 (1H, d), 7,15 (3H, d), 8,27 (1H, s), 8,61 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 404.

Esempio 23

(S)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one

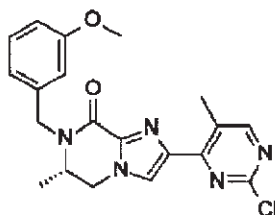


(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 71; 193 mg, 0,49

mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (94 mg, 0,97 mmol), Cs₂CO₃ (474 mg, 1,46 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (44,0 mg, 0,05 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) è stato agitato in un'atmosfera di azoto a 120°C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso mediante distillazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 3 al 5% in DCM, le frazioni contenenti il composto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un solido giallo. Questo solido è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₄HCO₃ allo 0,01%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 23; 81 mg, 36,2%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 22,4 °C) δ 1,12 (3H, d), 2,53 (3H, d), 3,70 (3H, s), 3,76 (3H, s), 3,90 - 3,99 (1H, m), 4,25 - 4,44 (3H, m), 5,09 (1H, d), 6,31 (1H, d), 6,87 (1H, ddd), 6,92 - 7,00 (2H, m), 7,29 (1H, t), 7,34 (1H, d), 7,93 (1H, s), 8,33 (1H, d), 9,22 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 459.

Intermedio 71

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



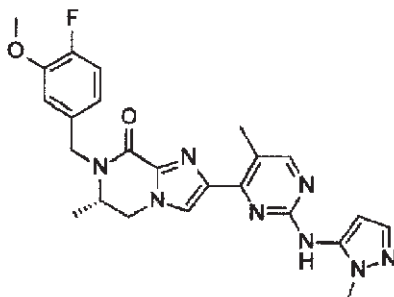
Lotto 1: NaH (8,64 mg, 0,22 mmol) è stato aggiunto (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 64; 20 mg, 0,07 mmol) in DMF (1 mL) a 25°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 25 °C per 30 minuti. 1-(bromometil)-3-metossibenzene (29,0 mg, 0,14 mmol) è stato aggiunto alla miscela di reazione e la soluzione risultante è stata agitata a 25°C per 2 ore. Lotto 2: NaH (56,2 mg, 1,40 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (130 mg, 0,47 mmol) in DMF (3 mL) a 20°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 20 °C per 30 minuti. 1-(bromometil)-3-metossibenzene (188 mg, 0,94 mmol) è stato aggiunto alla miscela di reazione e la soluzione risultante è stata agitata a 20 °C per 2 ore. I 2 lotti di materiale sono stati combinati e ai lotti combinati è stata applicata la seguente procedura: la miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (15 mL) ed estratta con EtOAc (3 x 15 mL). Gli strati organici sono stati combinati e lavati con acqua (2 x 15 mL), salamoia (15 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare un olio giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 3 al 4% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-

B

metilpirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 71; 193 mg, 89%) come un olio giallo. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 23,0 °C) δ 1,29 (3H, d), 2,81 (3H, s), 3,80 - 3,93 (4H, m), 3,98 - 4,13 (1H, m), 4,34 (1H, dd), 5,32 (1H, s), 5,50 (1H, d), 6,84 - 6,99 (3H, m), 7,31 (1H, d), 7,97 (1H, s), 8,45 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 398$.

Esempio 24

(S)-7-(4-fluoro-3-metossibenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one



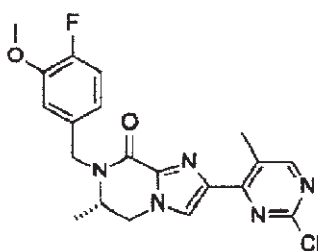
(S)-2-(2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(4-fluoro-3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 72; 205 mg, 0,49 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (96 mg, 0,99 mmol), Cs_2CO_3 (482 mg, 1,48 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (44,7 mg, 0,05 mmol) in 1,4-diossao (5 mL) è stato agitato in un'atmosfera di nitrogen a 120°C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso mediante distillazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 3 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare

B

fino a essiccazione a dare un solido giallo. Questo solido è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 μm , 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH_4HCO_3 allo 0,01%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-(4-fluoro-3-metossibenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 24; 59,0 mg, 25,1%) come un solido bianco. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 22,3 °C) δ 1,13 (3H, d), 2,53 (3H, d), 3,70 (3H, s), 3,85 (3H, s), 3,95 (1H, dd), 4,23 - 4,44 (3H, m), 5,10 (1H, d), 6,31 (1H, d), 6,96 (1H, ddd), 7,14 - 7,24 (2H, m), 7,34 (1H, d), 7,93 (1H, s), 8,33 (1H, d), 9,22 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 477$.

Intermedio 72

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(4-fluoro-3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

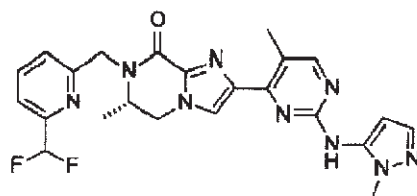


Lotto 1: NaH (56,2 mg, 1,40 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (130 mg, 0,47 mmol) in DMF (3 mL) a 20°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 30 minuti. 4-

(bromometil)-1-fluoro-2-metossibenzene (205 mg, 0,94 mmol) è stato aggiunto alla miscela di reazione e la soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 2 ore. Lotto 2: NaH (8,64 mg, 0,22 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (20 mg, 0,07 mmol) in DMF (1 mL) a 20°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 20 °C per 30 minuti. 4-(bromometil)-1-fluoro-2-metossibenzene (31,6 mg, 0,14 mmol) è stato aggiunto alla miscela di reazione e la soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 2 ore. I 2 lotti di materiale sono stati combinati e ai lotti combinati è stata applicata la seguente procedura: la miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (15 mL) ed estratta con EtOAc (3 x 15 mL). Gli strati organici sono stati combinati e lavati con acqua (2 x 15 mL), salamoia (15 mL), gli strati organici sono stati essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un olio giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 3 al 4% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(4-fluoro-3-metossibenzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (205 mg, 91%) come un olio giallo. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 416.

Esempio 25

(S)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

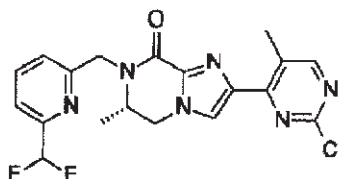


Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (0,541 g, 0,60 mmol) è stato aggiunto a Cs_2CO_3 (11,67 g, 35,81 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (3,48 g, 35,81 mmol) e (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 73; 5 g, 11,94 mmol) in 1,4-diossano (100 mL). La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 4 ore. La miscela di reazione è stata poi filtrata e il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo. Questo residuo è stato purificato ulteriormente mediante cromatografia flash C18, gradiente di eluizione MeCN dal 5 al 40% in acqua (contenente NH_4CO_3 allo 0,1%). Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 25; 3,50 g, 61,1%) come un solido bianco. ^1H NMR (300 MHz, DMSO, 23 °C) δ 1,19 (3H, d), 2,45 (3H, s), 2,61 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,03-4,17 (1H, m), 4,33-4,41 (1H, dd), 4,45-4,520 (2H, m), 5,22 (1H, d), 6,30 (1H, d), 6,97 (1H, t), 7,34 (1H, d), 7,60-7,69 (2H, m), 7,96 (1H, s), 7,97-8,02 (1H, t), 8,33 (1H, s), 9,23 (1H, s); m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 480$.

B

Intermedio 73

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

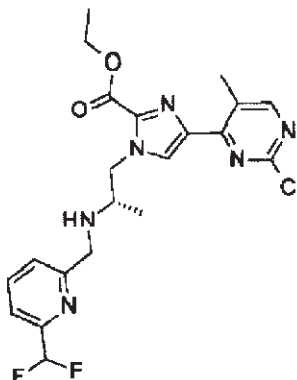


Acetato di sodio (2,047 g, 24,95 mmol) è stato aggiunto a (S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 74; 5,8 g, 12,48 mmol) in etanolo (assoluto, 99,5%, 100 mL). La miscela risultante è stata agitata a 70 °C per 18 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 73; 5,00 g, 96%) come un solido giallo pallido. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 419$.

Intermedio 74

(S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato

B

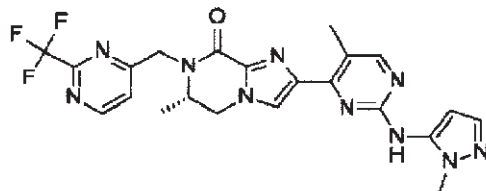


Triacetossiboroidruro di sodio (9,62 g, 45,37 mmol) è stato aggiunto a DIPEA (7,92 mL, 45,37 mmol), (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 65; 6 g, 15,12 mmol), 6-(difluorometil)picolinaldeide (3 g, 19,09 mmol) e acido acetico (2,60 mL, 45,37 mmol) in DCM (100 mL). La miscela risultante è stata agitata a 25 °C per 1 ore. La miscela di reazione è stata versata in NaHCO₃ saturo (300 mL) ed estratta con DCM (2 x 150 mL). Le fasi organiche sono state essiccate su Na₂SO₄ e le sostanze volatili rimosse a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 74; 5,8 g, 82%) come un olio giallo pallido. m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 465.

Esempio 26

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-

6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

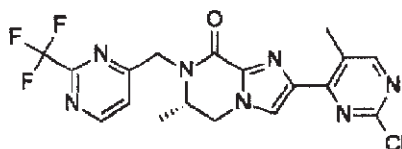


(S)-2-(2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 75; 60 mg, 0,14 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (39,9 mg, 0,41 mmol), Cs₂CO₃ (134 mg, 0,41 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (12,42 mg, 0,01 mmol) in 1,4-diossano (2,5 mL) sono stati agitati in un'atmosfera di azoto a 120°C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso mediante distillazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un solido giallo. Questo solido è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₄HCO₃ allo 0,01%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 26; 21 mg, 30,7%) come un solido giallo chiaro. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25,5 °C) δ 1,44 (3H, d), 2,74 (3H, s), 3,88 (3H, s),

4,21 (1H, dd), 4,30 (1H, t), 4,42 (1H, d), 4,63 (1H, dd), 5,48 (1H, d), 6,38 (1H, d), 7,52 (1H, d), 7,68 (1H, d), 8,09 (1H, s), 8,31 (1H, s), 8,53 (1H, s), 8,90 (1H, d). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 499$.

Intermedio 75

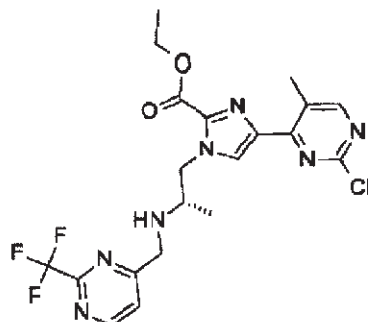
(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



NH_3 (7 N in MeOH, 10 mL) è stato aggiunto a (S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 76; 100 mg, 0,21 mmol) a 20°C sotto aria. La soluzione risultante è stata agitata a 50°C per 16 ore. Il solvente è stato poi rimosso mediante distillazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 75; 60 mg, 66,3%) come un olio incolore. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 438$.

Intermedio 76

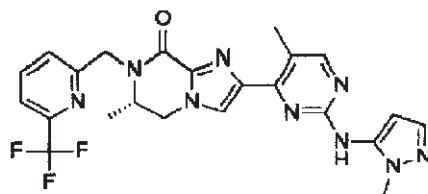
(S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato



2-(trifluorometil)pirimidin-4-carbaldeide (147 mg, 0,83 mmol) è stata aggiunta a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 65; 250 mg, 0,69 mmol) in DCM (10 mL) sotto aria. La soluzione risultante è stata agitata a 40 °C per 12 ore. È stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (441 mg, 2,08 mmol) e la soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 12 ore. La reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (5 mL) ed estratta con DCM (5 x 10 mL). Le fasi organiche sono state essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare un olio giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 2 al 4% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((2-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)ammino)propil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 76; 110 mg, 32,8%) come un olio incolore. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 484.

Esempio 27

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



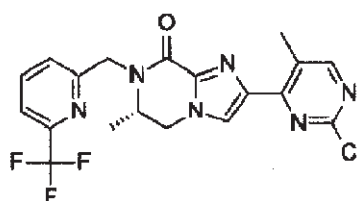
Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (11,90 mg, 0,01 mmol) è stato aggiunto a 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (87 mg, 0,89 mmol), Cs₂CO₃ (291 mg, 0,89 mmol) e (*S*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 77; 130 mg, 0,30 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 4 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM, le frazioni contenenti il prodotto sono state fatte evaporare a dare un solido. Questo solido è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti acido formico allo 0,1%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*S*)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 27; 100 mg, 67,5%) come un solido bianco. ¹H NMR (300 MHz, DMSO, 23 °C) δ 1,20 (3H, d), 2,56 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,05-4,18 (1H, m), 4,37-4,41 (1H, m), 4,51-4,60 (2H, m), 5,212 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,34 (1H, d),

B

7,76-7,83 (2H, m), 7,96 (1H, s), 8,06-8,11 (1H, m), 8,32 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 498.

Intermedio 77

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



(S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-

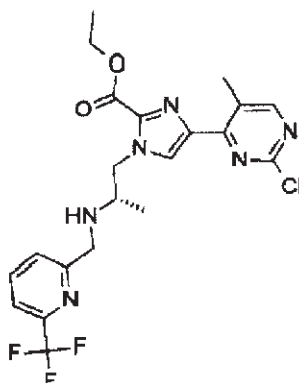
(trifluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-

carbossilato (Intermedio 78; 140 mg, 0,29 mmol) è stato aggiunto a una soluzione (10 mL) di NH₃ (7 N in MeOH) e la miscela risultante è stata agitata a 50°C per 5 ore. Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta.

Questo ha dato (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 77; 110 mg, 87%) come solido bianco. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 437.

