



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2470526 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
C07D 401/14 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2014.10.20
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.05.28
(86)	Europeisk søknadsnr	10748211.9
(86)	Europeisk innleveringsdag	2010.08.27
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2012.07.04
(30)	Prioritet	2009.08.28, US, 238073 P 2010.03.11, US, 313039 P
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK SM TR
	Utpekte samarbeidende stater	BA ME RS
(73)	Innehaver	IRM LLC, 131 Front Street P.O. Box HM 2899, Hamilton HM LX, BM-Bermuda Novartis AG, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, CH-Sveits
(72)	Oppfinner	HUANG, Shenlin, 5768 Cape Jewels Trail, San DiegoCalifornia 92130, US-USA JIN, Xianming, 3516 Sleeping Meadow Way, San RamonCalifornia 94582, US-USA LIU, Zuosheng, 3911 Tynebourne Circle, San DiegoCalifornia 92130, US-USA POON, Daniel, 54 Lake Avenue, PiedmontCalifornia 94611, US-USA TELLEW, John, 617 Caminito de la Costa, La JollaCalifornia 92037, US-USA WAN, Yongqin, 19 Santa Eugenia, IrvineCalifornia 92606, US-USA WANG, Xing, 10445 Monterey Ridge Drive, San DiegoCalifornia 92127, US-USA XIE, Yongping, 12596 Brickella Street, San DiegoCalifornia 92129, US-USA
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	FORBINDELSER OG SAMMENSETNINGER SOM PROTEINKINASEINHIBITORER
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A1-2010/010154 WO-A2-2008/045627 WO-A2-2009/016460 WO-A2-2009/062676 WO-A2-2009/115572 GOODACRE S C ET AL: "Imidazo[1,2-a]pyrimidines as functionally selective and orally bioavailable GABAA[alpha]2/[alpha]3 binding site agonists for the treatment of anxiety disorders" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 49, no. 1, 12 January 2006 (2006-01-12), pages 35-38, XP002603205 ISSN: 0022-2623 DOI: 10.1021/JM051065L

FORBINDELSER OG SAMMENSETNINGER SOM PROTEINKINASEINHIBITORER

KRYSSHENVISNING TIL RELATERTE SØKNADER

5

Denne søknaden krever fordel av prioritet fra midlertidig amerikansk patentsøknad 61/238,073, innlevert 28. august 2009 og 61/313,039, innlevert 11. mars 2010.

10

OPPFINNELSENS BAKGRUNN

Oppfinnelsens område

15

Oppfinnelsen tilveiebringer en ny klasse forbindelser, farmasøytiske sammensetninger omfattende slike forbindelser og fremgangsmåter for anvendelse av slike forbindelser for å behandle eller forebygge sykdommer eller lidelser assosiert med anormal eller deregulert kinaseaktivitet, særlig sykdommer eller lidelser som involverer anormal aktivering av B-Raf.

20

Bakgrunn

25

Proteinkinasene representerer en stor familie proteiner, som spiller en sentral rolle i reguleringen av en lang rekke celleprosesser og opprettholdelse av kontroll over cellefunksjon. En ufullstendig, ikke-begrensende liste over disse kinasene inkluderer: reseptortyrosinkinaser så som blodplatederivert vekstfaktorreseptorkinase (PDGF-R), nervevekstfaktorreseptoren trkB, Met, og fibroblastvekstfaktorreseptoren FGFR3; ikke-reseptortyrosin kinaser så som Abl og fusjonskinasen BCR-Abl, Lck, Csk. Fes, Bmx og c-src; og serin-/treoninkinaser så som B-Raf, sgk, MAP-kinaser (f.eks., MKK4, MKK6, osv.) og SAPK2 α , SAPK2 β og SAPK3. Aberrant kinaseaktivitet er observert i mange sykdomstilstander, inkludert benigne og maligne proliferative lidelser så vel som sykdommer som skyldes uhensiktsmessig aktivering av immun- og nervesystemet.

30

De nye forbindelsene ifølge denne oppfinnelsen hemmer aktiviteten av B-Raf eller mutante former derav (for eksempel V600E) og er derfor ventet å være nyttige i behandlingen av B-Raf-assosierte sykdommer.

- 5 WO 2008/045627 beskriver en forbindelse omfattende en ((3-fenyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-yl)aminostruktur for anvendelse som kinasehemmer.

Kort beskrivelse av oppfinnelsen

- 10 I et første aspekt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en forbindelse som oppført i krav 1.

- I én utførelsesform er forbindelsen metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat.
- 15

- I et andre aspekt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen en forbindelse valgt fra N-(3-brom-2,4-difluorfenyl)propan-1-sulfonamid; N-(2,4-difluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenyl)propan-1-sulfonamid; og N-[5-klor-3-(4-{2-[(2-cyanoetyl)amino]pyrimidin-4-yl}-l-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)-2-fluorfenyl] metansulfonamid
- 20

- I et tredje aspekt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse ifølge det første eller andre aspektet iblandet minst ett farmasøytisk akseptabelt hjelpestoff.
- 25

- I noen utførelsesformer er hjelpestoffet valgt fra gruppen bestående av maisstivelse, potetstivelse, tapiokastivelse, stivelsespasta, pregelatinisert stivelse, sukker, gelatin, naturgummier, syntetiske gummier, natriumalginat, algininsyre, tragakant, guar gummi, cellulose, etylcellulose, celluloseacetat, karboksymetylcellulosekalsium, natriumkarboksymetylcellulose, metylcellulose, hydroksypropylmetylcellulose, mikrokrySTALLINSK cellulose, magnesiumaluminumsilikat, polyvinylpyrrolidon, talkum, kalsiumkarbonat, pulvercellulose, dekstrater, kaolin, mannitol, kiseltsyre, sorbitol, agar-agar, natriumkarbonat, kroskarmellosenatrium, krosopovidon, polakrilinkalium, natriumstivelseglykolat, leirer, natriumstearat, kalsiumstearat,
- 30
- 35

magnesiumstearat, stearinsyre, mineralolje, lett mineralolje, glyserin, sorbitol, mannitol, polyetylenglykol, andre glykoler, natriumlaurylsulfat, hydrogenert vegetabilsk olje, peanøttolje, bomullsfrøolje, solsikkeolje, sesamolje, olivenolje, maisolje, soyaolje, sinkstearat, natriumoleat, etyloleat, etyllaureat, silika og kombinasjoner derav.

5

I noen utførelsesformer omfatter den farmasøytiske sammensetningen videre et ytterligere terapeutisk middel, som kan være valgt fra en anticancerforbindelse, et analgetikum, et antiemetikum, et antidepressivum og et antiinflammatorisk middel.

10

I et fjerde aspekt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen forbindelse ifølge det første eller andre aspektet eller en farmasøytisk sammensetning ifølge det tredje aspektet til anvendelse i en fremgangsmåte for behandling av cancer.

15

I et femte aspekt tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen anvendelse av en forbindelse ifølge det første eller andre aspektet i fremstillingen av et legemiddel for behandling av cancer.

20

I noen utførelsesformer er canceren som skal behandles, valgt fra gruppen bestående av lungekarsinom, pankreaskarsinom, blærekarsinom, kolonkarsinom, myelogene lidelser, prostatacancer, cancer i skjoldbruskkjertelen, melanom, adenomer og karsinomer i eggstokkene, øyet, leveren, galleveiene og nervesystemet.

25

I noen utførelsesformer av det fjerde og femte aspektet omfatter fremgangsmåten eller anvendelsen videre administrering til individet av et ytterligere terapeutisk middel, eventuelt hvori det ytterligere terapeutiske middelet er en annen Raf-kinasehemmer eller en hemmer av MEK, mTOR, HSP90, AKT, PI3K, CDK9, PAK, proteinkinase C, en MAP-kinase, en MAPK-kinase eller ERK, og det ytterligere terapeutiske middelet administreres til individet samtidig med forbindelsen.

30

I noen utførelsesformer omfatter det ytterligere terapeutiske middelet et anticancerlegemiddel, et smertestillende middel, et antiemetikum, et antidepressivum eller et antiinflammatorisk middel; eller det ytterligere terapeutiske middelet er en annen Raf-kinasehemmer eller en hemmer av MEK,

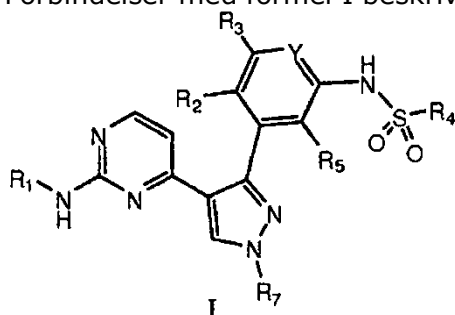
35

mTOR, HSP90, AKT, PI3K, CDK9, PAK, proteinkinase C, en MAP-kinase, en MAPK-kinase eller ERK; eller det ytterligere terapeutiske middelet er en MEK-hemmer valgt fra: AS703026; MSC1936369B; GSK1120212; AZD6244; PD-0325901; ARRY-438162; RDEA119; GDC0941; GDC0973; TAK-733; RO5126766 og XL-518.

I noen utførelsesformer er forbindelsen til behandling av en tilstand mediert ved Raf-kinase, eventuelt hvori Raf-kinasen er en mutant b-Raf-kinase så som b-Raf(V600E).

DETALJERT BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

Forbindelser med formel I beskrives heri:



der:

Y er valgt fra N og CR₆;

R₁ er valgt fra hydrogen, -X₁R_{8a}, -X₁OX₂R_{8a}, -X₁C(O)NR_{8a}R_{8b}, - X₁NR_{8a}X₂R_{8b}, - X₁NR_{8a}C(O)X₂OR_{8b}, -X₁NR_{8a}C(O)X₂NR_{8a}R_{8b}, -X₁NR_{8a}S(O)₀₋₂R_{8b}; hvori hver X₁ er uavhengig C₁₋₄-alkylen; og X₁ har eventuelt 1 til 3 hydrogenener erstattet med en gruppe valgt fra hydroksy, halo, cyano, C₁₋₄-alkyl, halo-substituert-C₁₋₄-alkyl, C₁₋₄-alkoksy og halo-substituert-C₁₋₄-alkoksy; X₂ er valgt fra en binding og C₁₋₄-alkylen; hvori R_{8a} og R_{8b} er uavhengig valgt fra hydrogen, C₁₋₆-alkyl, halo-substituert-C₁₋₆-alkyl, C₃₋₈-sykloalkyl, heteroaryl og C₃₋₈-heterosykloalkyl; hvori sykloalkylet, heterosykloalkylet eller heteroarylet av R_{8a} eller R_{8b} eventuelt er substituert med 1 til 3 radikaler uavhengig valgt fra amino, cyano, C₁₋₄-alkyl, C₁₋₄-alkoksy, halo-substituert-C₁₋₄-alkyl og halo-substituert-C₁₋₄-alkoksy; med forbehold om at R_{8b} ikke er hydrogen når R₁ er valgt fra - X₁NRC(O)OR_{8b} og - X₁NR_{8a}S(O)₀₋₂R_{8b};

R₂, R₃, R₅ og R₆ er uavhengig valgt fra hydrogen, halo, cyano, C₁₋₄-alkyl, halo-substituert-C₁₋₄-alkyl, C₁₋₄-alkoksy og halo-substituert-C₁₋₄-alkoksy; med

forbehold om at når R_5 er fluor og R_1 er valgt fra hydrogen, $-X_1R_{8a}$, $-X_1OX_2R_{8a}$, $-X_1C(O)NR_{8a}R_{8b}$, $-X_1NR_{8a}X_2R_{8b}$, $-X_1NR_{8a}C(O)X_2OR_{8b}$ og $-X_1NR_{8a}(O)_{0-2}R_{8b}$, er ikke både R_3 og R_6 hydrogen;

5 R_4 er valgt fra $-R_9$ og $-NR_{10}R_{11}$; hvori R_9 er valgt fra C_{16} -alkyl, C_{3-8} -sykloalkyl, C_{3-8} -heterosykloalkyl, aryl og heteroaryl; hvori alkylet, sykloalkylet, heterosykloalkylet, arylet eller heteroarylet av R_9 eventuelt er substituert med 1 til 3 radikaler uavhengig valgt fra halo, cyano, C_{1-4} -alkyl, halo-substituert- C_{1-4} -alkyl, C_{14} -alkoksy og halo-substituert- C_{1-4} -alkoksy; og R_{10} og R_{11} er uavhengig valgt fra hydrogen og R_9 ;

10 R_7 er valgt fra hydrogen, C_{1-4} -alkyl, C_{3-5} -sykloalkyl og C_{3-5} -heterosykloalkyl; hvori alkylet, sykloalkylet eller heterosykloalkylet av R_7 eventuelt er substituert med 1 til 3 radikaler uavhengig valgt fra halo, cyano, hydroksyl, C_{1-4} -alkyl, halo-substituert- C_{1-4} -alkyl, C_{1-4} -alkoksy og halo-substituert- C_{1-4} -alkoksy; og N-oksiderivater, prodrugderivater, beskyttede derivater, tautomerer, individuelle isomerer og blanding av isomerer derav; og de farmasøytisk akseptable saltene og solvatene (f.eks. hydrater) av slike forbindelser.