Intermedio 78

(S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato

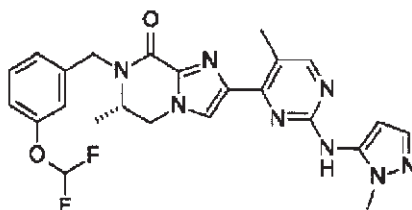


6-(trifluorometil)picolinaldeide (110 mg, 0,63 mmol) è stata aggiunta a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 64; 250 mg, 0,63 mmol) in DCM (15 mL) e la miscela risultante è stata agitata a 40°C per 4 ore. Dopo essere stata raffreddata fino a temperatura ambiente, è stato aggiunto triacetossiboroidruro di sodio (267 mg, 1,26 mmol) e la reazione è stata agitata per 1 ora. La reazione è stata poi sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (50 mL) ed estratta con DCM (2 x 50 mL). Gli strati organici sono stati essiccati su Na₂SO₄, filtrati e fatti evaporare a dare un olio giallo pallido. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(trifluorometil)piridin-2-il)methyl)ammino)propil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 78; 140 mg, 46%) come un olio giallo pallido. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 483.

Esempio 28

(S)-7-(3-difluorometossi)benzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-

metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one

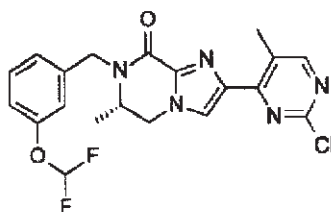


Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (11,99 mg, 0,01 mmol) è stato aggiunto a 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (87 mg, 0,90 mmol), (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometossi)benzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 79, 130 mg, 0,30 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) sotto azoto e la miscela risultante è stata agitata a 100°C per 4 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 7% in DCM, le frazioni contenenti il prodotto sono state fatte evaporare a dare un solido. Questo solido è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti 0,1) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-(3-(difluorometossi)benzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 28; 80 mg, 54%) come un solido bianco. ¹H NMR (300 MHz, DMSO, 23 °C) δ 1,11(3H, d), 2,60 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,90-4,10

(1H, m), 4,31-4,45 (3H, m), 5,10 (1H, d), 6,29 (1H, d), 7,00-7,50 (4H, m), 7,92 (1H, s), 7,83 (1H, s), 8,21 (1H, s), 8,32 (1H, s), 9,21 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 495.

Intermedio 79

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometossi)benzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



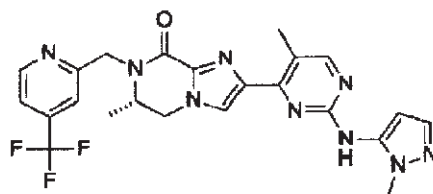
3-(difluorometossi)benzaldeide (108 mg, 0,63 mmol) è stata aggiunta a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 64; 250 mg, 0,63 mmol) in DCM (15 mL) e la miscela risultante è stata agitata a 40°C per 4 ore. In seguito è stato aggiunto triacetossiboroidruro di sodio (267 mg, 1,26 mmol) e la reazione è stata agitata per un'altra ora. La miscela di reazione è stata poi versata in NaHCO₃ saturo (50 mL) ed estratta con DCM (2 x 50 mL). Le fasi organiche combinate sono state essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare il prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un solido bianco. Questo solido è stato poi trattato con NH₃ (7 N in MeOH, 15,00 mL) e riscaldato per 5 ore a 50°C. Le sostanze volatili sono state poi rimosse

B

a pressione ridotta a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometossi)benzil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (130 mg, 47,5%) come un olio giallo chiaro. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 434$.

Esempio 29

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

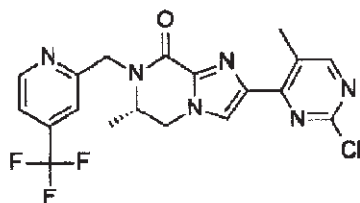


Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (31,1 mg, 0,03 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 80; 300 mg, 0,69 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (167 mg, 1,72 mmol) e Cs_2CO_3 (448 mg, 1,37 mmol) in 1,4-diossano (8 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni contenenti il composto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 μm , 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo

decescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 28; 141 mg, 41,3%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20 °C) δ 1,21 (3H, d), 2,52 (3H, s), 3,71 (3H, s), 4,13 (1H, dd), 4,37 (1H, dd), 4,52 (1H, dd), 4,58 (1H, d), 5,26 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,34 (1H, d), 7,71 (1H, d), 7,82 (1H, s), 7,95 (1H, s), 8,33 (1H, s), 8,84 (1H, d), 9,24 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 498.

Intermedio 80

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



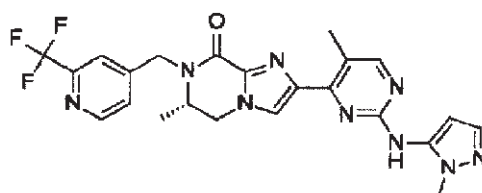
4-(trifluorometil)picolinaldeide (136 mg, 0,78 mmol) è stata aggiunta a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 64; 280 mg, 0,71 mmol), DIPEA (0,37 mL, 2,12 mmol) e AcOH (0,121 mL, 2,12 mmol) in DCM (10 mL) a 25°C sotto azoto. Dopo agitazione a 25°C per 1 ora, è stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (449 mg, 2,12 mmol) e la miscela risultante è stata agitata a 25 °C per 2 ore e poi riscaldata a

B

50°C per 8 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (20 mL) ed estratta con DCM (2 x 75 mL). Lo strato organico combinato è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((4-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 80; 300 mg, 97%) come un solido giallo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20 °C) δ 1,60 (3H, s), 2,79 (3H, s), 4,07 - 4,20 (1H, m), 4,26 (1H, s), 4,36 - 4,45 (1H, m), 4,50 (1H, dd), 5,54 (1H, d), 7,49 (1H, d), 7,72 (1H, s), 8,00 (1H, s), 8,45 (1H, s), 8,75 (1H, d).

Esempio 30

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((2-(trifluorometil)piridin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



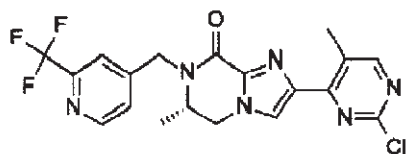
Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (31,1 mg, 0,03 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)piridin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 81; 300 mg, 0,69 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (167 mg, 1,72 mmol) e Cs₂CO₃ (448 mg, 1,37 mmol) in 1,4-diossano (8

mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 5 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni contenenti il composto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo.

Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((2-(trifluorometil)piridin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 30; 200 mg, 58,5%) come un solido bianco. ¹H NMR (300 MHz, DMSO, 23 °C) δ 1,18 (3H, d), 2,61 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,00-4,13 (1H, m), 4,30-4,40 (1H, d), 4,45-4,60 (2H, m), 5,18 (1H, d), 6,30 (1H, s), 6,20 (1H, d), 7,73 (1H, d), 7,91 (1H, s), 7,96 (1H, s), 8,33 (1H, s), 8,73 (1H, d), 9,23 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 498.

Intermedio 81

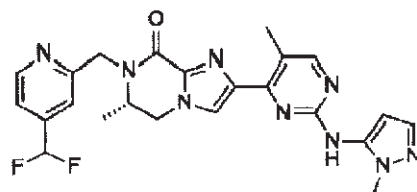
(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)piridin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



2-(trifluorometil)isonicotinaldeide (170 mg, 0,97 mmol) è stata aggiunta a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 64; 350 mg, 0,88 mmol), DIPEA (0,462 mL, 2,65 mmol) e AcOH (0,152 mL, 2,65 mmol) in DCM (15 mL) a 25°C sotto azoto. Dopo agitazione a 25°C per 1 ora, è stato aggiunto triacetossiboroidruro di sodio (561 mg, 2,65 mmol) e la miscela risultante è stata agitata a 25 °C per 1 ora e riscaldata a 50°C per 18 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (50 mL) ed estratta con DCM (2 x 75 mL). Le fasi organiche sono state essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((2-(trifluorometil)piridin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (320 mg, 83%) come un olio giallo. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 437.

Esempio 31

(S)-7-((4-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one

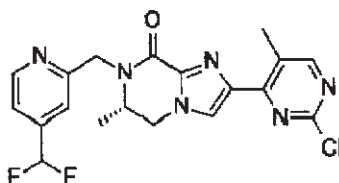


Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (51,9 mg, 0,06 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((4-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 82; 240 mg, 0,57 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (111 mg, 1,15 mmol) e Cs₂CO₃ (373 mg, 1,15 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) a 25 °C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 120 °C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso mediante distillazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 4 al 6% in DCM. Le frazioni contenenti il prodotto sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un solido. Questo solido è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₄HCO₃ allo 0,05%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-7-((4-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 31; 92 mg, 33,5%) come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20,2 °C) δ 1,36 (3H, d), 2,69 (3H, s), 3,82 (3H, s), 4,09 (1H, dd), 4,22 (1H, tt), 4,37 - 4,49 (2H, m), 5,50 (1H, d),

6,31 (1H, d), 6,64 (1H, t), 7,01 (1H, s), 7,36 - 7,43 (1H, m), 7,50 (1H, d), 7,61 (1H, s), 7,75 (1H, s), 8,29 (1H, s), 8,69 (1H, d). m/z (ES+), $[M+H]^+$ = 480.

Intermedio 82

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((4-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

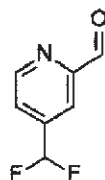


4-(difluorometil)picolinaldeide (intermedio 83; 154 mg, 0,98 mmol) è stata aggiunta a (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 64; 300 mg, 0,76 mmol), DIPEA (0,396 mL, 2,27 mmol) e AcOH (0,130 mL, 2,27 mmol) in DCM (10 mL) a 25°C sotto azoto. Dopo agitazione a 25°C per 0,5 ora, è stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (481 mg, 2,27 mmol) e la reazione è stata agitata a 25°C per 0,5 ore e riscaldata a 50°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (20 mL) ed estratta con DCM (2 x 75 mL). Le fasi organiche sono state essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 3 al 4% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((4-

(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 82; 240 mg, 76%) come un solido giallo. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 20,5 °C) δ 1,37 (3H, d), 2,79 (3H, d), 4,10 (1H, dd), 4,25 (1H, tdd), 4,35 - 4,53 (2H, m), 5,50 (1H, d), 6,64 (1H, t), 7,33 - 7,47 (1H, m), 7,61 (1H, s), 7,99 (1H, s), 8,44 (1H, d), 8,69 (1H, dd). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 419$.

Intermedio 83

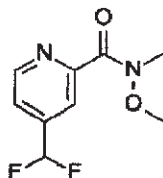
4-(difluorometil)picolinaldeide



LiAlH_4 (0,274 g, 7,22 mmol) è stato aggiunto a 4-(difluorometil)-*N*-metossi-*N*-metilpicolinammide (Intermedio 84; 1,2 g, 5,55 mmol) in THF (10 mL) raffreddato fino a -78°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a -78°C per 20 minuti. È stato aggiunto EtOAc (1 mL), in seguito la reazione è stata sottoposta a quenching con acqua (0,3 mL) a -78°C . È stata aggiunta una soluzione acquosa di NaOH al 15% (1,5 mL), ulteriore acqua (0,3 mL) e i solidi risultanti sono stati rimossi mediante filtrazione. Il filtrato è stato essiccato su Na_2SO_4 , filtrato e fatto evaporare a dare 4-(difluorometil)picolinaldeide (Intermedio 83; 1,09 g) come un olio verde. Il prodotto è stato utilizzato nel passaggio successivo direttamente senza ulteriore purificazione. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 158$.

Intermedio 84

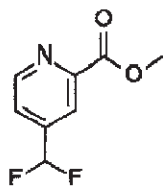
4-(difluorometil)-*N*-metossi-*N*-metilpicolinammide



Trimetilalluminio (2 M in *n*-esano, 40,1 mL, 80,15 mmol) è stato aggiunto a *N,O*-dimetilidrossilammina cloridrato (6,25 g, 64,12 mmol) in DCM (80 mL) a 0°C in un periodo di 20 minuti sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 0 °C per 20 minuti. Metil 4-(difluorometil)picolinato (Intermedio 85; 3,0 g, 16,03 mmol) in DCM (20 mL) è stato aggiunto alla miscela di reazione a 0°C e la soluzione risultante è stata agitata a 0°C per 2 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaOH 2 M (50 mL) a 0°C ed estratta con DCM (3 x 100 mL). Le fasi organiche sono state essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare un olio giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc dal 30 al 40% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 4-(difluorometil)-*N*-metossi-*N*-metilpicolinammide (Intermedio 84; 2,47 g, 71,3%) come un olio giallo. ¹H NMR (400 MHz, MeOD, 20,3 °C) δ 3,42 (3H, s), 3,73 (3H, s), 6,94 (1H, t), 7,65 - 7,72 (1H, m), 8,75 - 8,82 (1H, m). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 217.

Intermedio 85

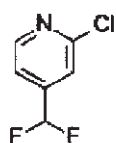
Metil 4-(difluorometil)picolinato



2-cloro-4-(difluorometil)piridina (Intermedio 86; 6,9 g, 42,19 mmol), acetato di potassio (8,28 g, 84,38 mmol) e Pd(dppf)Cl₂ (1,543 g, 2,11 mmol) in MeOH (150 mL) sono stati agitati in un'atmosfera di CO a 10 atm a 70°C per 24 ore. La miscela è stata poi filtrata e il filtrato è stato fatto evaporare a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc dal 20 al 30% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare metil 4-(difluorometil)picolinato (Intermedio 85; 6,30 g, 80%) come un olio giallo. ¹H NMR (400 MHz, MeOD, 20,1 °C) δ 4,03 (3H, s), 6,98 (1H, t), 7,79 - 7,86 (1H, m), 8,30 (1H, dd), 8,86 (1H, dd). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 188.

Intermedio 86

2-cloro-4-(difluorometil)piridina



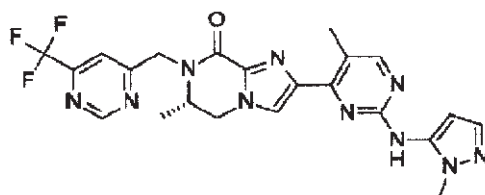
DAST (20,53 mL, 155,42 mmol) è stato aggiunto goccia a goccia a 2-cloroisonicotinaldeide (10 g, 70,64 mmol) in DCM (150 mL) a 0°C in un periodo di 10 minuti sotto azoto. La temperatura è stata aumentata fino a temperatura ambiente e agitata per 12 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching e regolata fino a pH 7-8 con NaHCO₃ saturo a 0°C. La fase acquosa è stata estratta con DCM (3 x

B

150 mL), le fasi organiche essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare un olio giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc dal 5 al 10% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 2-cloro-4-(difluorometil)piridina (Intermedio 86; 7,00 g, 60,6%) come un olio giallo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20,5 °C) δ 6,65 (1H, t), 7,38 (1H, dd), 7,49 (1H, s), 8,55 (1H, dd). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 164.

Esempio 32

(S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



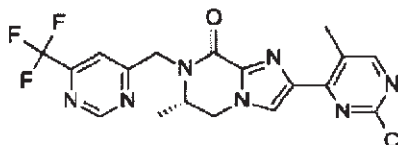
Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (12,42 mg, 0,01 mmol) è stato aggiunto a (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 87; 120 mg, 0,27 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (66,5 mg, 0,69 mmol) e Cs₂CO₃ (179 mg, 0,55 mmol) in 1,4-diossano (4 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni

B

pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Questo residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 32; 60 mg, 43,9%) come un solido bianco. ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 1,25 (d, 3H), 3,71 (s, 3H), 4,14 - 4,21 (m, 1H), 4,34 - 4,46 (m, 1H), 4,56 - 4,71 (m, 2H), 5,27 (d, 1H), 6,32 (d, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,98 (s, 1H), 8,13 (d, 1H), 8,34 (s, 1H), 9,24 (s, 1H), 9,41 (s, 1H). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 499.

Intermedio 87

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

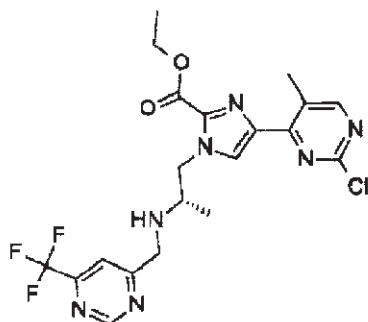


Acetato di sodio (212 mg, 2,58 mmol) è stato aggiunto a (S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)ammino)propil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 88; 250 mg, 0,52 mmol) in EtOH (5 mL) e la miscela risultante è stata agitata a 80°C per 20 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il

prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 87; 120 mg, 53,1%) come un solido giallo pallido. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 20,5 °C) δ 1,45 (d, 3H), 2,79 (s, 3H), 4,43 (d, 1H), 4,15-4,25 (m 1H), 4,60 (dd, 1H), 5,50 (d, 1H), 7,82 (d, 1H), 8,03 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 9,34 (s, 1H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 438$.

Intermedio 88

(S)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)ammino)propil)-1H-imidazol-2-carbossilato



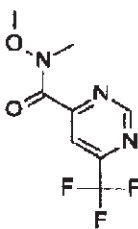
Cp_2ZrHCl (492 mg, 1,91 mmol) è stato aggiunto a *N*-metossi-*N*-metil-6-(trifluorometil)pirimidin-4-carbossammide (Intermedio 89; 300 mg, 1,28 mmol) in THF (10 mL) sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 25°C per 20 minuti e poi usata direttamente. Sono stati aggiunti triacetossiboroidruo di sodio (385 mg, 1,81 mmol), acido acetico (0,104 mL, 1,81 mmol), (S)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-

B

metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 64; 240 mg, 0,60 mmol) e DIPEA (0,317 mL, 1,81 mmol) in DCM (15 mL) e la miscela risultante è stata agitata a 25°C per 1 ora. Inoltre è stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (385 mg, 1,81 mmol) e agitato per un'altra ora. La miscela di reazione è stata poi versata in NaHCO₃ saturo (75 mL) ed estratta con DCM (3 x 25 mL). Le fasi organiche sono state essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione DCM da 0 al 5% in MeOH. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*S*)-etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1-(2-(((6-(trifluorometil)pirimidin-4-il)metil)ammino)propil)-1*H*-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 88; 250 mg, 85%) come un solido giallo pallido. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 484.

Intermedio 89

***N*-metossi-*N*-metil-6-(trifluorometil)pirimidin-4-carbossamide**

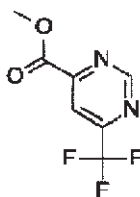


Trimetilalluminio (2 M in *n*-esano, 72,8 mL, 145,54 mmol) è stato aggiunto goccia a goccia a *N,O*-dimetilidrossilammina cloridrato (10,65 g, 109,16 mmol) in DCM (150 mL) a 0°C in un periodo di 20 minuti sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 0 °C per 20

minuti. Metil 6-(trifluorometil)pirimidin-4-carbossilato (Intermedio 90; 7,5 g, 36,39 mmol) in DCM (70 mL) è stato aggiunto goccia a goccia alla miscela di reazione a 0°C. La miscela di reazione è stata poi agitata per 1 ora a 0°C. La reazione è stata sottoposta a quenching con NaOH 2 M (100 mL) ed estratta con DCM (3 x 150 mL). Le fasi organiche sono state essiccate su Na₂SO₄, filtrate e fatte evaporare a dare un olio giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da 0 al 25% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare *N*-metossi-*N*-metil-6-(trifluorometil)pirimidin-4-carbossamide (Intermedio 89; 5,63 g, 65,8%) come un olio giallo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 20,2 °C) δ 3,42 (3H, s), 3,79 (3H, s), 7,90 (1H, s), 9,41 - 9,47 (1H, m). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 236.

Intermedio 90

Metil 6-(trifluorometil)pirimidin-4-carbossilato



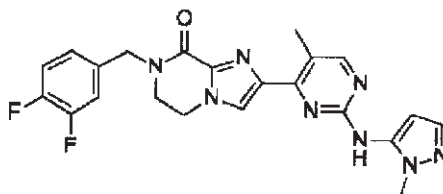
4-cloro-6-(trifluorometil)pirimidin (10 g, 54,79 mmol), acetato di potassio (10,75 g, 109,57 mmol) e Pd(dppf)Cl₂ (2,00 g, 2,74 mmol) in MeOH (300 mL) sono stati agitati in un'atmosfera di CO a 10 atm e 70°C per 6 ore. La miscela è stata filtrata e il filtrato è stato fatto evaporare a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione EtOAc da

B

0 al 20% in etere di petrolio. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare metil 6-(trifluorometil)pirimidin-4-carbossilato (Intermedio 90; 7,86 g, 69,6%) come un solido giallo. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 20,3 °C) δ 4,11 (3H, s), 8,37 (1H, d), 9,55 - 9,61 (1H, m). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 207$.

Esempio 33

7-(3,4-difluorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one

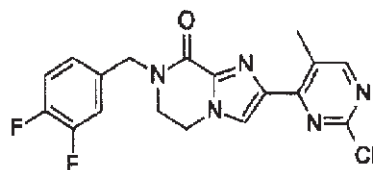


Un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (78 mg, 0,09 mmol) è stato aggiunto a 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 91; 340 mg, 0,87 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (169 mg, 1,74 mmol) e Cs_2CO_3 (568 mg, 1,74 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) a 25°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 100 °C per 12 ore. Il solvente è stato poi rimosso mediante distillazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 3 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un solido. Questo solido è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 μm , 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari

di acqua (contenenti NH_4HCO_3 allo 0,05%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare 7-(3,4-difluorobenzil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 33; 89 mg, 22,6%) come un solido bianco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 20,1 °C) δ 2,68 (3H, d), 3,68 - 3,76 (2H, m), 3,80 (3H, s), 4,25 - 4,33 (2H, m), 4,77 (2H, s), 6,29 (1H, d), 6,90 (1H, s), 7,07 - 7,28 (3H, m), 7,49 (1H, d), 7,69 (1H, s), 8,29 (1H, d). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 451.

Intermedio 91

2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

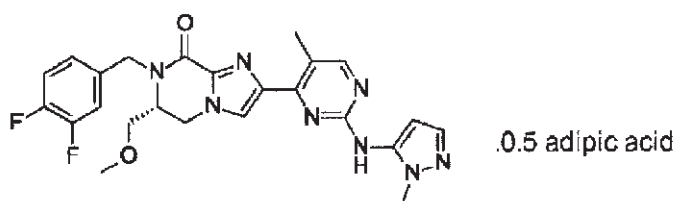


NaH (91 mg, 2,28 mmol) è stato aggiunto a 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 48; 200 mg, 0,76 mmol) in DMF (5 mL) a 25°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 25 °C per 30 minuti. È stato aggiunto 4-(bromometil)-1,2-difluorobenzene (314 mg, 1,52 mmol) e la soluzione risultante è stata agitata a 25°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata versata in acqua (50 mL), il precipitato è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con acqua (50 mL) ed essiccato sotto vuoto a dare 2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 91; 340 mg) come un solido giallo, che è stato usato direttamente con ulteriore purificazione. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 19,9 °C) δ 2,64 (3H, s), 3,74 - 3,82 (2H, m), 4,36 - 4,44 (2H, m), 4,70 (2H, s), 7,37 - 7,51 (3H, m), 8,26 (1H, s), 8,61 (1H, s). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 390$.

Esempio 34

Preparazione di addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one adipico, Forma 1



"0.5 adipic acid" = 0,5 di acido adipico

50 mg di (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 18) sono stati disciolti in circa 0,5 mL di metanolo. Per favorire la dissoluzione è stata usata una pistola termica. 16 mg di acido adipico sono stati disciolti in circa 0,5 ml di metanolo.

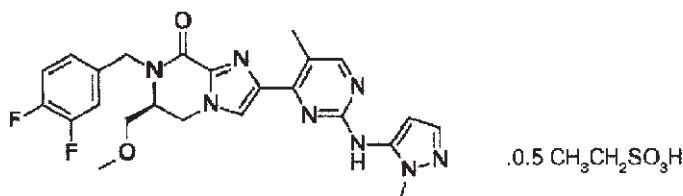
Per favorire la dissoluzione è stata usata una pistola termica. La soluzione di (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one è stata poi aggiunta lentamente alla soluzione di acido adipico. Questa è rimasta come una soluzione. È stata aggiunta

una barra di agitatore magnetico e la soluzione è stata lasciata agitare a temperatura ambiente. Dopo circa 15 minuti è stato notato un precipitato. Sono stati aggiunti ulteriori volumi di metanolo fino a quando non è stato ottenuto un precipitato che fluiva liberamente e il precipitato è stato lasciato agitare per tutta la notte. Il precipitato è stato poi filtrato a dare un addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico (Esempio 34), Forma 1, in un rapporto molare 1:2 di acido adipico:(R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one come determinato mediante ¹H NMR. ¹H NMR (500 MHz, Metanolo-*d*₄, 27 °C) δ 8,24 (1H, s), 7,82 (1H, s), 7,41 (1H, d), 7,35 (1H, ddd), 7,28 - 7,20 (3H, m), 6,31 (1H, d), 5,18 (1H, d), 4,52 - 4,39 (3H, m), 4,03 - 4,00 (1H, m), 3,73 (3H, s), 3,46 - 3,43 (1H, m), 3,39 - 3,35 (1H, m), 3,23 (3H, s), 2,53 (3H, s), 2,30 (2H, m), 1,63 (2H, m), protoni di acido carbossilico intercambiabili non osservati. Il campione è stato analizzato mediante XRPD (si veda la Figura 3) e DSC (si veda la Figura 4). L'addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico Forma 1 è risultato essere cristallino mediante XRPD e aveva un punto di fusione di 185,4°C (inizio).

Esempio 35

Preparazione dell'addotto di acido etansolfonico di (S)-7-

(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 35a; 2,2 g, 5,07 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (0,754 g, 7,61 mmol) e carbonato di cesio (3,30 g, 10,14 mmol) sono stati disciolti in 2-MeTHF (25 mL) e acqua (2,5 mL) e degassati con azoto. Sono stati aggiunti 2'-(dicicloesilfosfanil)-N,N-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-ammina (0,160 g, 0,41 mmol) e Pd₂dba₃ (0,186 g, 0,20 mmol) e la miscela ulteriormente degassata con azoto. La reazione è stata poi riscaldata a 80°C per 24 ore. La reazione è stata raffreddata fino a temperatura ambiente e sono stati ulteriormente aggiunti 2'-(dicicloesilfosfanil)-N,N-dimetil-[1,1'-bifenil]-2-ammina (0,160 g, 0,41 mmol) e Pd₂dba₃ (0,186 g, 0,20 mmol) e la reazione degassata con azoto. La reazione è stata poi agitata a 80°C per 16 ore. È stato aggiunto silicido (1,2 g, SiliaMetS tiolo) e la reazione raffreddata fino a temperatura ambiente. La miscela di reazione è stata filtrata attraverso celite lavando con EtOAc. La reazione è stata estratta con etil acetato, lavata con acido citrico acquoso (0,5 M) e bicarbonato di sodio saturo. Le sostanze volatili sono state poi rimosse a pressione ridotta. La purificazione mediante

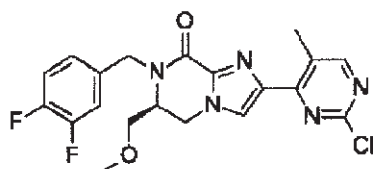
cromatografia a fluido supercritico preparativa (colonna Kromasil DIOL, 250 mm x 50 mm, 10 μ m, fase mobile EtOH/NH₃ al 25% 100/0,5 in CO₂, 140 bar) ha dato (S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (1,38 g) che è stato usato senza ulteriore purificazione nella fase successiva. (S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (1,3 g, 1,93 mmol) della precedente fase è stato disciolto in acetonitrile (2 mL) e riscaldato fino a 66°C. In seguito è stato aggiunto acido etansolfonico (0,22 mL, 2,63 mmol) in acetonitrile (2 mL). La reazione è stata poi agitata a temperatura ambiente per 1 ora. È stato osservato un precipitato. Inoltre è stato aggiunto acetonitrile (3 mL) e il precipitato è stato filtrato, lavato con acetonitrile (3 mL) ed essiccato sotto vuoto per 66 ore a dare l'addotto etansolfonico di (S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (0,41 g). Il filtrato è stato fatto evaporare a pressione ridotta e sono stati aggiunti acetonitrile (3 mL) e MTBE (2 mL). Il precipitato risultante è stato filtrato ed essiccato sotto vuoto a dare un ulteriore addotto etansolfonico di (S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (0,73 g). I 2 lotti sono stati combinati a dare l'addotto di acido etansolfonico di (S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-

B

pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 35; 1,14 g, 72%) in un rapporto molare 1:2 di acido etan solfonico:(S)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one come determinato mediante ¹H NMR. ¹H NMR (500 MHz, DMSO, 27 °C) 1,08 (1,5H, t), 2,42 (1H, q), 2,52 (3H, m), 3,18 (3H, s), 3,32 (1H, dd), 3,41 (1H, dd), 3,73 (3H, s), 4,05 (1H, dtd), 4,39 (1H, d), 4,43 - 4,56 (2H, m), 5,09 (1H, d), 6,38 (1H, d), 7,19 - 7,32 (1H, m), 7,38 - 7,45 (2H, m), 7,48 (1H, ddd), 7,98 (1H, s), 8,36 (1H, d), 9,38 (1H, s). *m/z* (ES+) [M+H]⁺ 495.