15

I tillegg beskrives heri en farmasøytisk sammensetning som inneholder en forbindelse med formel I eller et N-oksiderivat, individuelle isomerer og blanding av isomerer derav; eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, i sammenblanding med ett eller flere egnede hjelpestoffer.

20

I tillegg beskrives heri en fremgangsmåte for behandling av en sykdom hos et dyr i hvilket hemming av kinaseaktivitet, særlig B-Raf-aktivitet, kan forebygge, hemme eller forbedre sykdommenes patologi og/eller symptomologi, hvilken fremgangsmåte omfatter administrering til dyret av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse med formel I eller et N-oksiderivat, individuelle isomerer og blanding av isomerer derav, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav.

25

30

I tillegg beskrives heri anvendelsen av en forbindelse med formel I i fremstillingen av et legemiddel for behandling av en sykdom hos et dyr i hvilket kinaseaktivitet, særlig B-Raf-aktivitet, særlig mutant B-raf (for eksempel V600E), bidrar til sykdommens patologi og/eller symptomologi.

35

I tillegg beskrives heri en fremgangsmåte for fremstilling av forbindelser med formel I og N-oksiderivatene, prodrugderivatene, de beskyttede derivatene, de individuelle isomerene og blandingen av isomerer derav, og de farmasøytisk akseptable saltene derav.

5

KORT BESKRIVELSE AV TEGNINGENE

Figur 1: Figur 1 illustrerer at tilsetningen av småmolekyl-MEK-hemmer kan reversere det induerte ERK-signalet, celleveksten og -transformasjonen forårsaket av en småmolekyl-Raf-hemmer.

10

Definisjoner

"Alkyl" som en gruppe og som et strukturelt element av andre grupper, for eksempel halo-substituert-alkyl og alkoksy, kan være enten rettkjedet eller forgrenet. C₁₋₄-alkoksy inkluderer metoksy, etoksy og lignende. Halo-substituert-C₁₋₄-alkyl betyr en alkylgruppe (forgrenet eller uforgrenet) hvori hvilke som helst av hydrogenene kan være substituert med et halogen. For eksempel kan halo-substituert-C₁₋₄-alkyl være trifluormetyl, difluoretyl, pentafluoretyl og lignende. På lignende måte betyr hydroksy-substituert-C₁₋₆-alkyl en alkylgruppe (forgrenet eller ikke-forgrenet) hvori hvilke som helst av hydrogenene kan være substituert med et hydroksyl. For eksempel inkluderer hydroksy-substituert-C₁₋₆-alkyl 2-hydroksyetyl og lignende. På lignende måte betyr cyano-substituert-C₁₋₆-alkyl en alkylgruppe (forgrenet eller ikke-forgrenet) hvori hvilke som helst av hydrogenene kan være substituert med cyano.

15

20

25

"Aryl" betyr en monosyklisk eller sammensmeltet bisyklisk aromatisk ringsammenstilling inneholdende seks til ti ringkarbonatomer. For eksempel kan aryl være fenyl eller naftyl, foretrukket fenyl. "Arylen" betyr en divalent radikal derivert fra en arylgruppe.

30

"Sykloalkyl" betyr en mettet eller delvis umettet monosyklisk, fusjonert bisyklisk eller broforbundet polysyklisk ringsammenstilling inneholdende det angitte antallet ringatomer. For eksempel inkluderer C₃₋₁₀sykloalkyl syklopropyl, syklobutyl, syklopentyl, sykloheksyl, osv.

35

"Heteroaryl" er som definert for aryl ovenfor hvor ett eller flere av ringleddene er et heteroatom. Heteroaryl inkluderer for eksempel pyridyl, indolyl, indazolyl, kinoksalinyl, kinolinyl, benzofuranyl, benzopyranyl, benzotiopyranyl, benzo[1,3]dioksol, imidazolyl, benzo-imidazolyl, pyrimidinyl, furanyl, oksazolyl, isoksazolyl, triazolyl, tetrazolyl, pyrazolyl, tienyl osv.

"Heterosykloalkyl" betyr sykloalkyl, som definert i denne søknaden, forutsatt at ett eller flere av de angitte ringkarbonene er erstattet av en enhet valgt fra -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O) - eller -S(O)₂-, hvori R er hydrogen, C₁₋₄-alkyl eller en nitrogenbeskyttende gruppe. For eksempel inkluderer C₃₋₈-heterosykloalkyl som anvendt i denne søknaden for å beskrive forbindelser ifølge oppfinnelsen, 2H-pyran, 4H-pyran, piperidin, 1,4-dioksan, morfolin, 1,4-ditian, tiomorfolino, imidazolidin-2-on, tetrahydrofuran, piperazin, 1,3,5-tritian, pyrrolidin, pyrrolidinyl-2-on, piperidin, piperidinon, 1,4-dioksa-8-aza-spiro[4.5]dec-8-yl osv.

"Halogen" (eller halo) representerer klor, fluor, brom eller jod.

"pMEK" betyr fosforylert Mek.

"pERK" betyr fosforylert ERK.

"Behandle", "behandler" og "behandling" henviser til en fremgangsmåte for lindring eller fjerning av en sykdom og/eller dens medfølgende symptomer.

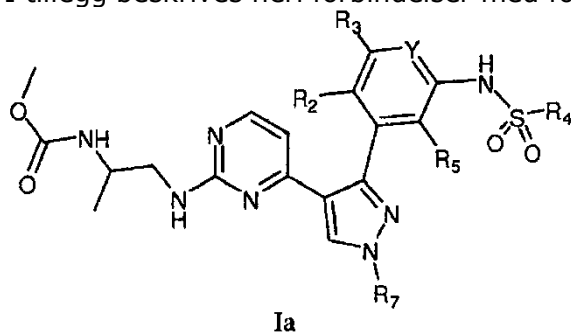
Forbindelser ifølge oppfinnelsen får navn ved hjelp av Chemdraw Ultra (versjon 10.0) og/eller ChemAxon Name Generator (JChem-versjon 5.3.1.0).

Den foreliggende oppfinnelsen tilveiebringer forbindelser, sammensetninger og fremgangsmåter for behandling av kinaserelatert sykdom, særlig B-Raf-kinaserelaterte sykdommer; for eksempel metastatiske melanomer, faste tumorer, hjernetumorer så som glioblastoma multiforme (GBM), akutt myelogen leukemi (AML), prostatacancer, magecancer, papillært thyroideakarsinom, lavgradig karsinom i eggstokkene og kolorektal cancer.

I tillegg beskrives heri, med henvisning til forbindelser med formel I, R₁ er valgt fra -X₁R_{8a} og -X₁NHC(O)OR_{8b}; hvori hver X₁ er uavhengig C₁₋₄-alkylen; og X₁ eventuelt har 1 til 3 hydrogenener erstattet med en gruppe valgt fra hydroksy,

halo, cyano, C₁₋₄-alkyl og halo-substituert-C₁₋₄-alkyl; hvori R_{8a} og R_{8b} er uavhengig valgt fra hydrogen og C₁₋₆-alkyl; med forbehold om at R_{8b} ikke er hydrogen når R₁ er -X₁NHC(O)OR_{8b};

5 I tillegg beskrives heri forbindelser med formel Ia:



der: Y er valgt fra N og CR₆; R₂, R₃, R₅ og R₆ er uavhengig er valgt fra hydrogen, halo, cyano, C₁₋₄-alkyl, halo-substituert-C₁₋₄-alkyl, C₁₋₄-alkoksy og halo-substituert-C₁₋₄-alkoksy; med forbehold om at når R₅ er fluor og R₁ er valgt fra hydrogen, -X₁R_{8a}, -X₁OX₂R_{8a}, -X₁C(O)NR_{8a}R_{8b}, -X₁NR_{8a}X₂R_{8b}, -X₁NR_{8a}C(O)X₂OR_{8b} og -X₁NR_{8a}S(O)₀₋₂R_{8b}, er ikke både R₃ og R₆ hydrogen; R₄ er valgt fra -R₉ og -NR₁₀R₁₁; hvori R₉ er valgt fra C₁₋₆-alkyl, C₃₋₈-sykloalkyl, C₃₈-heterosykloalkyl, aryl og heteroaryl; hvori alkylet, sykloalkylet, heterosykloalkylet, arylet eller heteroarylet av R₉ eventuelt er substituert med 1 til 3 radikaler uavhengig valgt fra halo, cyano, C₁₋₄-alkyl, halo-substituert-C₁₋₄-alkyl, C₁₋₄-alkoksy og halo-substituert-C₁₄-alkoksy; og R₁₀ og R₁₁ er uavhengig valgt fra hydrogen og R₉; og R₇ er valgt fra hydrogen, C₁₋₄-alkyl, C₃₋₅-sykloalkyl og C₃₋₅-heterosykloalkyl; hvori alkylet, sykloalkylet eller heterosykloalkylet av R₇ eventuelt er substituert med 1 til 3 radikaler uavhengig valgt fra halo, cyano, hydroksyl, C₁₋₄-alkyl, halo-substituert-C₁₋₄-alkyl, C₁₋₄-alkoksy og halo-substituert-C₁₋₄-alkoksy.

I tillegg beskrives heri forbindelser i hvilke R₄ er -R₉; hvori R₉ er valgt fra C₁₋₄-alkyl og C₃₋₈-sykloalkyl; hvori alkylet eller sykloalkylet av R₉ eventuelt er substituert med 1 til 3 radikaler uavhengig valgt fra halo og halo-substituert-C₁₋₄-alkyl.

I tillegg beskrives heri forbindelser i hvilke R₂ er valgt fra hydrogen og fluor; R₃ er valgt fra klor, fluor og metyl; R₅ er valgt hydrogen, fra klor og fluor; Y er valgt fra N og CR₆; og R₆ er valgt fra hydrogen og fluor.