Intermedio 35a

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



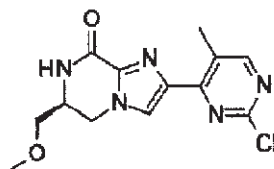
(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 35b; 1,8 g, 5,85 mmol) e Cs₂CO₃ (2,67 g, 8,19 mmol) sono stati messi in sospensione in acetonitrile (20 mL) e riscaldati fino a 70°C sotto azoto. 4-(bromometil)-1,2-difluorobenzene (1,48 g, 7,02 mmol) in acetonitrile (3 mL) è stato aggiunto mediante siringa allo slurry e la reazione è stata agitata a 70°C per 23 ore. Le sostanze volatili sono state poi rimosse a pressione ridotta ed etil acetato (30 mL) ed è stata poi aggiunta acqua (20 mL) al

B

residuo. Le fasi sono state separate, la fase acquosa è stata estratta con etil acetato (2 x 20 mL). Le fasi organiche sono state combinate e le sostanze volatili rimosse a pressione ridotta. Il solido risultante è stato sospeso in eptano/MTBE (4:1, 30 mL) e agitato a 50°C per 2 ore. Il solido è stato rimosso per filtrazione ed essiccato a pressione ridotta a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 35a; 2,36 g, 93%) come un solido. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25 °C) δ 2,77 (3H, s), 3,28 (4H, s), 3,38 (1H, dd), 3,81 (1H, m), 4,22 (2H, m), 4,41 (1H, dd), 5,37 (1H, d), 7,10 - 7,26 (3H, m), 7,94 (1H, s), 8,42 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 434.

Intermedio 35b

(S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



Etil 4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato (Intermedio 23; 2 g, 7,42 mmol) e K₂CO₃ (1,23 g, 8,91 mmol) sono stati sospesi in 1,4-diossano (20 mL) e acetone (20 mL). È stato aggiunto *terz*-butil (R)-4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido (Intermedio 35c; 2,18 g, 8,17 mmol) in acetone (15 mL) a temperatura ambiente per 3 giorni. La miscela è stata filtrata attraverso celite e i solidi risciacquati con acetone (15 mL). Il filtrato è stato poi

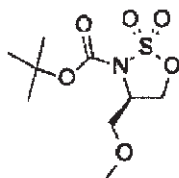
B

concentrato a un volume totale di (10 mL). È stata aggiunta una soluzione di HCl (5M in isopropanolo, 10,39 mL) e la reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 16 ore. È stata aggiunta lentamente trietilammina (10,33 mL, 74,24 mmol) seguita da isopropanolo (15 mL) a dare una sospensione. La reazione è stata poi riscaldata a 50 °C per 3 ore. È stata aggiunta acqua (40 mL) che ha determinato una sospensione fine. La sospensione è stata agitata a 50°C per 30 minuti e poi a temperatura ambiente per 16 ore. Il precipitato è stato poi filtrato e lavato con acetone al 50% in acqua (2 x 25 mL) ed essiccato a pressione ridotta a 40°C per 4 giorni a dare (S)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 35b; 1,95 g, 85%) come un solido. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20 °C) δ 2,61 (s, 3H), 3,26 (s, 3H), 3,33 - 3,45 (m, 2H), 3,99 (br s, 1H), 4,30 (dd, 1H), 4,44 (dd, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,42 (d, 1H), 8,58 (s, 1H). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 308.

L'Intermedio 35c è realizzato in modo analogo all'Intermedio 57 partendo da (S)-*terz*-butil (1-idrossi-3-metossiopropan-2-il)carbammato

Intermedio 35c

terz-butil (R)-4-(metossimetil)-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido



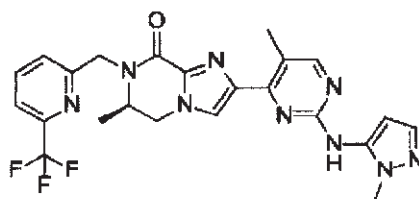
¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 1,54 (s, 9H), 3,40 (s, 3H), 3,61 (d,

B

2H), 4,46 (qd, 1H), 4,60 (dd, 1H), 4,68 (dd, 1H). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 268.

Esempio 36

(R)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

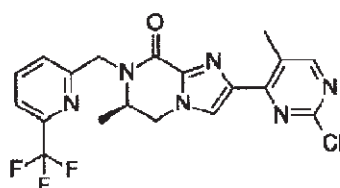


(R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometile)piridin-2-il)metile)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 91; 187 mg, 0,43 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (104 mg, 1,07 mmol), Cs₂CO₃ (279 mg, 0,86 mmol) e un precatalizzatore di 2a generazione XantPhos (38,0 mg, 0,04 mmol) in 1,4-diossano (5 mL) è stato agitato in un'atmosfera di azoto a 110°C per 16 ore. Il solvente è stato rimosso mediante distillazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 3 al 5% in DCM. Il prodotto è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), utilizzando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₄HCO₃ allo 0,01%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (R)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-

diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (112 mg, 52,6%) come un solido bianco. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 20,9 °C) δ 1,22 (3H, d), 2,52 (3H, s), 3,35 (1H, s), 3,71 (3H, s), 4,13 (1H, ddd), 4,40 (1H, dd), 4,51 - 4,63 (2H, m), 5,22 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,34 (1H, d), 7,78 (1H, d), 7,84 (1H, d), 7,97 (1H, s), 8,10 (1H, t), 8,33 (1H, d), 9,24 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 498$.

Intermedio 92

(R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



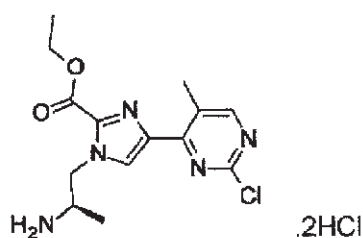
6-(trifluorometil)picolinaldeide (126 mg, 0,72 mmol) è stata aggiunta a (R)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1H-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 93; 260 mg, 0,66 mmol), DIPEA (0,343 mL, 1,97 mmol) e AcOH (0,113 mL, 1,97 mmol) in DCM (10 mL) a 25°C sotto azoto. La soluzione risultante è stata agitata a 25 °C per 20 minuti. Triacetossiboroidruro di sodio (417 mg, 1,97 mmol) è stato aggiunto alla miscela di reazione e la soluzione risultante è stata agitata a 25°C per 1 ora e poi a 50°C per 12 ore. La miscela di reazione è stata versata in acqua (10 mL), estratta con DCM (3 x 15 mL), lo strato organico è stato essiccato su Na_2SO_4 , filtrato e fatto evaporare a dare un olio giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato

B

mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH dal 3 al 4% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-metil-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 92; 187 mg, 65,3%) come un olio incolore. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 437.

Intermedio 93

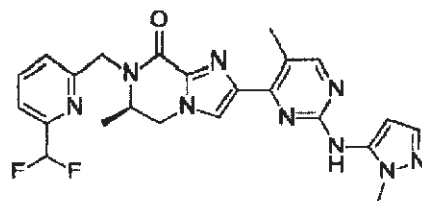
(*R*)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato



L'Intermedio 93 è stato preparato in modo analogo all'Intermedio 65, usando (*R*)-*terz*-butil 4-metil-1,2,3-ossatiazolidin-3-carbossilato 2,2-diossido. L'Intermedio 93 ha mostrato i seguenti dati analitici. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 22 °C) δ 1,27 (3H, d), 1,36 (3H, t), 2,64 (3H, s), 3,57 (3H, s), 3,74 (1H, s), 4,33 - 4,44 (2H, m), 4,58 - 4,75 (2H, m), 8,33 (3H, s), 8,47 (1H, s), 8,64 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 324.

Esempio 37

(*R*)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one

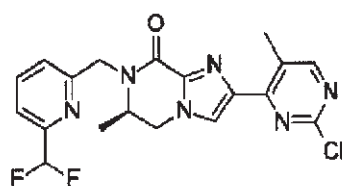


Un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (60,6 mg, 0,07 mmol) è stato aggiunto a (R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 94; 280 mg, 0,67 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (162 mg, 1,67 mmol) e Cs₂CO₃ (436 mg, 1,34 mmol) in 1,4-diossano (10 mL) a 25°C sotto azoto. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 8 ore. Il solvente è stato poi rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 6% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare un residuo giallo. Il residuo è stato ulteriormente purificato mediante HPLC preparativa (colonna XSelect CSH Prep C18 OBD, silice 5 µm, 19 mm di diametro, 150 mm di lunghezza), usando in modo decrescente miscele polari di acqua (contenenti NH₃ allo 0,03%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (R)-7-(6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 37; 119 mg, 37,1%) come un solido. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 20 °C) δ 1,20 (3H, d), 2,51 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,10 (1H, d), 4,34 - 4,43 (1H, m), 4,47 - 4,61 (2H, m), 5,21 (1H, d), 6,30 (1H, d), 6,97 (1H, t), 7,34 (1H, d), 7,59 -

7,66 (2H, m), 7,94 - 8,04 (2H, m), 8,33 (1H, s), 9,23 (1H, s). *m/z* (ES+) [M+H]⁺ 480.

Intermedio 94

(*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one

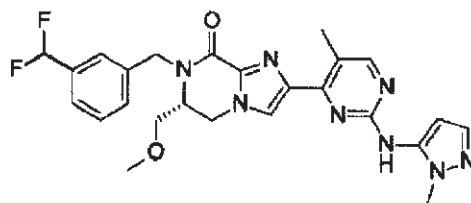


6-(difluorometil)picolinaldeide (214 mg, 1,36 mmol) è stata aggiunta a (*R*)-etil 1-(2-amminopropil)-4-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-1*H*-imidazol-2-carbossilato dicloridrato (Intermedio 93; 270 mg, 0,68 mmol), DIPEA (0,357 mL, 2,04 mmol) e AcOH (0,117 mL, 2,04 mmol) in DCM (10 mL) a 25°C sotto azoto. Dopo agitazione a 25°C per 1 ora, è stato aggiunto triacetossiboroidruro di sodio (433 mg, 2,04 mmol) e la miscela risultante è stata agitata a 25 °C per 1 ora e riscaldata a 50°C per 5 ore. La miscela di reazione è stata sottoposta a quenching con NaHCO₃ saturo (20 mL) ed estratta con DCM (2 x 75 mL). Lo strato organico è stato essiccato su Na₂SO₄, filtrato e fatto evaporare a dare un residuo giallo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash su silice, gradiente di eluizione MeOH da 0 al 5% in DCM. Le frazioni pure sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 94;

280 mg, 98 %) come un solido giallo. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 20 °C) δ 1,21 (3H, d), 2,64 (3H, d), 4,09 - 4,16 (1H, m), 4,35 (1H, dd), 4,49 - 4,64 (2H, m), 5,22 (1H, d), 6,82 - 7,12 (1H, m), 7,60 - 7,68 (2H, m), 7,95 - 8,05 (1H, m), 8,30 (1H, s), 8,61 (1H, s). m/z (ES+) $[\text{M}+\text{H}]^+$ 419.

Esempio 38

(R)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



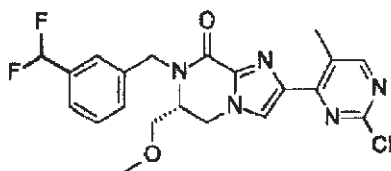
(R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 95; 288 mg, 0,64 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (68,7 mg, 0,71 mmol), carbonato di cesio (419 mg, 1,29 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (29,1 mg, 0,03 mmol) sono stati sospesi in *terz*-butanolo (6 mL) e degassati per 10 minuti. La reazione è stata riscaldata fino a 80°C per 18 ore sotto azoto. La reazione è stata poi diluita con etil acetato (75 mL) e lavata con bicarbonato di sodio acquoso saturo (25 mL), essiccata (solfato di sodio) e concentrata sotto vuoto a dare una gomma marrone. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante HPLC preparativa (colonna Waters XBridge Prep C18 OBD, silice 5 μ , diametro 30 mm, lunghezza 100 mm), usando miscele polari in modo decrescente di acqua (contenenti NH_3 all'1%) e MeCN come

B

eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*R*)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 38; 88 mg, 26,9%) come un solido bianco. ¹H NMR (500 MHz, DMSO, 30 °C) 2,53 (2H, s), 3,19 (1H, d), 3,33 (3H, d), 3,40 (1H, dd), 3,71 (3H, d), 4,03 (1H, q), 4,09 (1H, q), 4,4 - 4,57 (3H, m), 5,17 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,05 (1H, t), 7,34 (1H, d), 7,5 - 7,56 (2H, m), 7,56 - 7,63 (2H, m), 7,95 (1H, s), 8,33 (1H, s), 9,20 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 509.