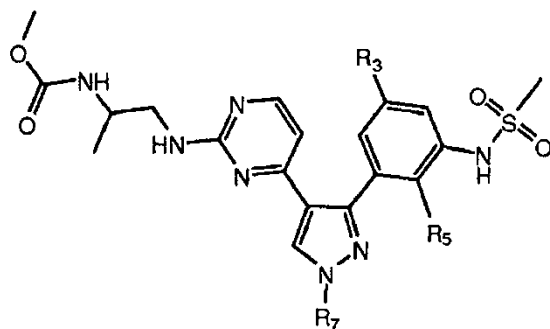
30

I tillegg beskrives heri forbindelser valgt fra: metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-klor-5-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-

- yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[2-fluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[3-klor-5-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2,6-difluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[2,6-difluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)aminolpropan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-fluor-3-[(3,3,3-trifluorpropan)sulfonamido]fenyl}-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino}propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-klor-2-metansulfonamidopyridin-4-yl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-fluor-2-metansulfonamidopyridin-4-yl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-klor-3-etansulfonamido-4,5-difluorfenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-T-({4-[3-(2,4-difluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[1-(propan-2-yl)-3-(2,4,5-trifluor-3-metansulfonamidofenyl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-etansulfonamido-2,4-difluorfenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-2-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propyl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(oksan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[2,4-difluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-syklopropansulfonamido-2,5-difluorfenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-3-syklopropansulfonamido-2-fluorfenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; og metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[5-

klor-2-fluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat.

I tillegg beskrives heri forbindelser med formel Ib:



Ib

der: R₃ er valgt fra klor, fluor og metyl; R₅ er valgt fra fluor og klor; og R₇ er valgt fra etyl og isopropyl.

- 10 I tillegg beskrives heri forbindelser valgt fra: metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2,5-difluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;
- 15 metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-fluor-3-metansulfonamido-5-metylfenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-klor-3-metansulfonamido-5-metylfenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;
- 20 metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-klor-5-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2R)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2,5-diklor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; og metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat.
- 25

I tillegg beskrives heri forbindelser valgt fra: N-[5-klor-3-(4-{2-[(2-cyanoethyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)-2-fluorfenyl]metansulfonamid; N-{5-klor-3-[4-(2-{2-(dimetylamino)etyl]amino}pyrimidin-4-yl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl]-2-fluorfenyl}metansulfonamid; N-(5-klor-2-fluor-3-{4-[2-(metylamino)pyrimidin-4-yl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl}fenyl)metansulfonamid; og N-{3-[4-(2-aminopyrimidin-4-yl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl]-5-klor-2-fluorfenyl}metansulfonamid.

10 I tillegg beskrives heri forbindelser valgt fra eksemplene og tabellene *infra*.

I tillegg beskrives heri mellomproduktforbindelser valgt fra: 3-brom-5-klor-2-fluoranilin; cyano-(2-metyltio-pyrimidin-4-yl)-acetic acid tert-butyl ester; 1-Isopropyl-4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-3-amin; 2-((2-benzyliden-1-ethylhydrazinyl)metylen)-malononitril; 1-(3-amino-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon; 1-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon; 1-(3-jod-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon; 1-(3-jod-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon; 3-(dimetylamino)-1-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)prop-2-en-1-on; 3-(dimetylamino)-1-(3-jod-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)prop-2-en-1-on; 3-(dimetylamino)-1-(3-jod-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)prop-2-en-1-on; 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-amin; 4-(3-jod-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-amin; 4-(3-jod-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-amin; 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ol; 2-klor-4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin; (S)-metyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat; (R)-metyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat; (S)-tert-butyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat; 3-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propannitril; 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-N-metylpyrimidin-2-amin; N¹-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-yl)-N²,N²-dimetyletan-1,2-diamin; N-(3-brom-2,4-difluorfenyl)propan-1-sulfonamid; 3-Fluor-4-jodpyridin-2-amin; 3-klor-4-jodpyridin-2-amin; 3-brom-2,5,6-trifluoranilin; 2,4-dibrom-3,6-dikloranilin; 3-brom-2-klor-5-metylanilin; 3-brom-2,5-difluoranilin; 3-brom-5-klor-2-fluorbenzosyre; tert-butyl-3-brom-5-klor-2-fluorfenylkarbamat; tert-butyl-3-brom-2-fluor-5-metylphenylkarbamat; tert-butyl-5-klor-2-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenylkarbamat; tert-butyl 2,6-difluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-

yl)fenylkarbamat; N-(2,4-difluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenyl)propan-1-sulfonamid; 2-(2-fluor-3-nitrofenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan; 2,5-difluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; 2-klor-5-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; 2,5-diklor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; 2-klor-5-metyl-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; tert-butyl 2-fluor-5-metyl-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenylkarbamat; 3-fluor-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)pyridin-2-amin; 2,3,6-trifluor-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; 3-klor-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)pyridin-2-amin; 3-klor-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; og 3-metoksy-2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin.

Den foreliggende oppfinnelsen inkluderer også alle egnede isotopiske variasjoner av forbindelsene ifølge oppfinnelsen eller farmasøytisk akseptable salter derav. En isotopisk variasjon av en forbindelse ifølge oppfinnelsen eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav er definert som én der i det minste ett atom erstattes av et atom som har samme atomnummer, men en atommasse som er forskjellig fra atommassen som vanlig finnes i naturen. Eksempel på isotopes som kan inkorporeres i forbindelsene ifølge oppfinnelsen og farmasøytisk akseptable salter derav inkluderer men er ikke begrenset til isotoper av hydrogen, karbon, nitrogen og oksygen så som ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl og ^{123}I . Enkelte isotopiske variasjoner av forbindelsene ifølge oppfinnelsen og farmasøytisk akseptable salter derav, for eksempel de i hvilke en radioaktiv isotop så som ^3H eller ^{14}C er inkorporert, er nyttige i vevsdistibusjonsstudier av legemiddel og/eller substrat. I spesielle eksempel kan ^3H and ^{14}C -isotoper anvendes fordi de er enkle å fremstille og detektere. I andre eksempel kan substitusjon med isotoper så som ^2H gi visse terapeutiske fordeler på grunn av større metabolsk stabilitet, så som økt halveringstid in vivo eller reduserte doseringskrav. Isotopiske variasjoner av forbindelsen ifølge oppfinnelsen eller farmasøytisk akseptable salter derav kan generelt fremstilles av konvensjonelle fremgangsmåter ved hjelp av nøyaktige isotopiske variasjoner av egnede reagenser.

I tillegg til å øke MEK- og ERK-signaler i villtype B-Raf-celler, induserer noen Raf-hemmere også celledvekst i cancercellelinjer, og forårsaker transformasjon og vekst i fibroblaster. Induksjonen av nedstrøms signaler er tidligere tilskrevet

bekjentgjorte Raf-signalvei-tilbakekoblingssløyfer (eng.: feedback loops). Induksjon av pMEK og pERK kan imidlertid forekomme i minuttene etter Raf-hemmerbehandling, selv før rapporterte tilbakekoblings-fosforyleringshendelser ses på B-Raf og C-Raf. Induksjonen av signaler og cellevekst og forekommer

 5 begge i a bifasisk mønster, med lave forbindelseskonsentrasjoner (0,01–0,1 μM) som forårsaker maksimal induksjon, og høyere forbindelseskonsentrasjoner (1–10 μM) som forårsaker mindre dyp induksjon. Et slikt bifasisk mønster er også observert i biokjemiske assay med rensset villtype B-Raf eller C-Raf og tyder på en mekanisme som involverer interaksjon mellom to signalunderenheter. I

 10 tillegg kan Raf-dimerisering kan oppregulere pMEK, ikke gjennom transfosforylering av Raf-molekyler, men antakeligvis ved en konformasjonell aktivering av kinasen. I samsvar med den modellen induserer Raf-hemmerbehandling B-Raf/C-Raf-dimerdannelse i celler. I tillegg opphever ikke lammelse av A- eller B-Raf med siRNA Raf-hemmerens induksjon av pMEK og

 15 pERK, og lammelse av C-Raf reduserer induksjonen bare svakt. Spesielt reduserer lammelse av K-Ras i K-Ras-mutante celler induksjonen bare svakt, noe som antyder at denne effekten ikke primært er mediert av Ras. Tatt under ett tyder dataene på en modell i hvilken hemmerbinding til ett Raf-molekyl induserer dimerisering og konformasjonell aktivering av et Raf-partnermolekyl i

 20 dimeren. Dette kan forklare hvorfor villtype Raf-tumorer og mutante Ras-tumorer er ufølsomme for selektive Raf-kinasehemmere og vil også kunne ha viktig betydning for toksisitet, siden induksjon av sterke mitogene signaler kan vil kunne føre til hyperproliferasjon av normalt vev. Forståelse av Raf-hemmerens induksjonsmekanisme kan føre til utforming av forbedrede

 25 hemmere.

Tilsetningen av en MEK-hemmer i kombinasjon med en Raf-hemmer fører til signifikant hemming av ERK-signaler og følgelig en reduksjon i celleproliferasjon og -transformasjon. Siden MEK-hemmerbehandling alene har ført til

 30 dosebegrensende toksisiteter i det kliniske, kan en kombinasjon av Raf pluss MEK-hemmer representere en bedre behandlingsstrategi.

Den foreliggende oppfinnelsen inkluderer også kombinasjoner av BRaf-hemmerne beskrevet i denne oppfinnelsen med andre middel. Særlig

 35 tilveiebringer den foreliggende forbindelsen kombinasjoner med MEK1/2-hemmere. Figur 1 illustrerer at tilsetningen av småmolekyl-MEK-hemmer kan reversere det induserte ERK-signal, celleveksten og -transformasjonen

forårsaket av en småmolekyl-Raf-hemmer. For eksempel en forbindelse med formel I (forbindelse 9 ifølge oppfinnelsen, nemlig: ((S)-metyl-1-(4-(3-(5-klor-2-fluor-3-(metylsulfonamido)fenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat) kan føre til en induksjon i celleproliferasjon, sett som en negativ hemming i figur 1 av en Cell Titer Glo-assay ved hjelp av SW620-celler. Y-aksen viser negativ og positiv hemming. Hvert forsøk er vist som en serie av 9 seriefortynninger mellom 10 og 0,002 (iM. Forbindelse A1 (N-(4-metyl-3-(1-(6-(4-metylpiperazin-1-ylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-imidazol-2-ylamino)fenyl)-3-(trifluormetyl)benzamid) er en kontroll, A3 er en MEK-hemmer (PD0325901). Forbindelse 9 testes i fravær og nærvær av 1 µM, 0,1 µM og 0,01 µM MEK-hemmer A3.

Farmakologi og nytte

Forbindelser ifølge oppfinnelsen modulerer aktiviteten av kinaser og er, som sådan, nyttige for å behandle sykdommer eller lidelser i hvilke kinaser bidrar til sykdommens patologi og/eller symptomologi. Eksempel på kinaser som hemmes av forbindelsene og sammensetningene beskrevet heri og mot hvilke fremgangsmåtene beskrevet heri er nyttige, inkluderer, men er ikke begrenset til, B-Raf, inkludert mutante former av B-Raf.

Den mitogen-aktiverte proteinkinase (MAPK)-signalveien medierer aktiviteten av et antall effektormolekyler som koordinerer for å kontrollere celleproliferasjon, -overlevelse, -differensiering og -migrasjon. Stimulering av celler ved, for eksempel, vekstfaktorer, cytokiner eller hormoner resulterer i at den plasmamembran-assosierte Ras-en blir GTP-bundet og derved aktivert til å rekruttere Raf. Denne interaksjonen induserer Raf-kinaseaktiviteten som fører til direkte fosforylering av MAPK/ERK (MEK), som i sin tur fosforylerer den ekstracellulære signal-relaterte kinasen (ERK). Aktivert ERK fosforylerer deretter en lang rekke effektormolekyler, for eksempel kinaser, fosfataser, transkripsjonsfaktorer og cytoskjelettproteiner. Derfor overfører Ras-Raf-MEK-ERK-signalveien signaler fra celleoverflatereseptorer til kjernen og er essensiell, for eksempel, i celleproliferasjon og -overlevelse. Reguleringen av denne signalkaskaden berikes ytterligere av de flere isoformene av Ras (inkludert K-Ras, N-Ras og H-Ras), Raf (A-Raf, B-Raf, C-Raf/Raf-1), MEK (MEK-1 og MEK-2) og ERK (ERK-1 og ERK-2). Siden 10–20 % av humane cancere bærer onkogene

Ras-mutasjoner, og mange humane cancere har aktiverte vekstfaktorreseptorer, er denne signalveien et ideelt mål for intervensjon.

Den essensielle rolle og posisjonen til Raf i mange signalveier er demonstrert fra studier ved hjelp av deregulerte og dominante hemmende Raf-mutanter i pattedyrceller, så vel som fra studier som benytter biokjemiske og genetiske teknikker for å modellere organismer. Tidligere har det fokuseringen på Raf som et anti-tumorlegemiddelmål vært sentrert på dens funksjon som en nedstrøms effektor av Ras. Nyere funn tyder imidlertid på at Raf kan ha en fremtredende rolle i dannelsen av enkelte tumorer uten krav om et onkogent Ras-allel. Særlig er aktivering av alleler av B-Raf og N-Ras identifisert ~ 70 % av melanomer, 40 % av papillære thyroideakarsinomer, 30 % av lavgradige karsinomer i eggstokkene og 10 % av kolorektalcancere. Mutasjoner i K-Ras forekommer i tilnærmet 90 % av pankreascancere. De fleste B-Raf-mutasjoner finnes i kinasedomenet, der en enkelt substitusjon (V600E) svarer for minst 80 %. De muterte B-Raf-proteinene aktiverer Raf-MEK-ERK-signalvei enten via forhøyet kinaseaktivitet mot MEK eller via aktivering av C-Raf.

Derfor tilveiebringer utvikling av en kinasehemmer for B-Raf en ny terapeutisk mulighet for behandling av mange humane cancere, spesielt for metastatiske melanomer, faste tumorer, hjernetumorer så som glioblastoma multiforme (GBM), kutt myelogen leukemi (AML), lungecancer; papillært thyroideakarsinom, lavgradig karsinom i eggstokkene og kolorektal cancer. Flere Raf-kinasehemmere er beskrevet som fremvisende effekt i hemming av tumorcelleproliferasjon in vitro- og/eller in vivo-assay (se for eksempel, US patent nr. 6,391,636, 6,358,932, 6,037,136, 5,717,100, 6,458,813, 6,204,467 og 6,268,391). Andre patenter og patentsøknader foreslår anvendelse av Raf-kinasehemmere for behandling av leukemi (se for eksempel, US patentnr. 6 268 391. 6,204,467, 6,756,410, og 6,281,193; og oppgitte US patentsøknader med nr. 20020137774 og 20010006975), eller for behandling av brystcancer (se for eksempel US patentnr. 6,358,932, 5,717,100, 6,458,813, 6,268,391, 6,204,467 og 6,911,446). Data demonstrerer at Raf-kinasehemmere kan hemme signaler gjennom MAPK-signalveien signifikant, noe som fører til dramatisk krymping i B-Raf (V600E)-tumorer.

Forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen hemmer celleprosesser som involverer B-Raf-kinase ved å blokkere signalkaskaden i disse cancercellene og til slutt indusere stase og/eller død av cellene.

- 5 I samsvar med det foregående er det heri beskrevet medisinske anvendelser av forbindelsene for forebygging eller behandling av lungekarsinom, prostatacancer, magecancer, pankreaskarsinom, blærekarzinom, kolonkarsinom, myelogene lidelser, prostatacancer, cancer i skjoldbruskkjertelen, melanom, adenomer og karsinomer i eggstokkene, øyet, leveren, galleveiene og nervesystemet. Videre
- 10 kan forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen administreres i en terapeutisk effektiv mengde til et individ med behov for behandling.

(Se "*Administration and Pharmaceutical Compositions* ", *infra*).

- 15 For en hvilken som helst av de ovennevnte anvendelsene vil den påkrevde doseringen variere avhengig av administreringsmåten, den særlige tilstanden som skal behandles, og den ønskede effekten.

Administrering og farmasøytiske sammensetninger

- 20 Forbindelser ifølge oppfinnelsen vil generelt bli administrert i terapeutisk virkningsfulle mengder via en hvilken som helst av de vanlige og akseptable måtene som er kjent i teknikken, enten enkeltvis eller i kombinasjon med ett eller flere terapeutiske middel. En terapeutisk virkningsfull mengde kan variere
- 25 mye avhengig av sykdommens alvorlighetsgrad, individets alder og relative helse, den anvendte forbindelsens potens og andre faktorer. Tilfredsstillende resultater indikeres å oppnås systematisk ved daglige doseringer på fra ca. 0,03 til 30mg/kg per kroppsvekt. En indikert daglig dosering til større pattedyr, f.eks. mennesker, er fra ca. 0,5 mg til ca. 2000mg, praktisk administrert, f.eks. i delte
- 30 doser opp til fire ganger per dag eller i forsinket form. Egnede enhetsdoseringsformer for oral administrering omfatter fra ca. 1 til 500mg aktiv ingrediens.

- 35 Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan administreres som farmasøytiske sammensetninger ved en hvilken som helst konvensjonell rute, særlig enteralt, f.eks. oralt for eksempel i form av tabletter eller kapsler, eller parenteralt for

eksempel i form av injiserbare løsninger eller suspensjoner, topikalt for eksempel i form av lotioner, geler, salver eller kremer eller i nese- eller stikkpilleform. Farmasøytiske sammensetninger omfattende en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen i fri form eller i form av et farmasøytisk akseptabelt salt i forbindelse med minst én farmasøytisk akseptabel bærer eller fortynner kan produseres på en konvensjonell måte ved blandings-, granulerings- eller overtrekkingsfremgangsmåter. Orale sammensetninger kan for eksempel være tabletter eller gelatinkapsler omfattende den aktive ingrediensen sammen med a) fortynnere, f.eks. laktose, dekstrose, sukrose, mannitol, sorbitol, cellulose og/eller glycin, b) smøremiddel, f.eks. silika, talkum, stearinsyre, dens magnesium- eller kalsiumsalt og/eller polyetylenglykol, for tabletter også c) bindemiddel, f.eks. magnesiumaluminiumsilikat, stivelsespasta, gelatin, tragakant, metylcellulose, natriumkarboksymetylcellulose og/eller polyvinylpyrrolidon, om ønskelig d) desintegreringsmiddel, f.eks. stivelsesmiddel, agar, algininsyre eller dens natriumsalt, eller bruseblandinger og/eller e) absorbenter, fargemiddel, smakstilsetningsmiddel og søtningsmiddel. Injiserbare sammensetninger kan være vandige isotoniske løsninger eller suspensjoner, og stikkpiller kan fremstilles fra fettholdige emulsjoner eller suspensjoner. Sammensetningene kan steriliseres og/eller inneholde adjuvaner, så som konserveringsmiddel, stabiliseringsmiddel, fuktemiddel eller emulgeringsmiddel, løsningspromotere, salter for regulering av det osmotiske trykket og/eller buffere. De kan i tillegg også inneholde andre terapeutisk verdifulle stoffer. For eksempel kan forbindelser ifølge oppfinnelsen formuleres i et mikroemulsjon-forkonsentrat (microemulsion pre concentrate, MEPC). Forbindelser med formel I kan fremstilles ved 40 mg/ml i en blanding av 56 % PEG400, 29 % kremofor EL og 15 % oleinsyre. Blandingen, uten en forbindelse med formel I, fremstilles først ved vorteksing/risting. En forbindelse ifølge oppfinnelsen tilsettes, og sonikering anvendes for å dispergere pulveret i vehikkelet. Blandingen varmes opp til 80 °C i et vannbad i omtrent en times omrøring, med sonikering hvert 15. minutt. Denne blandingen er fysisk og kjemisk stabil ved romtemperatur i omtrent én uke.

Egnede formuleringer for transdermal tilførsel inkluderer en virkningsfull mengde av en forbindelse ifølge den foreliggende oppfinnelsen med en bærer. En bærer kan inkludere absorberbare farmakologisk akseptable løsemiddel for å bistå i passering gjennom vertens hud. Transdermale anordninger er for eksempel i form av en bandasje omfattende et støtteelement, et reservoar inneholdende

- forbindelsen eventuelt med bærere, eventuelt en hastighetsregulerende barriere for å levere forbindelsen til vertens hud ved en regulert og forhåndsbestemt hastighet over en lengre tidsperiode og et middel til å feste anordningen til huden. Transdermale matriseformuleringer kan også anvendes. Egnede formuleringer for lokal administrering, f.eks. til huden og øynene, er foretrukket vandige løsninger, salver, kremer eller geler som er velkjent i teknikken. Slike kan inneholde løsemiddel, stabilisatorer, tonisitetsforsterkningsmiddel, buffere og konserveringsmiddel.
- Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan administreres i terapeutisk virkningsfulle mengder i kombinasjon med ett eller flere terapeutiske middel (farmasøytiske kombinasjoner). For eksempel kan det forekomme synergieffekter med andre anti-tumor eller antiproliferative middel, for eksempel mitosehemmere, alkylende middel, anti-metabolitter, interkalerende antibiotika, vekstfaktorhemmere, cellesyklusshemmere, enzymet, topoisomerasehemmere, biologisk- respons-modifikatorer, antistoffer, cytotoksika, anti-hormoner, anti-androgener, et anti-angiogenesemiddel, en kinasehemmer, pan-kinasehemmer eller vekstfaktorhemmer.
- Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan administreres i terapeutisk effektive mengder i kombinasjon med ett eller flere egnede hjelpestoffer valgt fra maisstivelse, potetstivelse, tapiokastivelse, stivelsespasta, pregelatinisert stivelse, sukker, gelatin, naturgummier, syntetiske gummier, natriumalginat, algininsyre, tragakant, guar gummi, cellulose, etylcellulose, celluloseacetat, karboksymetylcellulosekalsium, natriumkarboksymetylcellulose, metylcellulose, hydroksypropylmetylcellulose, mikrokrySTALLINSK cellulose, magnesiumaluminumsilikat, polyvinylpyrrolidon, talkum, kalsiumkarbonat, pulvercellulose, dekstrater, kaolin, mannitol, kiselsyre, sorbitol, agar-agar, natriumkarbonat, kroskarmellosenatrium, krosopovidon, polakrilinkalium, natriumstivelseglykolat, leirer, natriumstearat, kalsiumstearat, magnesiumstearat, stearinsyre, mineralolje, lett mineralolje, glyserin, sorbitol, mannitol, polyetylen glykol, andre glykoler, natriumlaurylsulfat, hydrogenert vegetabilsk olje, peanøttolje, bomullsfrøolje, solsikkeolje, sesamolje, olivenolje, maisolje, soyaolje, sinkstearat, natriumoleat, etyloleat, etyllaureat, silika og kombinasjoner derav.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan administreres i kombinasjon med et ytterligere terapeutisk middel. Det ytterligere terapeutiske middelet omfatter et anticancerlegemiddel, et smertestillende middel, et antiemetikum, et antidepressivum eller et antiinflammatorisk middel. Videre er det ytterligere terapeutiske middelet en annen Raf-kinasehemmer eller en hemmer av MEK, mTOR, HSP90, AKT, PI3K, CDK9, PAK, proteinkinase C, en MAP-kinase, en MAPK-kinase eller ERK og administreres til individet samtidig med en forbindelse ifølge oppfinnelsen.