Intermedio 95

(*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometil)benzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



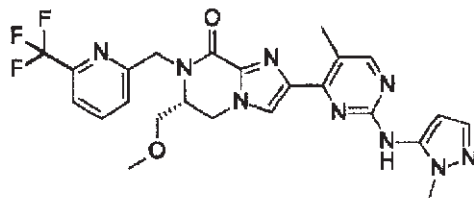
Idruro di sodio (dispersione al 60%) (28,6 mg, 0,71 mmol) è stato aggiunto a (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 61; 200 mg, 0,65 mmol) in DMF (15 mL) sotto azoto. La sospensione risultante è stata agitata a 20 °C per 30 minuti. 1-(clorometil)-3-(difluorometil)benzene (126 mg, 0,71 mmol) è stato aggiunto seguito da ioduro di tetrabuttilammonio (24,01 mg, 0,06 mmol) e la soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 18 ore. È stata diluita con cloruro di ammonio

B

acquoso saturo (30 mL) ed estratta con etil acetato (2 x 70 mL). Le fasi organiche combinate sono state essiccate (solfato di sodio) e concentrate sotto vuoto a dare (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-(difluorometile)benzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 95; 321 mg, >100%) come una gomma che è stata usata nella fase successiva senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 2,64 (3H, s), 3,17 (3H, s), 3,40 (2H, dd), 3,99 - 4,11 (1H, m), 4,4 - 4,59 (3H, m), 5,15 (1H, d), 7,03 (1H, t), 7,5 - 7,53 (2H, m), 7,59 (1H, d), 7,96 (1H, s), 8,25 (1H, s), 8,59 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 448.

Esempio 39

(*R*)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



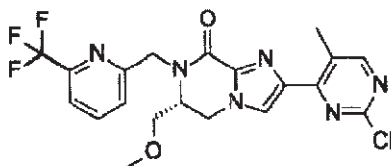
(*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 96; 201 mg, 0,43 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (46,0 mg, 0,47 mmol), carbonato di cesio (281 mg, 0,86 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (19,51 mg, 0,02 mmol) sono stati sospesi in *terz*-butanolo (5 mL) e degassati per 10 minuti. La reazione è stata riscaldata fino a 80°C per 18 ore sotto azoto. La

B

reazione è stata poi diluita con etil acetato (75 mL) e lavata con bicarbonato di sodio acquoso saturo (25 mL), essiccata (solfato di sodio) e concentrata sotto vuoto a dare una gomma marrone. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante HPLC preparativa (colonna Waters XBridge Prep C18 OBD, silice 5 μ , diametro 30 mm, lunghezza 100 mm), usando miscele polari in modo decrescente di acqua (contenenti NH_3 all'1%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (R)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Esempio 39; 68 mg, 29,9%) come un solido. ^1H NMR (500 MHz, DMSO, 30 °C) 3,18 (1H, d), 3,20 (3H, d), 3,32 (3H, s), 3,39 (1H, dd), 3,54 (1H, dd), 3,71 (3H, d), 4,51 - 4,63 (2H, m), 4,66 (1H, d), 5,24 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,34 (1H, dd), 7,78 (1H, d), 7,83 (1H, d), 7,98 (1H, s), 8,09 (1H, t), 8,33 (1H, s), 9,20 (1H, s). m/z ES+ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 528.

Intermedio 96

(R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



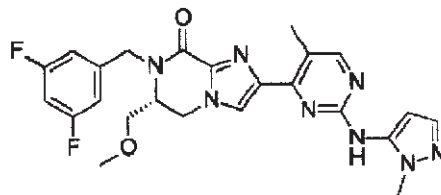
Idruro di sodio (dispersione al 60%) (19,16 mg, 0,48 mmol) è stato aggiunto a (R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-

B

6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 61; 134 mg, 0,44 mmol) in DMF (10 mL) sotto azoto. La sospensione risultante è stata agitata a 20 °C per 30 minuti. È stata aggiunta 2-(bromometil)-6-(trifluorometil)piridina (115 mg, 0,48 mmol) e la soluzione risultante è stata agitata a 20°C per 18 ore. La reazione è stata sottoposta a quenching con cloruro di ammonio acquoso saturo (30 mL) ed estratto con etil acetato (2 x 70 mL). Le fasi organiche combinate sono state essiccate (solfato di sodio) e concentrate sotto vuoto a dare (*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-6-(metossimetil)-7-((6-(trifluorometil)piridin-2-il)metil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 96; 203 mg, 100%) come una gomma. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 2,63 (3H, s), 3,20 (3H, s), 3,37 - 3,42 (1H, m), 3,54 (1H, dd), 4,20 (1H, dt), 4,56 (2H, d), 4,67 (1H, d), 5,23 (1H, d), 7,80 (2H, dd), 8,09 (1H, t), 8,29 (1H, s), 8,59 (1H, d). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 467.

Esempio 40

(*R*)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one



(*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5*H*)-one (Intermedio 97; 280 mg, 0,65 mmol), 1-metil-1*H*-pirazol-5-ammina (68,9 mg, 0,71

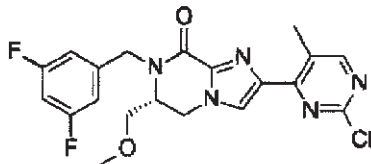
mmol), carbonato di cesio (421 mg, 1,29 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (29,3 mg, 0,03 mmol) sono stati sospesi in *terz*-butanolo (6 mL) e degassati per 10 minuti. La reazione è stata riscaldata fino a 80°C per 18 ore sotto azoto. La miscela di reazione è stata diluita con etil acetato (75 mL) e lavata con bicarbonato di sodio acquoso saturo (25 mL), essiccata (solfato di sodio) e concentrata sotto vuoto a dare una gomma marrone. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante HPLC preparativa (colonna Waters XBridge Prep C18 OBD, silice 5 μ , diametro 30 mm, lunghezza 100 mm), usando miscele polari in modo decrescente di acqua (contenenti NH₃ all'1%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (*R*)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 40; 80 mg, 25,1%) come un solido bianco sporco. ¹H NMR (500 MHz, DMSO, 30 °C) 2,52 (3H, s), 3,19 (1H, s), 3,19 (3H, s), 3,35 (1H, dd), 3,43 (1H, dd), 3,71 (3H, s), 4,43 (1H, d), 4,48 - 4,57 (2H, m), 5,12 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,15 (3H, td), 7,34 (1H, d), 7,94 (1H, s), 8,32 (1H, s), 9,18 (1H, s). *m/z* ES⁺ [M+H]⁺ 495.

L'Intermedio 97 è stato realizzato in modo analogo all'Intermedio 96, usando l'Intermedio 61 e 1-(bromometil)-3,5-difluorobenzene.

Intermedio 97

(*R*)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-

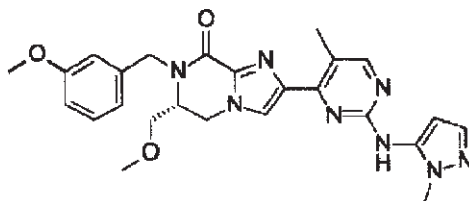
(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 2,64 (3H, s), 3,18 (3H, s), 3,44 (2H, dd), 4,08 (1H, dd), 4,4 - 4,59 (3H, m), 5,10 (1H, d), 7,13 (3H, dt), 8,25 (1H, s), 8,56 - 8,62 (1H, m). m/z ES+ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 434.

Esempio 41

(R)-7-(3-metossibenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one



(R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one (Intermedio 98; 164 mg, 0,38 mmol), 1-metil-1H-pirazol-5-ammina (40,9 mg, 0,42 mmol), carbonato di cesio (250 mg, 0,77 mmol) e un precatalizzatore di 3a generazione BrettPhos (17,37 mg, 0,02 mmol) sono stati sospesi in *tert*-butanolo (5 mL) e degassati per 10 minuti. La reazione è stata riscaldata fino a 80°C per 18 ore sotto azoto. La reazione è stata diluita con etil acetato (75 mL) e lavata con bicarbonato di sodio acquoso saturo (25 mL), essiccata (solfato di sodio) e concentrata sotto vuoto a dare una gomma marrone. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante

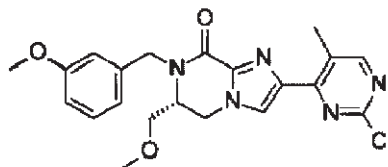
B

HPLC preparativa (colonna Waters XBridge Prep C18 OBD, silice 5 μ , diametro 30 mm, lunghezza 100 mm), usando miscele polari in modo decrescente di acqua (contenenti NH_3 all'1%) e MeCN come eluenti. Le frazioni contenenti il composto desiderato sono state fatte evaporare fino a essiccazione a dare (R)-7-(3-metossibenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one (Esempio 41; 58,0 mg, 31%) come un solido bianco sporco. ^1H NMR (500 MHz, DMSO, 30°C) 2,53 (3H, s), 3,18 (3H, d), 3,19 (1H, d), 3,38 (1H, dd), 3,70 (3H, s), 3,76 (3H, s), 3,95 - 4,02 (1H, m), 4,33 - 4,43 (2H, m), 4,49 - 4,55 (1H, m), 5,12 (1H, d), 6,30 (1H, d), 6,88 (1H, dd), 6,98 (2H, s), 7,27 - 7,31 (1H, m), 7,34 (1H, d), 7,93 (1H, s), 8,29 - 8,36 (1H, m), 9,18 (1H, s). m/z ES+ [M+H]⁺ 489.

L'Intermedio 98 è stato realizzato in modo analogo all'Intermedio 96, usando l'Intermedio 61 e 1-(bromometil)-3-metossibenzene.

Intermedio 98

(R)-2-(2-cloro-5-metilpirimidin-4-il)-7-(3-metossibenzil)-6-(metossimetil)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one



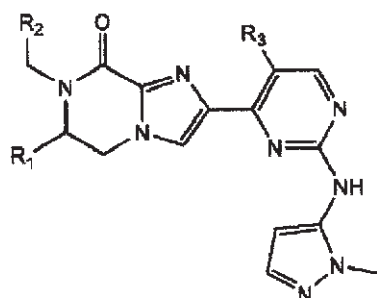
^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 2,64 (3H, s), 3,17 (3H, s), 3,37 - 3,42 (2H, m), 3,76 (3H, s), 3,98 (1H, s), 4,33 - 4,45 (2H, m), 4,49

(1H, d), 5,04 - 5,19 (1H, m), 6,88 (1H, d), 6,97 (2H, d), 7,29 (1H, t), 8,24
(1H, s), 8,60 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 428.



RIVENDICAZIONI

1. Composto della Formula (I) o un suo addotto farmaceuticamente accettabile



(I)

in cui:

R^1 è idrogeno, C_{1-3} alchile o $-CH_2OMe$;

R^2 è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da C_{1-3} alchile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da C_{1-3} alchile, difluorometile e trifluorometile; o

R^2 è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituito indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da alo, difluorometile, trifluorometile, metossi e $-OCHF_2$; e

R^3 è idrogeno, C_{1-3} alchile o cloro.

2. Composto di formula (I) o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, come rivendicato nella rivendicazione 1, in cui:

R¹ è idrogeno, metile o -CH₂OMe;

R² è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R² è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R² è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile, trifluorometile, metossi e -OCHF₂; e

R³ è idrogeno, metile o cloro.

3. Composto di formula (I) o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, come rivendicato nella rivendicazione 1 o nella rivendicazione 2, in cui:

R¹ è idrogeno, metile o -CH₂OMe;

R² è piridinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da metile, difluorometile e trifluorometile; o

R² è pirimidinile, facoltativamente sostituito su 1 atomo di carbonio dell'anello da un trifluorometile; o

R² è fenile facoltativamente sostituito su 1 o 2 atomi di carbonio dell'anello da un sostituyente indipendentemente selezionato dal gruppo costituito da fluoro, cloro, difluorometile e metossi; e

R^3 è idrogeno, metile o cloro.

4. Composto come rivendicato nelle rivendicazioni da 1 a 3, o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, in cui R^2 è 6-(difluorometil)piridin-2-ile, 3-clorofenile, 3,4-difluorofenile o 3,5-difluorofenile.

5. Composto come rivendicato nelle rivendicazioni da 1 a 4, o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, in cui R^2 è 6-(difluorometil)piridin-2-ile.

6. Composto come rivendicato nelle rivendicazioni da 1 a 4, o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, in cui R^2 è 3-clorofenile.

7. Composto come rivendicato nelle rivendicazioni da 1 a 4, o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, in cui R^2 è 3,4-difluorofenile.

8. Composto come rivendicato nelle rivendicazioni da 1 a 4, o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, in cui R^2 è 3,5-difluorofenile.

9. Composto come rivendicato nella rivendicazione 1, o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, in cui detto composto è

(S)-7-(3-clorobenzil)-6-metil-2-(2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(S)-7-((6-(difluorometil)piridin-2-il)metil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one;

(*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one; o

(*S*)-7-(3,5-difluorobenzil)-6-metil-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one.

10. Composto come rivendicato nella rivendicazione 1, o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, in cui detto composto è

(*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one.

11. Addotto farmaceuticamente accettabile di un composto di formula (I) come rivendicato nella rivendicazione 1, che è addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico.

12. Forma cristallina di addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-8(5*H*)-one etansolfonico come rivendicato nella rivendicazione 11.

13. Addotto farmaceuticamente accettabile di un composto di formula (I) come rivendicato nella rivendicazione 1, che è addotto di acido (*R*)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1*H*-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-*a*]pirazin-

8(5H)-one adipico.

14. Forma cristallina di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico come rivendicato nella rivendicazione 13.

15. Composto come rivendicato in qualsiasi delle rivendicazioni precedenti o un suo addotto farmaceuticamente accettabile per l'uso come medicamento.

16. Composto come rivendicato in qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 14, o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, per l'uso nella prevenzione o nel trattamento del cancro in un animale omeotermo quale l'uomo.

17. Composto della Formula (I), o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, come rivendicato in qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 14 per uso nel trattamento di NSCLC, cancro pancreatico o coloretali.

18. Composizione farmaceutica che comprende un composto di Formula (I), o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, come rivendicato in qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 14, e un diluente o trasportatore farmaceuticamente accettabile.