For eksempel fører tilsetningen av en MEK-hemmer i kombinasjon med en Raf-hemmer til signifikant hemming av ERK-signaler og følgelig en reduksjon i celleproliferasjon og -transformasjon. Siden MEK-hemmerbehandlinger alene har ført til dosebegrensende toksisiteter i det kliniske, representerer en kombinasjon av Raf pluss MEK-hemmer en bedre behandlingsstrategi. Eksempel på MEK-hemmere er AS703026 (EMD Serono); MSC1936369B (EMD Serono); GSK1120212 (GlaxoSmithKline); AZD6244 (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center); PD-0325901 (Pfizer); ARRY-438162 (Array BioPharma); RDEA119 (Ardea Biosciences, Inc.); GDC0941 (Genentech); GDC0973 (Genentech); TAK-733 (Millennium Pharmaceuticals, Inc.); RO5126766 (Hoffmann-La Roche) og XL-518 (Exelixis).

I en annen utførelsesform ifølge oppfinnelsen er kombinasjoner og fremgangsmåter for behandling av cancer omfattende en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse ifølge den korte beskrivelsen av oppfinnelsen (Raf-hemmer) og minst én MEK proteinkinasehemmer.

Hvis forbindelsene ifølge oppfinnelsen administreres i kombinasjon med andre behandlinger, vil doseringer av de samtidig administrerte forbindelsene selvfølgelig variere avhengig av typen samtidig legemiddel som benyttes, av det spesifikke legemiddelet som benyttes, av tilstanden som behandles, osv.

Oppfinnelsen tilveiebringer også farmasøytisk kombinasjoner, f.eks. et sett omfattende a) et første middel som er en forbindelse ifølge oppfinnelsen som beskrevet heri, i fri form eller i form av et farmasøytisk akseptabelt salt og b) minst ett samtidig middel. Settet kan omfatte instruksjoner for dets administrering.

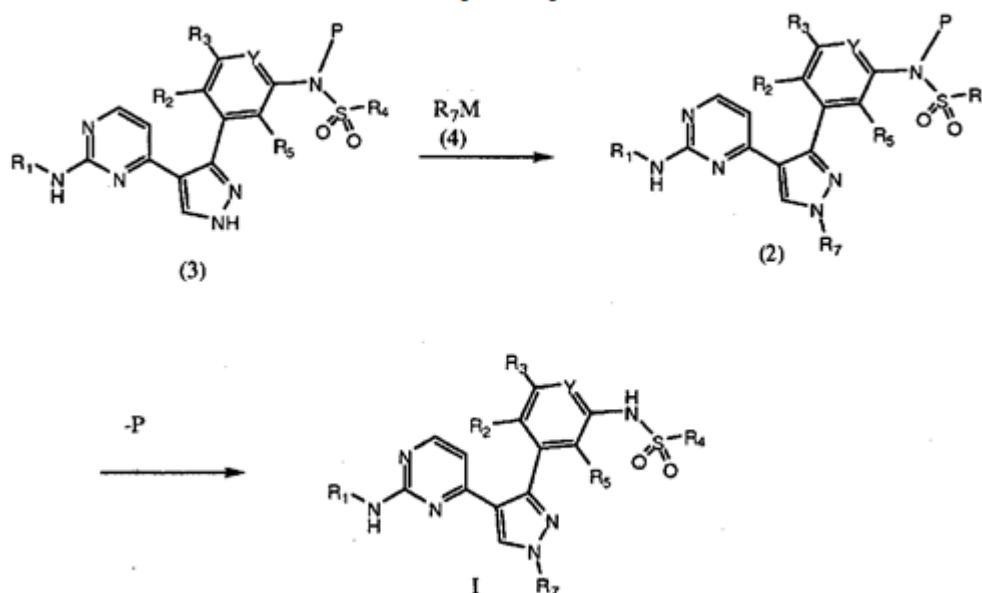
Betegnelsene "samtidig administrering" eller "kombinert administrering" eller lignende som benyttet heri er ment å innbefatte administrering av de valgte terapeutiske midlene til en enkelt pasient, og er beregnet på å inkludere behandlingsregimer hvori midlene ikke nødvendigvis administreres ved samme administreringsrute eller på samme tidspunkt.

Betegnelsen "farmasøytisk kombinasjon" betyr som anvendt heri et produkt som kommer av blandingen eller kombinasjonen av mer enn én aktiv ingrediens, og inkluderer både faste og ikke-faste kombinasjoner av de aktive ingrediensene. Betegnelsen "fast kombinasjon" betyr at både den aktive ingrediensen, f.eks. en forbindelse med formel I, og et samtidig middel administreres til en pasient samtidig i form av en enkelt enhet eller dose. Betegnelsen "ikke-fast kombinasjon" betyr at både de aktive ingrediensene, f.eks. en forbindelse med formel I og et samtidig middel, administreres til en pasient som separate enheter enten samtidig eller sekvensielt uten spesifikke tidsbegrensninger, hvori slik administrering tilveiebringer terapeutisk virkningsfulle nivåer av de 2 forbindelsene i pasientens kropp. Sistnevnte gjelder også for blandet behandling, f.eks. administrering av 3 eller flere aktive ingredienser.

Prosesser for fremstilling av forbindelser ifølge oppfinnelsen

Den foreliggende oppfinnelsen inkluderer også fremgangsmåter for fremstilling av forbindelser ifølge oppfinnelsen. I reaksjonene som er beskrevet, kan det være nødvendig å beskytte reaktive funksjonelle grupper, for eksempel hydrokso-, amino-, imino-, tio- eller karboksygrupper, der disse er ønskelige i sluttproduktet, for unngå deres uønskede deltagelse i reaksjonene. Konvensjonelle beskyttende grupper kan anvendes i samsvar med standard praksis, se for eksempel T.W. Greene og P. G. M. Wuts i "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

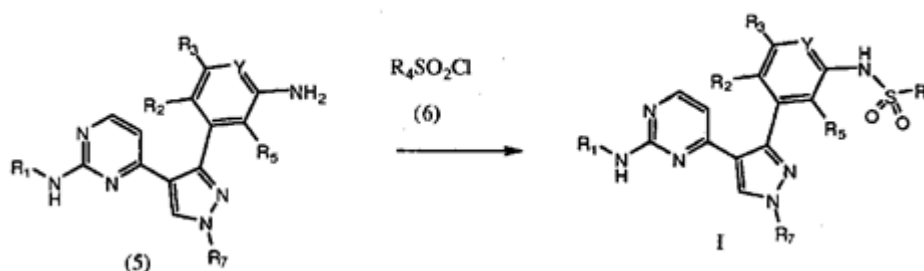
Forbindelser med formel I kan fremstilles ved å fortsette som i følgende reaksjonsskjema I:

Reaksjonsskjema I

i hvilket R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₇ og Y er som definert i den korte beskrivelsen av oppfinnelsen, P er en egnet beskyttende gruppe (for eksempel, MEM, MOM, SEM, R₄SO₂ og lignende), og M er en forlatende gruppe (for eksempel, klor, brom, jod, metansulfonyloksy, p-toluensulfonyloksy og lignende). En forbindelse med formel I kan syntetiseres ved fjerning av beskyttende gruppe P fra en forbindelse med formel 2 (for eksempel ved behandling med en sterk syre så som hydrogenklorid i nærvær av et protisk løsemiddel så som metanol eller vann når P er MEM, MOM, eller SEM; eller ved behandling med vandig eller metanolisk natrium- eller kaliumkarbonat, eventuelt i nærvær av et ko-løsemiddel så som toluen, når P er en andre sulfonylgruppe R₄SO₂).

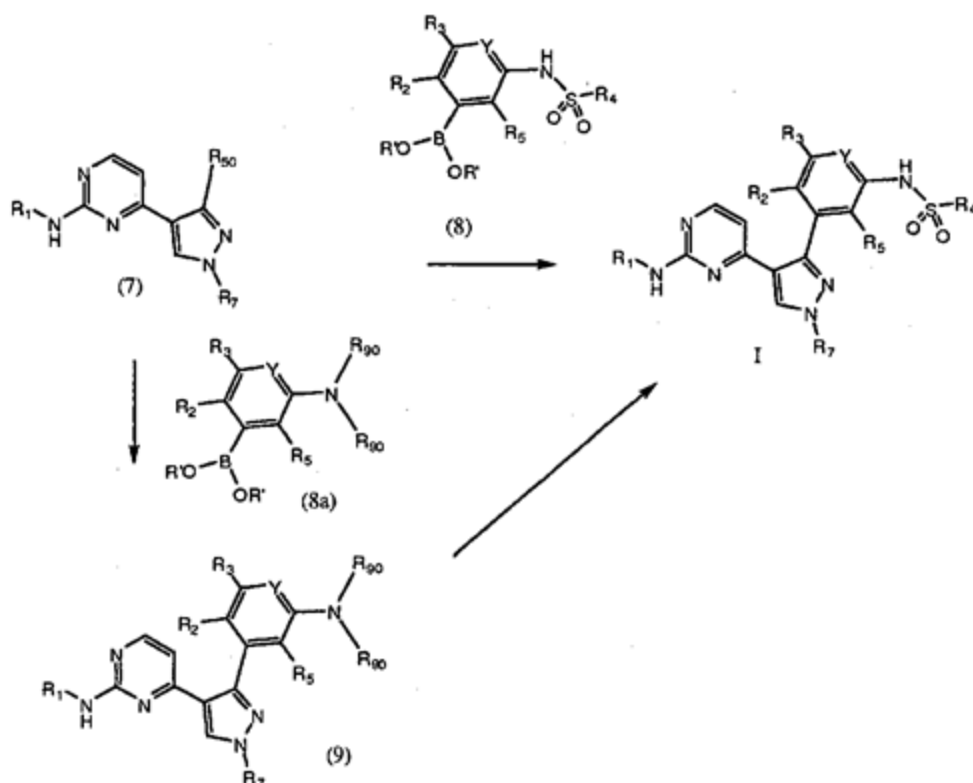
Forbindelser med formel 2 kan syntetiseres ved å la en forbindelse med formel 3 reagere med et alkyleringsmiddel med formel 4 i nærvær av et egnet løsemiddel (for eksempel, DMF, DMSO og lignende) og en egnet base (for eksempel kaliumkarbonat, natriumhydrid og lignende). Reaksjonen foregår i et temperaturområde på omtrent 0 °C til omtrent 150 °C og kan ta opptil 24 timer å fullføre. Reaksjonsblandingen reageres eventuelt ytterligere for å fjerne eventuelle beskyttende grupper.

Forbindelser med formel I kan fremstilles ved å fortsette som i følgende reaksjonsskjema II:

Reaksjonsskjema II

i hvilket R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 og Y er som definert i den korte beskrivelsen av oppfinnelsen. En forbindelse med formel I kan syntetiseres ved å la en forbindelse med formel 5 reagere med en sulfonyleringsreagens med formel 6 i nærvær av en egnet base (for eksempel, pyridin, trietylamin, 4-(N,N-dimetylamino)pyridin og lignende) og et egnet løsemiddel (så som pyridin, diklormetan, 2-metyl-THF og lignende). Reaksjonen foregår i et temperaturområde på omtrent 0°C til omtrent 100°C og kan ta opptil 24 timer å fullføre. Reaksjonsblandingen reageres eventuelt ytterligere for å fjerne eventuelle beskyttende grupper. I noen tilfeller kan sulfonyleringsreagensen reagere to ganger for å fremstille etbis-sulfonylderivat. I dette tilfellet kan bis-sulfonylforbindelsen omdannes til en forbindelse med formel a ved behandling med en egnet base (for eksempel natrium- eller kaliumhydroksid, eller natrium- eller kaliumkarbonat) i nærvær av et protisk løsemiddel så som metanol eller vann, eventuelt i nærvær av et ko-løsemiddel så som toluen eller 2-metyl-THF. Reaksjonen finner sted i et temperaturområde på omtrent 20 °C til omtrent 100 °C og kan ta opptil 24 timer å fullføre.