19. Combinazione adatta per uso nel trattamento di cancro comprendente un composto di Formula (I) o un suo addotto farmaceuticamente accettabile, come rivendicato in qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 14, e un altro agente antitumorale.



*** **

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede.

LEGENDA DELLE TAVOLE DEI DISEGNI

TAVOLA 1/17

Figura 1

"Figure 1: X-Ray Powder Diffraction Pattern of (R)-7-(3,4-difluorobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-one Ethanesulfonic acid adduct Form 1 (Example 18a)" = Pattern di diffrazione di raggi X su polveri di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico Forma 1 (Esempio 18a)

"2-Theta - Scale" = Scala 2-theta

"Lin (Counts)" = Lin (Conteggi)

TAVOLA 2/17

Figura 2

"Figure 2: DSC Thermogram of (R)-7-(3,4-difluorobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-one Ethanesulfonic acid adduct Form 1 (Example 18a)" = Termogramma DSC di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one etansolfonico Forma 1 (Esempio 18a)

"Heat Flow (W/g)" = Flusso di calore (W/g)

"Temperature" = Temperatura

"Exo up" = Eso verso l'alto

TAVOLA 3/17

Figura 3

"Figure 3: X-Ray Powder Diffraction Pattern of (R)-7-(3,4-Difluorobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-one Adipic acid adduct Form 1 (Example 34)" = Pattern di diffrazione di raggi X su polveri di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico Forma 1 (Esempio 34)

"2-Theta - Scale" = Scala 2-Theta

"Lin (Counts)" = Lin (Conteggi)

TAVOLA 4/17

Figura 4

"Figure 4: DSC Thermogram of (R)-7-(3,4-difluorobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-one Adipic acid adduct Form 1 (Example 34)" = Termogramma DSC di addotto di acido (R)-7-(3,4-difluorobenzil)-6-(metossimetil)-2-(5-metil-2-((1-metil-1H-pirazol-5-il)ammino)pirimidin-4-il)-6,7-diidroimidazo[1,2-a]pirazin-8(5H)-one adipico Forma 1 (Esempio 34)

"Heat Flow (W/g)" = Flusso di calore (W/g)

"Temperature" = Temperatura

"Exo up" = Eso verso l'alto

TAVOLA 5/17

Figura 5

"Figure 5: Tumour Growth Inhibition by Example 18a in combination with

selumetinib (ARRY-142886) in A549 xenograft model" = Inibizione della crescita tumorale mediante l'Esempio 18a in combinazione con selumetinib (ARRY-142886) in un modello di xenotrapianto di A549

"Tumor Volume" = Volume del tumore

"Vehicle" = Veicolo

"Example 18a" = Esempio 18a

"Combination" = Combinazione

"Days of Dosing" = Giorni di dosaggio

TAVOLA 6/17

Figura 6

"Figure 6: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) A549 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Dose matrix representing percent growth inhibition values taken from the fitted dose response curves." = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare A549 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Matrice di dose rappresentante i valori in percentuale di inibizione della crescita presi dalle curve dose-risposta adattate.

"Esempio 18" = Esempio 18

TAVOLA 7/17

Figura 7

"Figure 7: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) A549 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Loewe model of additivity calculated from the monotherapy dose response curves." = Inibizione della crescita cellulare nella

linea cellulare A549 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Modello di additività di Loewe calcolato dalle curve dose-risposta della monoterapia.

"Esempio 18" = Esempio 18

TAVOLA 8/17

Figura 8

"Figure 8: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) A549 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Excess heatmap (synergy) calculated by subtracting the Loewe model of additivity data from the fitted data." = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare A549 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Mappa del calore in eccesso (sinergia) calcolata sottraendo i dati del modello di additività di Loewe dai dati adattati.

"Esempio 18" = Esempio 18

TAVOLA 9/17

Figura 9

"Figure 9: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2122 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Dose matrix representing percent growth inhibition values taken from the fitted dose response curves." = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2122 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in

combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Matrice di dose rappresentante i valori in percentuale di inibizione della crescita presi dalle curve dose-risposta adattate.

"Esempio 18" = Esempio 18

TAVOLA 10/17

Figura 10

"Figure 10: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2122 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Loewe model of additivity calculated from the monotherapy dose response curves." = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2122 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Modello di additività di Loewe calcolato dalle curve dose-risposta della monoterapia.

"Esempio 18" = Esempio 18

TAVOLA 11/17

Figura 11

"Figure 11: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2122 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Excess heatmap (synergy) calculated by subtracting the Loewe model of additivity data from the fitted data." = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2122 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Mappa del calore in eccesso (sinergia) calcolata sottraendo i dati del modello di additività di Loewe

dai dati adattati.

"Esempio 18" = Esempio 18

TAVOLA 12/17

Figura 12

"Figure 12: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2009 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Dose matrix representing percent growth inhibition values taken from the fitted dose response curves." = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2009 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Matrice di dose rappresentante i valori in percentuale di inibizione della crescita presi dalle curve dose-risposta adattate.

"Esempio 18" = Esempio 18

TAVOLA 13/17

Figura 13

"Figure 13: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2009 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Loewe model of additivity calculated from the monotherapy dose response curves." = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2009 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Modello di additività di Loewe calcolato dalle curve dose-risposta della monoterapia.

"Esempio 18" = Esempio 18

TAVOLA 14/17

Figura 14

“Figure 14: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2009 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Excess heatmap (synergy) calculated by subtracting the Loewe model of additivity data from the fitted data.” = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare H2009 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Mappa del calore in eccesso (sinergia) calcolata sottraendo i dati del modello di additività di Loewe dai dati adattati.

“Esempio 18” = Esempio 18

TAVOLA 15/17

Figura 15

“Figure 15: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Calu6 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Dose matrix representing percent growth inhibition values taken from the fitted dose response curves.” = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare calu6 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Matrice di dose rappresentante i valori in percentuale di inibizione della crescita presi dalle curve dose-risposta adattate.

“Esempio 18” = Esempio 18

TAVOLA 16/17

Figura 16

"Figure 16: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Calu6 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Loewe model of additivity calculated from the monotherapy dose response curves." = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare Calu6 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Modello di additività di Loewe calcolato dalle curve dose-risposta della monoterapia.

"Esempio 18" = Esempio 18

TAVOLA 17/17

Figura 17

"Figure 17: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Calu6 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Excess heatmap (synergy) calculated by subtracting the Loewe model of additivity data from the fitted data." = Inibizione della crescita cellulare nella linea cellulare Calu6 di cancro dei polmoni non a piccole cellule (NSCLC) mutante in KRAS mediante l'Esempio 18 in combinazione con selumetinib (ARRY-142886). Mappa del calore in eccesso (sinergia) calcolata sottraendo i dati del modello di additività di Loewe dai dati adattati.

"Esempio 18" = Esempio 18

*** **

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede.

B

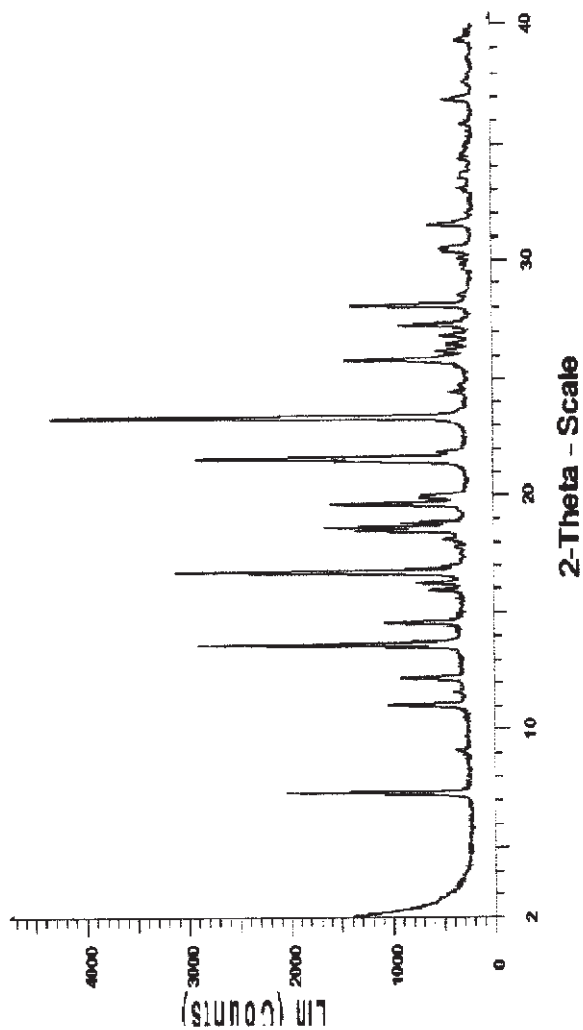


Figure 1: X-Ray Powder Diffraction Pattern of (*R*)-7-(3,4-difluorobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-one Ethanesulfonic acid adduct Form 1 (Example 18a)

B

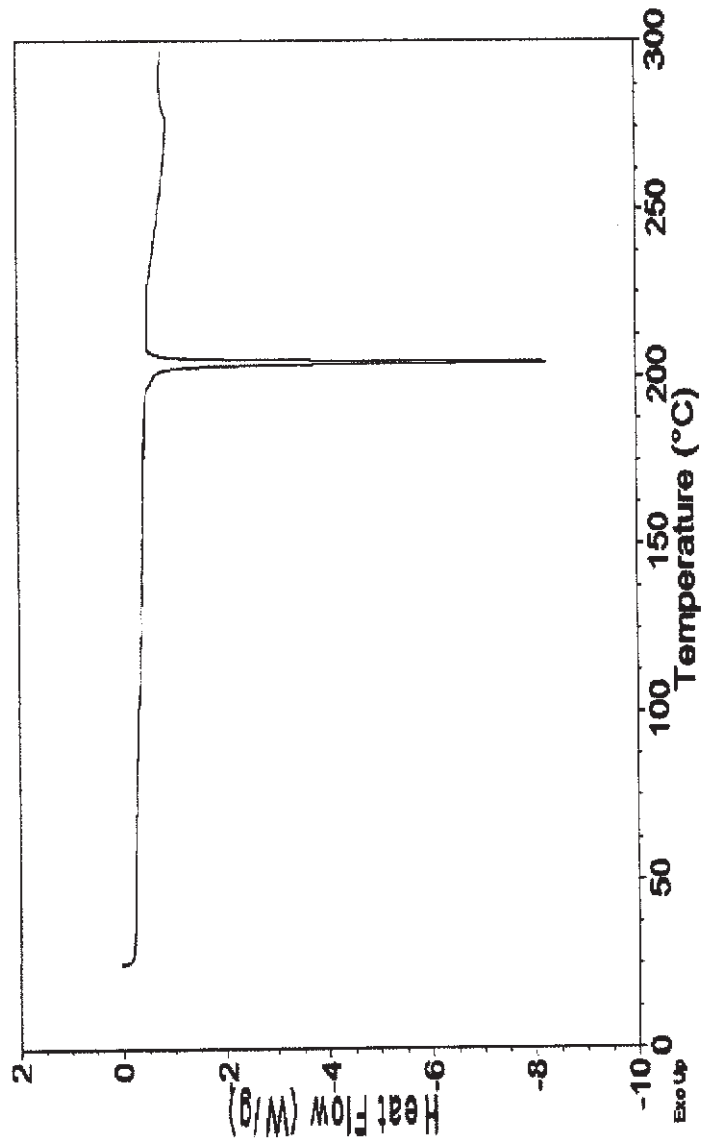


Figure 2: DSC Thermogram of (*R*)-7-(3,4-difluorobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(*5H*)-one Ethanesulfonic acid adduct Form 1 (Example 18a)

B

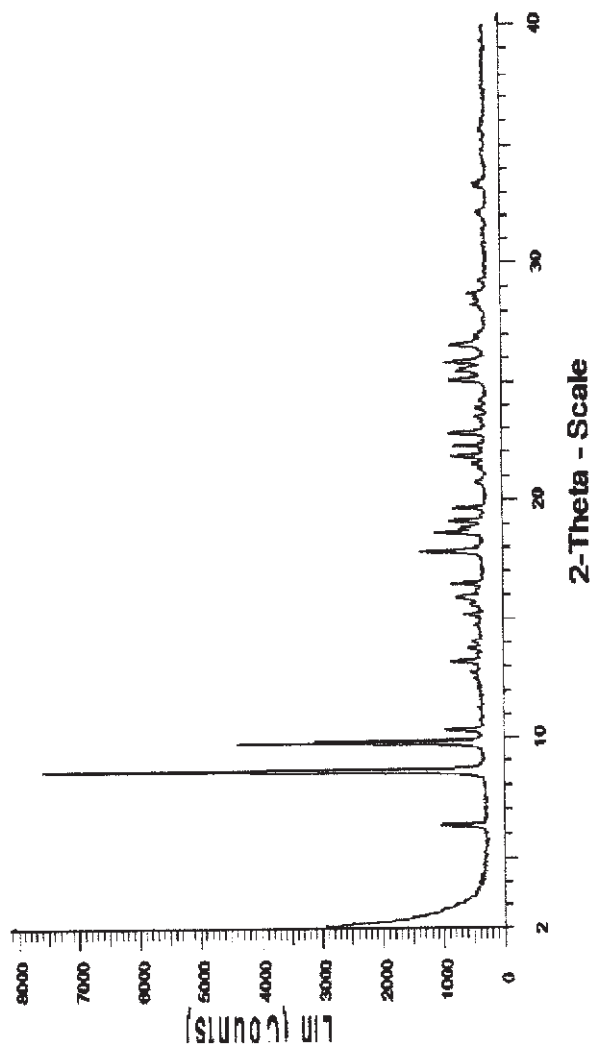


Figure 3: X-Ray Powder Diffraction Pattern of (*R*)-7-(3,4-Difluorobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-one Adipic acid adduct Form 1 (Example 34)