Forbindelser med formel I kan også fremstilles ved å fortsette som i følgende reaksjonsskjema III:

Reaksjonsskjema III

i hvilket R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 og Y er som definert i den korte beskrivelsen av oppfinnelsen, R_{50} er en forlatende gruppe (for eksempel, jod, brom, klor, trifluormetansulfonyloksy og lignende), hver R' kan være for eksempel hydrogen, metyl og lignende, eller de to R' -gruppene kan være sammenføyde for å danne en syklisk boratester. De to R_{90} -gruppene kan for seg være hydrogen, eller de to R_{90} -gruppene, tatt under ett, kan representere en egnet nitrogenbeskyttende gruppe (for eksempel kan én R_{90} være hydrogen og den andre kan være BOC). En forbindelse med formel Ia kan syntetiseres ved å la en forbindelse med formel 7 reagere med en forbindelse med formel 8 i nærvær av en egnet overgangsmetallkatalysator (for eksempel tetrakis(trifenylofosfinpalladium)(0) eller $PdCl_2(dppf)$, et egnet løsemiddel (for eksempel, DME, dioksan, toluen, etanol og lignende) og en egnet base (for eksempel vannfritt kaliumkarbonat eller vandig natriumkarbonatløsning og lignende). Reaksjonen foregår i et temperaturområde på omtrent 20°C til omtrent 120°C og kan ta opptil 24 timer å fullføre. Reaksjonsblandingen reageres eventuelt ytterligere for å fjerne eventuelle beskyttende grupper.

En forbindelse med formel 1 kan også fremstilles ved en lignende Suzuki-reaksjonsprotokoll i hvilken en forbindelse med formel 7 reagerer med en forbindelse med formel 8a for å generere en forbindelse med formel 9. Etter avbeskyttelse av R_{90} -gruppene genererer en sulfonyleringsreaksjon, som

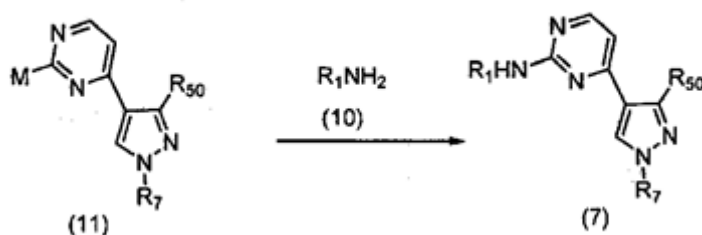
5

Det vil forstås av fagmannen at andre organometall-koblingsreaksjoner, for eksempel ved hjelp av tinnreagenser (Stille-kobling) eller sinkreagenser (Negishi-kobling), også kan benyttes i stedet for Suzuki-koblingreaksjonen ved hjelp av borreagenser beskrevet i reaksjonsskjema III.

10

Forbindelser med formel 7 kan fremstilles ved å fortsette som i følgende reaksjonsskjema IV:

Reaksjonsskjema IV



15

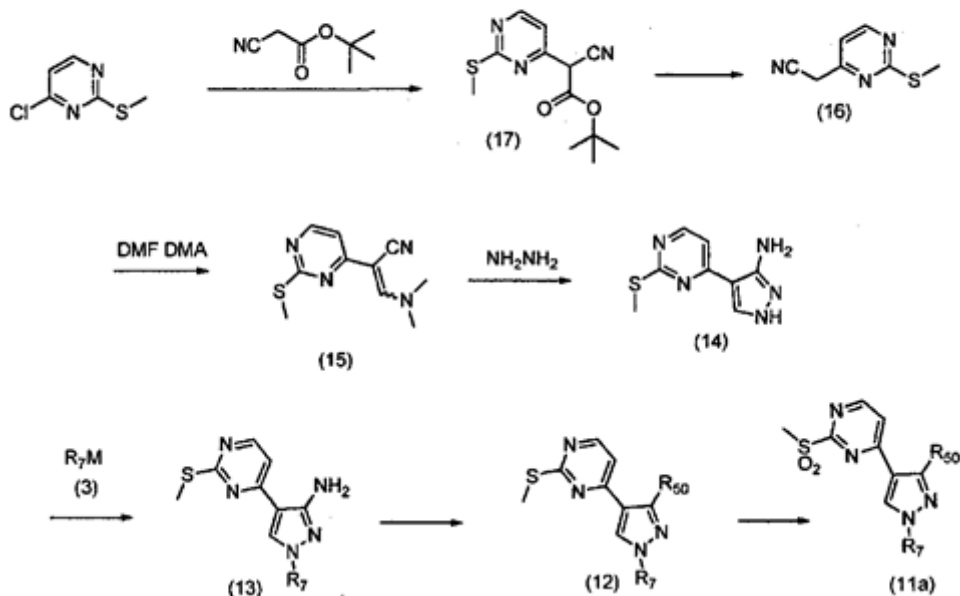
I dette tilfellet er M en forlatende gruppe (for eksempel, klor, brom, jod, metansulfonyl og lignende), R_{50} er en forlatende gruppe (for eksempel, jod, brom, klor, trifluormetansulfonyloksy og lignende), og R_7 er som definert i den korte beskrivelsen av oppfinnelsen. En forbindelse med formel 7 kan fremstilles ved å la en aminforbindelse med formel 10 reagere med en forbindelse med formel 11. Reaksjonen utføres i nærvær av en egnet base (for eksempel, trietylamin, kaliumkarbonat og lignende) i et løsemiddel så som isopropanol, DMSO, NMP, eller dioksan ved en temperatur fra omtrent 25 til omtrent 120 °C. I noen tilfeller kan ytterligere transformasjoner av den nylig introduserte R_1 -gruppen utføres sammenhengende for å komme frem til den endelige tiltenkte R_1 -gruppen.

20

25

Forbindelser med formel 11a, som er et delsett av forbindelser med formel 11 i hvilke M er metansulfonyl, kan fremstilles ved å gå frem som i følgende reaksjonsskjema V:

Reaksjonsskjema V



5

i hvilket R₇ og R₅₀ er som definert i den korte beskrivelsen av oppfinnelsen. En forbindelse med formel 11a kan fremstilles ved å la en forbindelse med formel 12 reagere med et egnet oksideringssystem (for eksempel m-klorperbenzoesyre i et løsemiddel av diklormetan, eller Oxone™ i vandig metanol og lignende), ved en temperatur på omtrent - 78 °C til omtrent 50 °C. Reaksjonen tar opptil omtrent 24 timer å fullføre.

10

En forbindelse med formel 12 i hvilken R₅₀ er klor, brom, eller jod kan i sin tur fremstilles ved å la en aminforbindelse med formel 13 reagere med et egnet dinitrogeniseringsreagenssystem (for eksempel salpetersyrling i kombinasjon med et kobber-(I)-halidsalt, isoamylnitritt i kombinasjon med kobber-(I)-jodid/metylenjodid, isoamylnitritt i kombinasjon med bortrifluorid, jod og kaliumjodid i acetonitril og lignende). Reaksjonen finner sted ved en temperatur på omtrent 0 til omtrent 80 °C og tar fra omtrent 1 til omtrent 6 timer å fullføre.

15

20

En forbindelse med formel 13 kan fremstilles ved å la en forbindelse med formel 14 reagere med en forbindelse med formel 3, som beskrevet for reaksjonsskjema I.

5 En forbindelse med formel 14 kan fremstilles ved syklisering av en enaminonitrilforbindelse med formel 15 med hydrazin eller et hydrazinsalt i et egnet løsemiddel (for eksempel etanol og lignende). Reaksjonen finner sted ved en temperatur på omtrent 25 til omtrent 100 °C og kan ta fra omtrent 1 time til omtrent 24 timer å fullføre.

10

Alternativt kan en forbindelse med formel 13 fremstilles fra en forbindelse med formel 15 i en ett-trinns fremgangsmåte ved å la en forbindelse med formel 15 reagere med et monosubstituert hydrazin R_7NH-NH_2 . Reaksjonen finner sted ved en temperatur på omtrent 25 til omtrent 100°C og kan ta fra omtrent 1 time til omtrent 24 timer å fullføre.

15

En forbindelse med formel 15 kan i sin tur fremstilles ved reaksjon av en forbindelse med formel 16 med DMF DMA eller Brederecks reagens, eventuelt i nærvær av et ko-løsemiddel så som DMF, ved en temperatur på omtrent 50 til omtrent 150°C. Reaksjonen tar omtrent 1 til omtrent 24 timer å fullføre.

20

En forbindelse med formel 16 kan fremstilles ved behandling av en forbindelse med formel 17 med en egnet syre (for eksempel p-toluensulfonsyre og lignende) i et egnet inert løsemiddel (for eksempel toluen og lignende). Reaksjonen finner sted ved en temperatur på omtrent 50 til omtrent 120°C og tar omtrent 1 til omtrent 24 timer å fullføre.

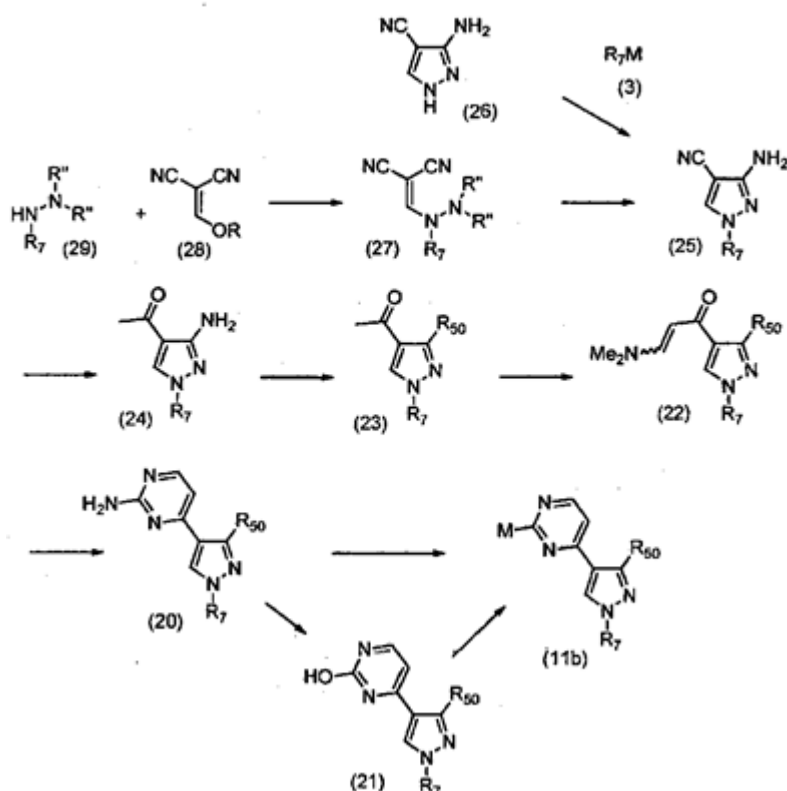
25

Til slutt kan en forbindelse med formel 17 fremstilles ved reaksjon av 4-klor-2-(metyltio)pyrimidin med tert-butylcyanoacetat i nærvær av en egnet base (for eksempel natriumhydrid og lignende) og et egnet løsemiddel (for eksempel DMSO og lignende), ved en temperatur på omtrent 25 til omtrent 80 °C. Reaksjonen tar fra omtrent 1 til omtrent 24 timer å fullføre.

30

Forbindelser med formel 11b, som er et delsett av forbindelser med formel 11 i hvilke M er et halogen, kan fremstilles ved å gå frem som i følgende reaksjonsskjema VI:

35

Reaksjonsskjema VI

i hvilket R_7 og R_{50} er som definert i den korte beskrivelsen av oppfinnelsen. En forbindelse med formel 11b, i hvilken M er et halogen, kan fremstilles ved å la en forbindelse med formel 20 reagere med et egnet dinitrogeniseringsreagenssystem (for eksempel salpetersyring i kombinasjon med et kobber-(I)-halidsalt, natriumnitritt i kombinasjon med p-toluensulfonsyre og kaliumjodid. Reaksjonen finner sted ved en temperatur på omtrent 0 til omtrent 80 °C og tar fra omtrent 1 til omtrent 6 timer å fullføre. Alternativt tilveiebringer behandling av en forbindelse med formel 20 med en dinitrogeniseringsreagens (for eksempel natriumnitritt og lignende) i nærvær av en karboksylsyre (for eksempel trifluoreddiksyre og lignende) ved 0 til 40 °C i et tidsrom på omtrent 0,5 til omtrent 6 timer, etterfulgt av behandling med en basisk vandig løsning (for eksempel vandig kaliumkarbonatløsning og lignende) en forbindelse med formel 21 (en slik forbindelse kan eksistere i tautomere former). Etterfølgende behandling av en forbindelse med formel 21 med et klorineringsmiddel (for eksempel, fosforoksyklorid og lignende), eventuelt i nærvær av en base så som N,N-dimetylanilin eller DIPEA, og eventuelt i nærvær av et inert løsemiddel så som acetonitril eller toluen, og et additiv så som DMF,

ved en temperatur på omtrent 50 til omtrent 110 °C, og i et tidsrom fra omtrent 1 til omtrent 72 timer, tilveiebringer en forbindelse med formel 11b, i hvilken M er klor.

- 5 En forbindelse med formel 20 kan i sin tur fremstilles ved reaksjon av en forbindelse med formel 22 med guanidin eller et guanidinsalt (for eksempel guanidininhydroklorid eller guanidinkarbonat), eventuelt i nærvær av en base (for eksempel litiumhydroksid og lignende) i et egnet løsemiddel (for eksempel sec-butanol, NMP og lignende), ved en temperatur fra omtrent 50 til omtrent 10 180 °C, og i et tidsrom på omtrent 2 til omtrent 48 timer.

- En forbindelse med formel 22 kan fremstilles ved reaksjon av en forbindelse med formel 23 med DMF DMA eller Brederecks reagens, eventuelt i nærvær av et ko-løsemiddel så som DMF, ved en temperatur på omtrent 50 til omtrent 150°C. 15 Reaksjonen tar omtrent 1 til omtrent 24 timer å fullføre.

- En forbindelse med formel 23 i hvilken R₅₀ er klor, brom eller jod kan fremstilles ved å la en aminforbindelse med formel 24 reagere med et egnet dinitrogeniseringsreagenssystem (for eksempel salpetersyring i kombinasjon 20 med et kobber-(I)-halidsalt, natriumnitritt i kombinasjon med p-toluensulfonsyre og kaliumjodid, eller isoamylnitritt i kombinasjon med bortrifluorid-THF, jod, kaliumjodid og acetonitril). Reaksjonen finner sted ved en temperatur på omtrent 0 til omtrent 80 °C og tar fra omtrent 1 til omtrent 6 timer å fullføre.

- 25 En forbindelse med formel 24 kan i sin tur fremstilles ved å la en forbindelse med formel 25 reagere med en organometallreagens så som metyllitium, metyllitium-litiumbromidkompleks, eller en metylmagnesiumhalidreagens, i et inert løsemiddel så som THF, eter eller syklopropylmetyleter, ved en temperatur på omtrent 0 til omtrent 100 °C, etterfulgt av behandling med en vandig 30 bråkjølingsløsning. Reaksjonen tar fra omtrent 2 til omtrent 48 timer å fullføre.

- En forbindelse med formel 25 kan fremstilles ved å la en forbindelse med formel 26 reagere med en forbindelse med formel 3, som beskrevet for reaksjonsskjema I. Alternativt kan en forbindelse med formel 25 fremstilles fra 35 en forbindelse med formel 27, i hvilken de to R"-gruppene tatt under ett danner en syre-labil beskyttende gruppe (for eksempel et imin så som benzytiden eller et karbamat så som t-butylkarbamat). Reaksjonen gjennomføres ved behandling

av en forbindelse med formel 27 med en vandig sur reagens (for eksempel konsentrert hydrokloridsyre og lignende) i et løsemiddel så som etanol, ved en temperatur på omtrent 25 til omtrent 100 °C. Foretrukket danner de to R"-gruppene, tatt under ett, et imin så som benzylidin.

5

En forbindelse med formel 27 kan i sin tur fremstilles ved å la en forbindelse med formel 28 med en forbindelse med formel 29, i hvilken de to R"-gruppene tatt under ett danner en syre-labil beskyttende gruppe (for eksempel et imin så som benzyliden eller et karbamat så som t-butylkarbamat). Reaksjonen utføres i et løsemiddel (for eksempel toluen, metanol, eller etanol) ved en temperatur på omtrent 25 til omtrent 120 °C, eventuelt i nærvær av en katalysator så som DMAP, og tar omtrent 1 til omtrent 24 timer å fullføre. Reaksjonen utføres eventuelt i et inert løsemiddel (for eksempel THF og lignende) i nærvær av en base (for eksempel n-butyllitium og lignende) ved en temperatur på omtrent -80 til omtrent 25 °C, i et tidsrom på omtrent 0,5 til omtrent 12 timer.

10

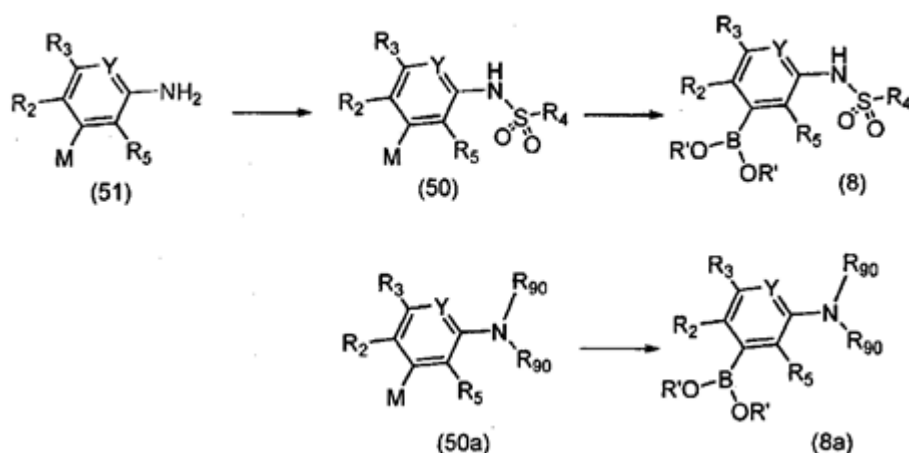
15

En forbindelse med formel 29 kan fremstilles ved fremgangsmåter som er kjente for fagmannen. For eksempel kan en forbindelse med formel 29, i hvilken de to R"-gruppene tatt under ett danner en benzylidengruppe, fremstilles ved reaksjon av benzaldehyd med et mono-substituert hydrazin R_7NHNH_2 , i et løsemiddel så som etanol eller toluen, i omtrent 1 til omtrent 24 timer, og ved en temperatur på omtrent 25 til omtrent 120 °C. Alternativt kan reaksjonen gjennomføres ved hjelp av et mono-substituert hydrazin salt (for eksempel et hydrokloridsalt eller et oksalatsalt og lignende), i kombinasjon med en base (for eksempel natriumacetat eller trietylamin).

20

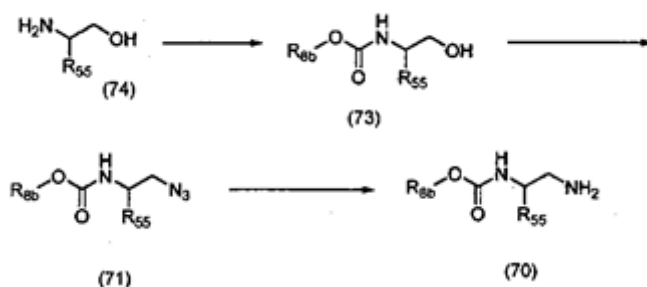
25

Forbindelser med formel 8 eller formel 8a kan fremstilles som beskrevet i følgende reaksjonsskjema VII:

Reaksjonsskjema VII

i hvilket R_2 , R_3 , R_4 , R_5 og Y er som definert i den korte beskrivelsen av oppfinnelsen, M er en forlatende gruppe (for eksempel, jod, brom, klor, trifluormetansulfonyloksy og lignende), og hver R' kan være for eksempel hydrogen, metyl og lignende, eller de to R' -gruppene kan være sammenføydt for å danne en syklisk boratester. De to R_{90} -gruppene kan for seg være hydrogen, eller de to R_{90} -gruppene, tatt under ett, kan representere en egnet nitrogenbeskyttende gruppe (for eksempel kan én R_{90} være hydrogen og den andre kan være BOC). Forbindelser med formel 8 eller formel 8a kan fremstilles ved reaksjon av en forbindelse med henholdsvis formel 50 eller formel 50a, med en diborforbindelse (for eksempel bis(pinakolato)dibor og lignende) i nærvær av en egnet overgangsmetallkatalysator (for eksempel $PdCl_2(dppf)$), og en egnet base (for eksempel, kaliumacetat og lignende) i et egnet løsemiddel (for eksempel, toluen, dioksan og lignende). Reaksjonen foregår i et temperaturområde på omtrent 20 °C til omtrent 120 °C og kan ta opptil 24 timer å fullføre. En forbindelse med formel 50 kan i sin tur fremstilles ved sulfonylering av en forbindelse med formel 51 som beskrevet for reaksjonsskjema II. Det vil forstås av fagmannen at forbindelser med formel 51 eller formel 50a, for eksempel 3-bromaniliner eller N-BOC-beskyttede 3-bromaniliner, kan fremstilles ved en rekke fremgangsmåter, inkludert, men ikke begrenset til, de som er beskrevet ytterligere i eksemplene nedenfor.

En forbindelse med formel 70 kan fremstilles som beskrevet i følgende reaksjonsskjema VIII:

Reaksjonsskjema VIII

i hvilket R_{8b} er som definert i den korte beskrivelsen av oppfinnelsen og R_{55} er valgt fra a C_{1-4} -alkyl eller halo-substituert- C_{1-4} -alkyl. En forbindelse med formel 70 kan fremstilles ved behandling av en forbindelse med formel 71 med et egnet reduksjonssystem (for eksempel hydrogenering over en palladiumkatalysator og lignende) i et egnet løsemiddel (for eksempel etanol eller etylacetat) ved en temperatur på omtrent 25 til omtrent 75°C, i et tidsrom på omtrent 0,5 til omtrent 12 timer.