B

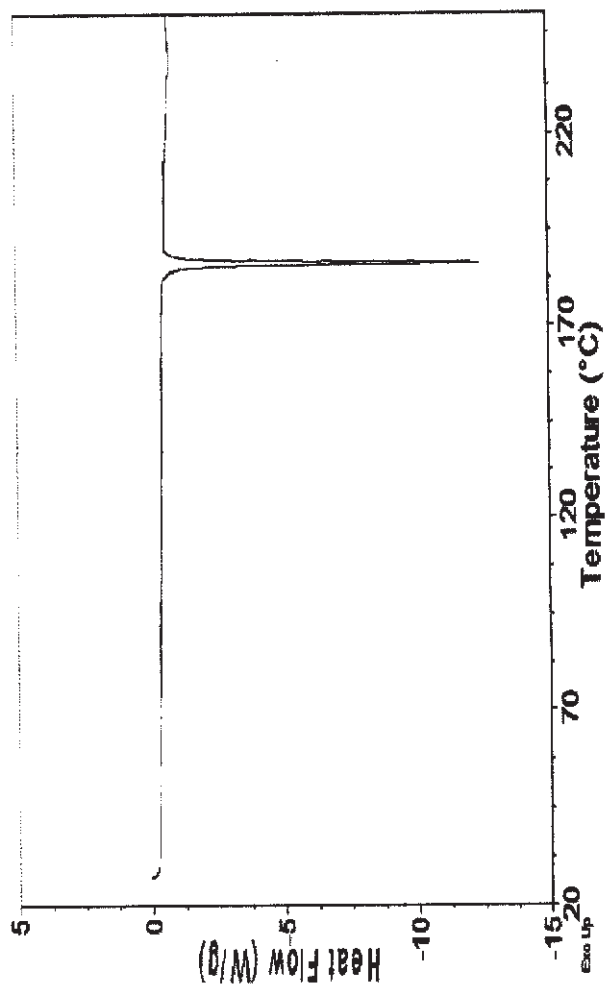


Figure 4: DSC Thermogram of (R)-7-(3,4-Difluorobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-one Adipic acid adduct Form 1 (Example 34)

B

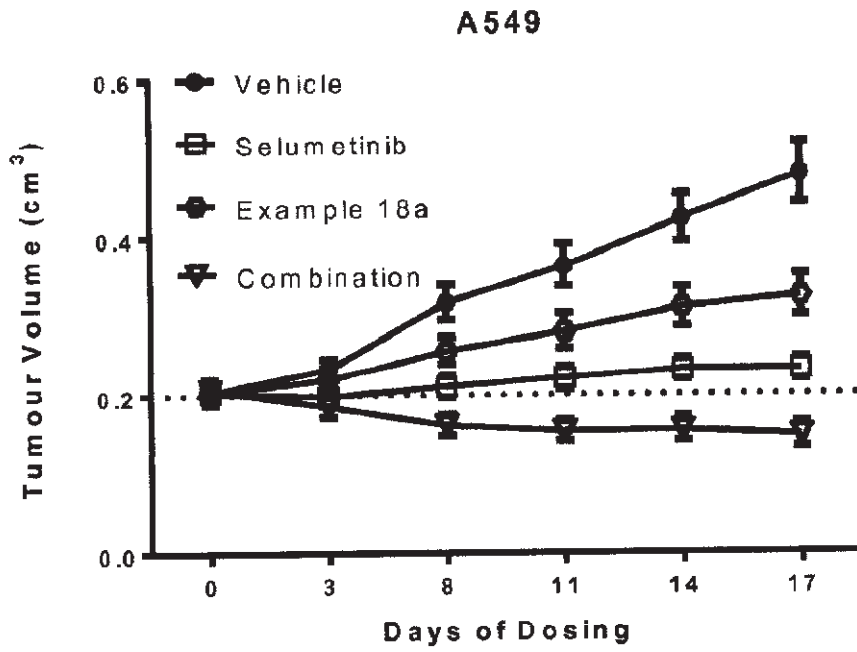


Figure 5: Tumour Growth Inhibition by Example 18a in combination with selumetinib (ARRY-142886) in A549 xenograft model

B

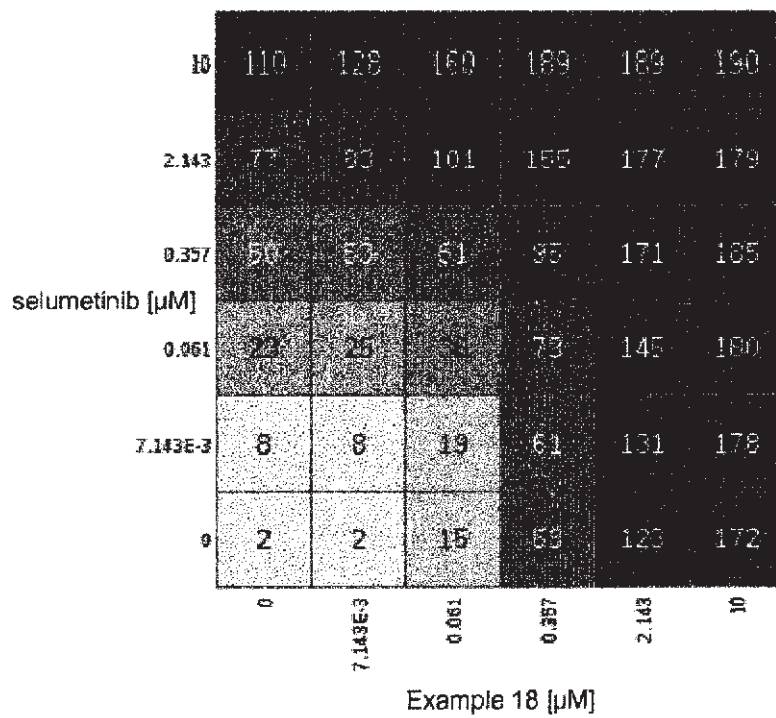


Figure 6: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) A549 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Dose matrix representing percent growth inhibition values taken from the fitted dose response curves.

B

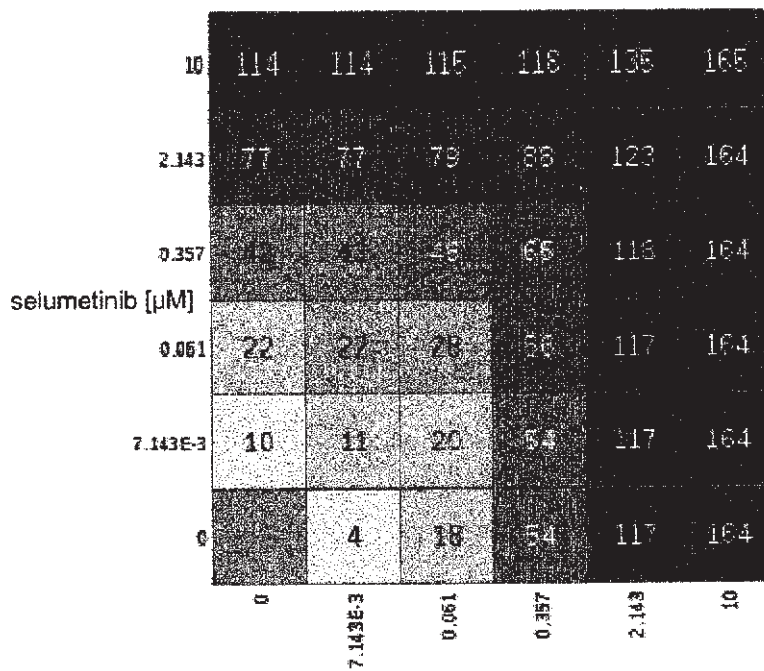
Example 18 [μM]

Figure 7: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) A549 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Loewe model of additivity calculated from the monotherapy dose response curves.

B

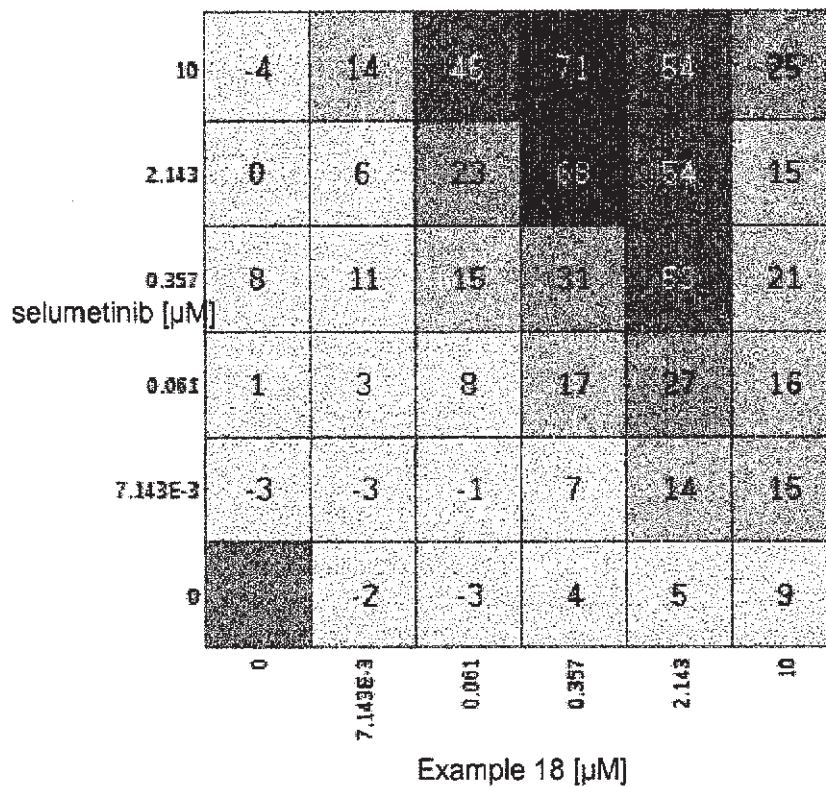


Figure 8: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) A549 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Excess heatmap (synergy) calculated by subtracting the Loewe model of additivity data from the fitted data.

B

selumetinib [μM]	10	179	180	190	192	191	196
	2.143	106	112	163	181	193	198
	0.357	66	64	96	163	193	200
	0.061	19	21	50	151	184	198
	7.143E-3	3	2	10	75	185	197
	0	0	-1	5	77	189	198
		0	7.143E-3	0.061	0.357	2.143	10
		Example 18 [μM]					

Figure 9: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2122 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Dose matrix representing percent growth inhibition values taken from the fitted dose response curves.

B

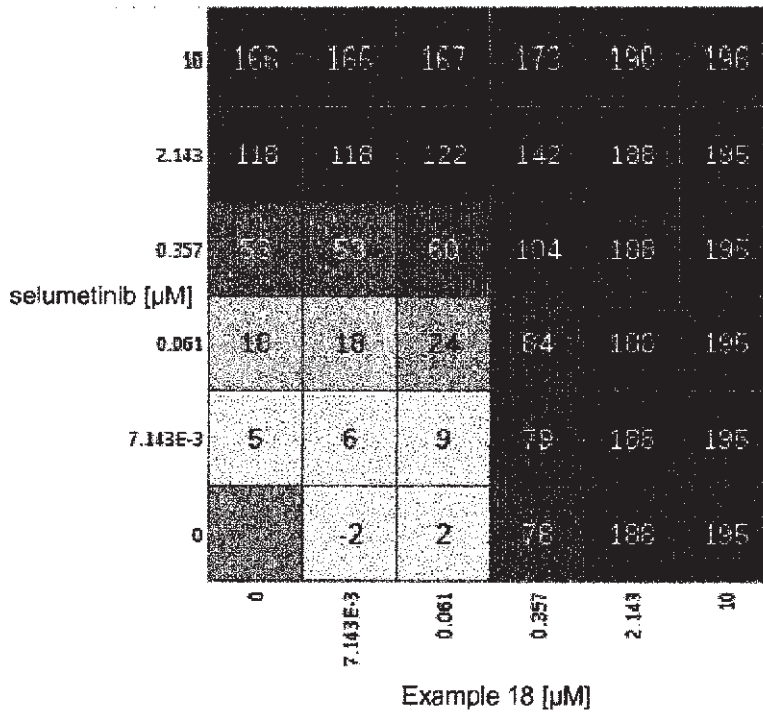


Figure 10: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2122 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Loewe model of additivity calculated from the monotherapy dose response curves.

B

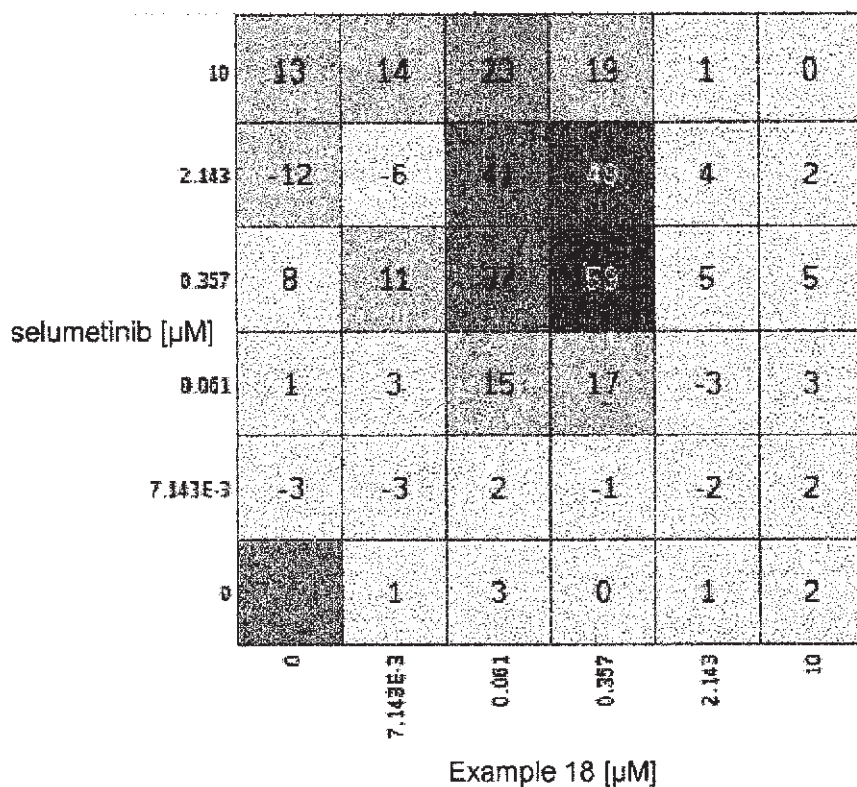


Figure 11: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2122 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Excess heatmap (synergy) calculated by subtracting the Loewe model of additivity data from the fitted data.

B

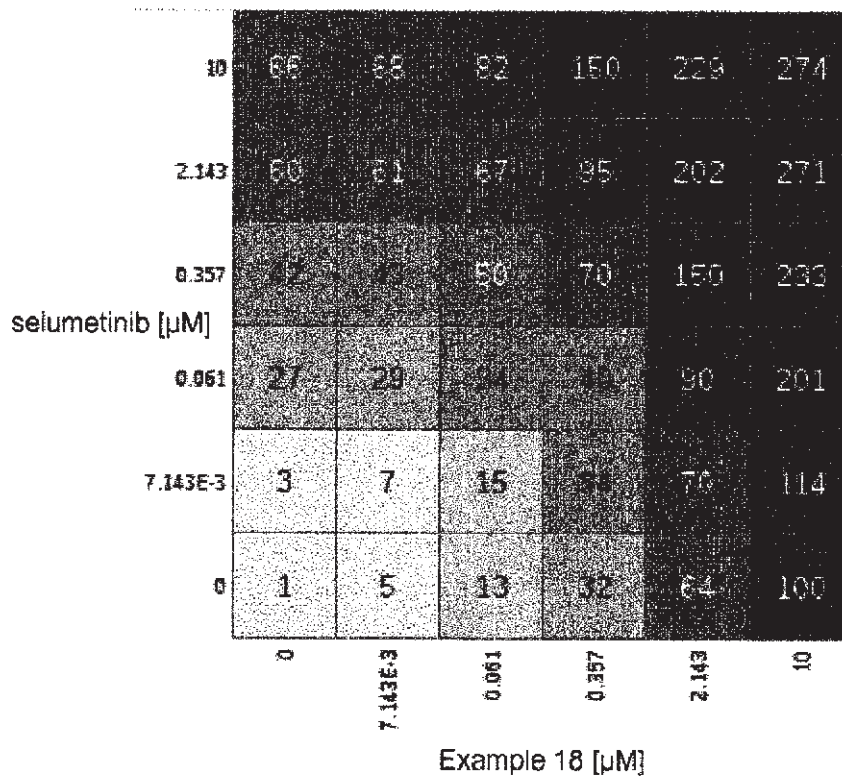


Figure 12: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2009 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Dose matrix representing percent growth inhibition values taken from the fitted dose response curves.

B

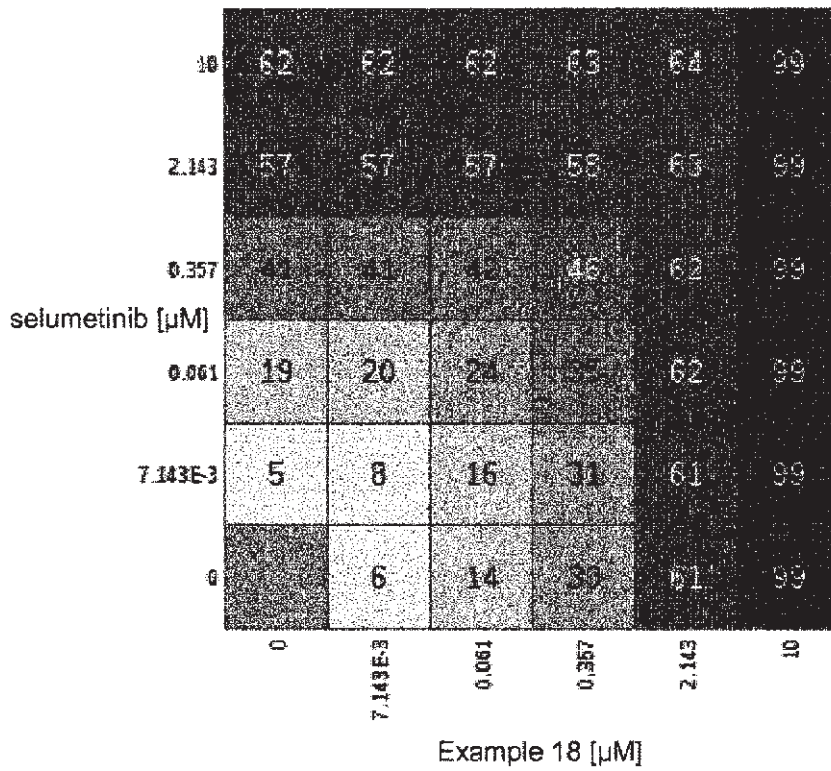


Figure 13: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2009 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Loewe model of additivity calculated from the monotherapy dose response curves.

B

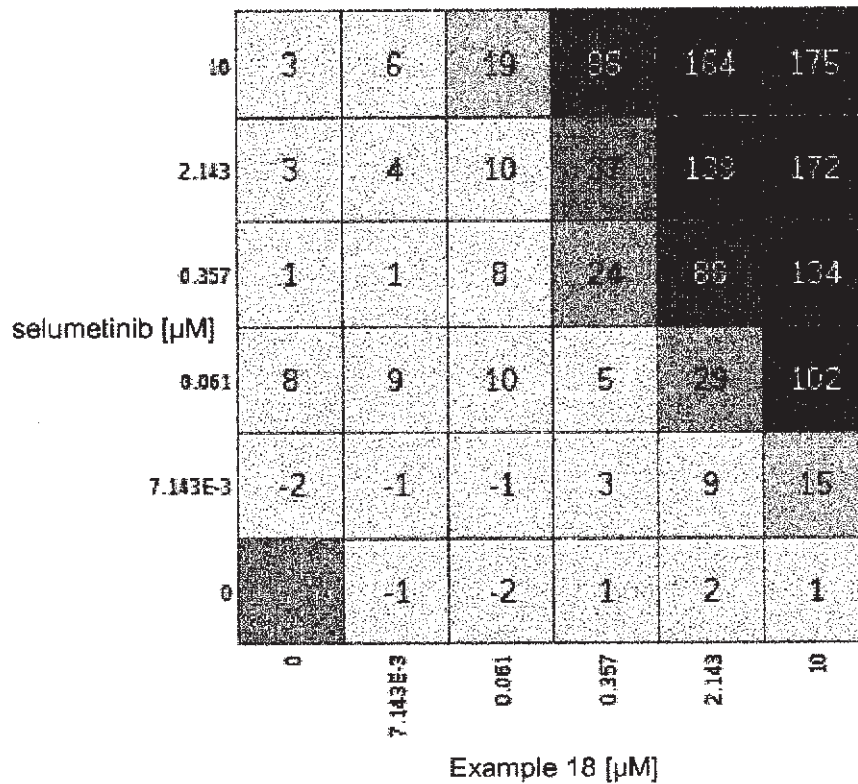


Figure 14: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) H2009 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Excess heatmap (synergy) calculated by subtracting the Loewe model of additivity data from the fitted data.

B

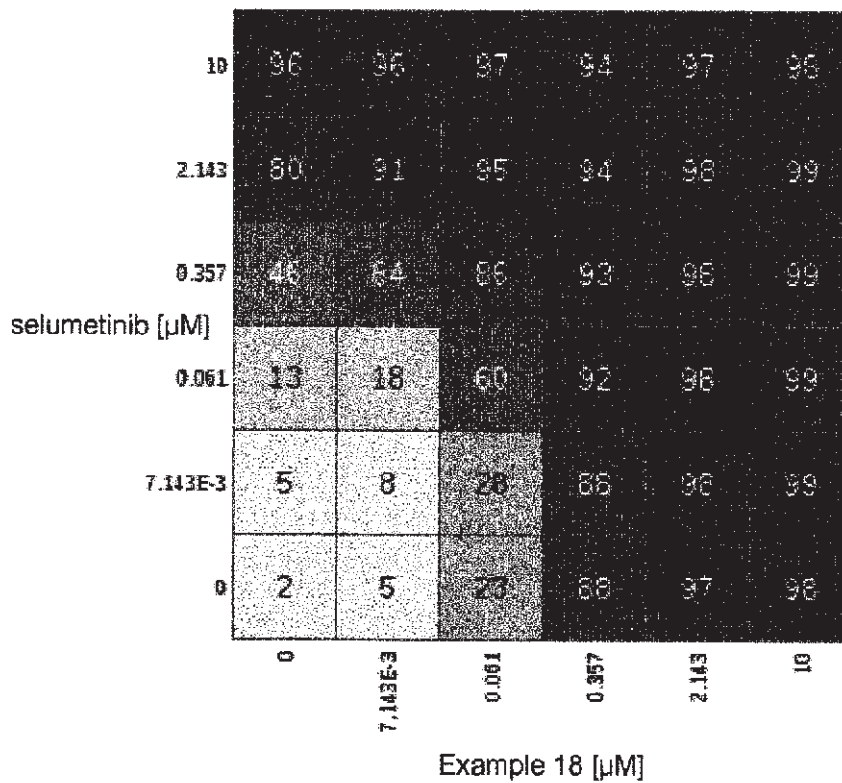


Figure 15: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Calu6 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Dose matrix representing percent growth inhibition values taken from the fitted dose response curves.

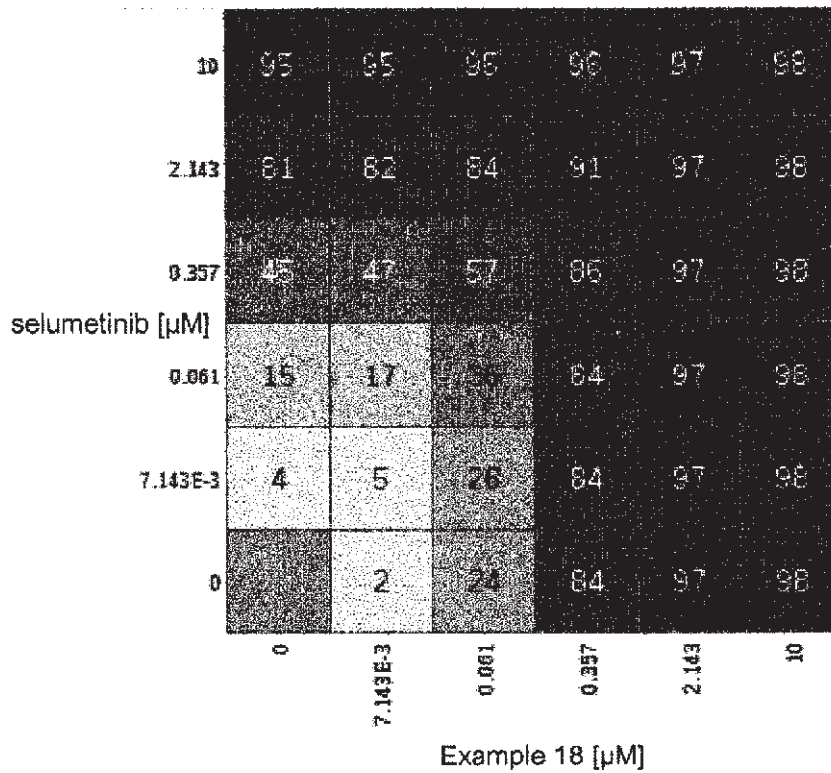
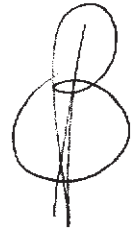


Figure 16: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Calu6 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Loewe model of additivity calculated from the monotherapy dose response curves.

B

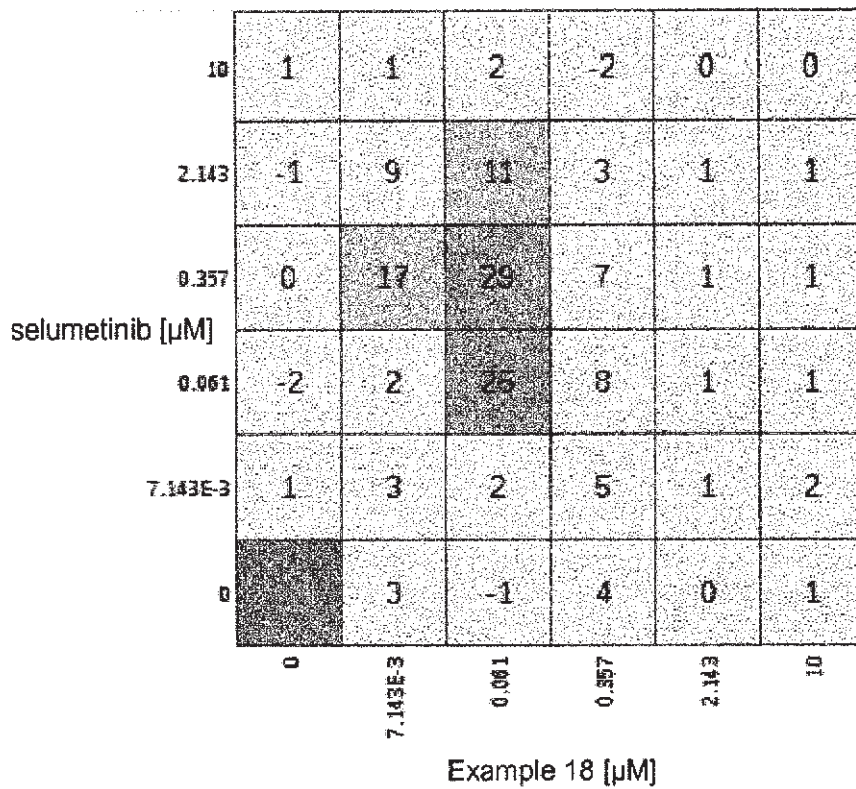


Figure 17: Cell Growth Inhibition in KRAS-mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Calu6 cell line by Example 18 in combination with selumetinib (ARRY-142886). Excess heatmap (synergy) calculated by subtracting the Loewe model of additivity data from the fitted data.