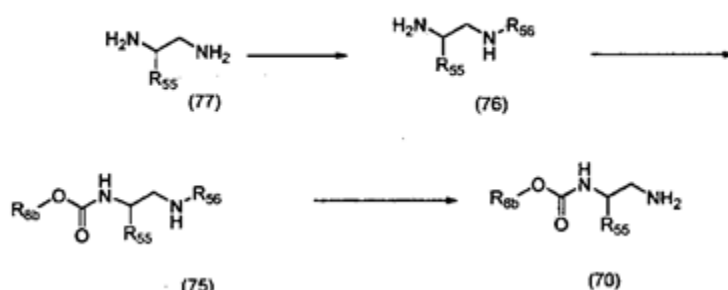
En forbindelse med formel 71 kan i sin tur fremstilles gjennom en totrinns fremgangsmåte bestående av omdannelse av hydroksygruppen av en forbindelse med formel 73 til en egnet forlatende gruppe, etterfulgt av forskyvning med azidanion. For det første trinnet inkluderer egnede reagenser fosfortribromid, eller metansulfonylchlorid i kombinasjon med en egnet base så som trietylamin. Reaksjonene gjennomføres i et egnet løsemiddel (for eksempel diklormetan og lignende), ved en temperatur på omtrent 0 til omtrent 50 °C. For det andre trinnet gjennomføres forskyvningen med en azidreagens (for eksempel natriumazid og lignende) i et egnet løsemiddel (for eksempel DMF eller DMSO) ved en temperatur fra omtrent 25 til omtrent 150 °C. Reaksjonen tar fra omtrent 1 til omtrent 24 timer å fullføre. Alternativt kan transformasjonen gjennomføres i ett trinn ved behandling av en forbindelse med formel 73 med en fosfinreagens (for eksempel trifenylfosfin og lignende) og en azodikarboksylatreagens (for eksempel diethylazodikarboksylat og lignende) i nærvær av et azoimid (dannet in situ fra et azidsalt, så som natriumazid, og en syre). Reaksjonen finner sted ved en temperatur på omtrent -80 til omtrent 75 °C og tar omtrent 1 til omtrent 24 timer å fullføre.

En forbindelse med formel 73 kan fremstilles ved behandling av en forbindelse med formel 74 med et kloroformat (for eksempel, metylkloroformat og lignende) eller en alternativ alkoksykarbonyleringsreagens så som di-tert-

butyldikarboksyilat. Reaksjonen finner sted i et inert løsemiddel (for eksempel diklormetan og lignende) ved en temperatur på omtrent -80 til omtrent 25 °C og tar omtrent 1 til omtrent 12 timer å fullføre. En base så som trietylamin kan eventuelt anvendes. Reaksjonen kan også utføres i et tofasesystem bestående av et løsemiddel så som THF eller dioksan, og en vandig basisk løsning, så som vandig natriumbikarbonatløsning, ved en temperatur på omtrent 25 °C, i et tidsrom på omtrent 2 til omtrent 16 timer.

En forbindelse med formel 70 kan også fremstilles som beskrevet i følgende reaksjonsskjema IX:

Reaksjonsskjema IX



i hvilket R_{8b} er som definert i den korte beskrivelsen av oppfinnelsen, R_{55} er valgt fra a C_{1-4} -alkyl eller halo-substituert- C_{1-4} -alkyl, og R_{56} er en egnet beskyttende gruppe, for eksempel, benzyloksykarbonyl (Cbz). En forbindelse med formel 70 kan fremstilles ved avbeskyttelse av en forbindelse med formel 75. For eksempel kan en forbindelse med formel 70 fremstilles ved behandling av en forbindelse med formel 75, i hvilken R_{56} er Cbz, med et egnet reduksjonssystem (for eksempel hydrogenering over en palladiumkatalysator og lignende) i et egnet løsemiddel (for eksempel etanol, metanol, MTBE eller etylacetat) ved en temperatur på omtrent 25 til omtrent 75°C, eventuelt i nærvær av en syre så som hydrogenklorid, i løpet av et tidsrom på omtrent 0,5 til omtrent 12 timer. Alternativt kan avbeskyttelsen gjennomføres under overføringshydrogeneringsbetingelser, ved hjelp av en egnet hydrogendonor så som maursyre, ammoniumformat eller 1,4-sykloheksadien. En forbindelse med formel 75 kan i sin tur fremstilles ved reaksjon av en forbindelse med formel 76 med et kloroformat (for eksempel metylkloroformat og lignende) eller en alternativ alkoksykarbonyleringsreagens så som di-tert-butyldikarboksyilat. Reaksjonen finner sted i et inert løsemiddel (for eksempel diklormetan og

- lignende) ved en temperatur på omtrent -80 til omtrent 25 °C og tar omtrent 1 til omtrent 24 timer å fullføre. En base så som trietylamin kan eventuelt anvendes. Reaksjonen kan også utføres i et tofasesystem bestående av et løsemiddel så som THF eller dioksan, og en vandig basisk løsning, så som vandig natriumbikarbonatløsning, ved en temperatur på omtrent 25 °C, i et tidsrom på omtrent 2 til omtrent 16 timer. En forbindelse med formel 76 kan fremstilles ved beskyttelse av en forbindelse med formel 77. Beskyttelsesbetingelsene kan velges for å tilveiebringe foretrukket eller i det vesentlige en enkelt isomer med formel 76. Alternativt kan det velges betingelser i hvilke det vises liten eller ingen preferanse for formulering av enkeltisomeren med formel 77, men i hvilke en forbindelse med formel 76 likevel kan isoleres i tilstrekkelig renhet for videre anvendelse. Middel for å oppnå slik renhet kan inkludere krystallisering av enten den frie basen eller et salt. En forbindelse med formel 76, i hvilken R₅₆ er Cbz, kan fremstilles ved behandling av en forbindelse med formel 77 med benzyklorklorformat. Reaksjonen finner sted i et inert løsemiddel (for eksempel diklormetan og lignende) ved en temperatur på omtrent -80 til omtrent 25 °C og tar omtrent 1 til omtrent 24 timer å fullføre. En base så som trietylamin kan eventuelt anvendes. Reaksjonen kan også utføres i et tofasesystem bestående av et løsemiddel så som THF eller dioksan, og en vandig basisk løsning, så som vandig natriumbikarbonatløsning, ved en temperatur på omtrent 25 °C, i et tidsrom på omtrent 2 til omtrent 24 timer. Et salt av en forbindelse med formel 77 kan anvendes, i kombinasjon med en base så som trietylamin eller natriumkarbonat, som inngangsmateriale i stedet for den frie basen.
- Det vil forstås av fagmannen at en forbindelse med formel 70 kan være enten en enkelt enantiomer eller en blanding av enantiomerer, og at en enkelt enantiomerforbindelse med formel 70 kan oppnås med utgangspunkt i en passende enkelt enantiomerforbindelse med formel 74 eller formel 77.
- Detaljerte eksempler på syntesen av en forbindelse med formel Ia kan finnes i eksemplene *infra*.

Ytterligere fremgangsmåter for fremstilling av forbindelser ifølge oppfinnelsen

- En forbindelse ifølge oppfinnelsen kan fremstilles som farmasøytisk akseptabelt syreaddisjonssalt ved omsetning av den frie baseformen av forbindelsen med en

farmasøytisk akseptabel uorganisk eller organisk syre. Et farmasøytisk akseptabelt baseaddisjonssalt av en forbindelse ifølge oppfinnelsen kan alternativt fremstilles ved omsetning av den frie syreformen av forbindelsen med en farmasøytisk akseptabel uorganisk eller organisk base.

5

Saltformene av forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan alternativt fremstilles ved hjelp av salter av utgangsmaterialene eller mellomproduktene.

10

De frie syre- eller baseformene av forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan fremstilles fra henholdsvis den tilsvarende baseaddisjonssalt- eller syreaddisjonssaltformen. En forbindelse ifølge oppfinnelsen i en syreaddisjonssaltform kan for eksempel omdannes til den tilsvarende frie basen ved behandling med en egnet base (f.eks. ammoniumhydroksidløsning, natriumhydroksid og lignende). En forbindelse ifølge oppfinnelsen i en

15

baseaddisjonssaltform kan omdannes til den tilsvarende frie syren ved behandling med en egnet syre (f.eks. saltsyre osv.).

Forbindelser ifølge oppfinnelsen i uoksidert form kan være fremstilt av N-oksidier av forbindelser ifølge oppfinnelsen ved behandling med et reduksjonsmiddel

20

Prodrugderivater av forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan fremstilles ved fremgangsmåter som er kjente for fagmannen (for ytterligere detaljer, se f.eks. Saulnier et al., (1994), Bioorganic og Medicinal Chemistry Letters, bind 4, s. 1985). For eksempel kan passende prolegemiddel fremstilles ved å la en ikke-avledet forbindelse ifølge oppfinnelsen reagere med et egnet karbamyleringsmiddel (f.eks. 1,1-acyloksyalkylkarbanklorid, para-nitrofenylkarbonat eller lignende).

25

30

35

Beskyttede derivater av forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan dannes med middel som er kjent for fagmannen. En detaljert beskrivelse av teknikker som anvendes ved oppretting av beskyttende grupper og fjerning av disse kan finnes i T. W. Greene, "Protecting Groups i Organic Chemistry", 3. utgave, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

Forbindelser ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan praktisk fremstilles, eller dannes under prosessen ifølge oppfinnelsen, som solvater (f.eks. hydrater). Hydrater av forbindelser ifølge den foreliggende oppfinnelsen kan praktisk fremstilles ved rekrySTALLISERING fra en vandig/organisk løsemiddelblanding, ved
 5 hjelp av organiske løsemiddel så som dioksin, tetrahydrofuran eller metanol.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen kan fremstilles som deres individuelle stereoisomerer ved omsetning av en racemisk blanding av forbindelsen med et optisk aktivt oppløsningsmiddel for å danne et par diastereoisomere forbindelser, idet diastereomerene separeres og de optisk rene enantiomerene gjenvinnes.
 10 Mens oppløsning av enantiomerer kan utføres ved anvendelse av kovalente diastereomere derivater av forbindelsene ifølge oppfinnelsen, er dissosierbare komplekser foretrukket (f.eks. krystallinske diastereomere salter). Diastereomerer har distinktive fysiske egenskaper (f.eks. smeltepunkter, kokepunkter, løselighet, reaktivitet, osv.) og kan uten videre separeres ved å dra nytte av disse ulikhetene. Diastereomerene kan separeres ved kromatografi, eller foretrukket, ved separerings-/oppløsningsteknikker basert på forskjeller i løselighet. Den optisk rene enantiomeren gjenvinnes deretter, sammen med oppløsningsmiddelet, på en hvilken som helst praktisk måte som ikke vil
 15 resultere i racemisering. En mer detaljert beskrivelse av teknikkene som gjelder oppløsningen av stereoisomerer av forbindelser fra deres racemiske blanding, finnes i Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.

25 I korthet kan forbindelsene med formel I dannes ved en fremgangsmåte som innebærer:

(a) den i reaksjonsskjema I til IX; og

(b) eventuelt å konvertere en forbindelse ifølge oppfinnelsen til et farmasøytisk akseptabelt salt;

30 (c) alternativt å konvertere en saltform av en forbindelse ifølge oppfinnelsen til en ikke-saltform;

(d) alternativt å konvertere en uoksidert form av en forbindelse ifølge oppfinnelsen til et farmasøytisk akseptabelt N-oksid;

35 (e) alternativt å konvertere en N-oksidform av en forbindelse ifølge oppfinnelsen til dens uoksiderte form;

(f) eventuelt å oppløse en individuell isomer, for eksempel stereoisomer, av en forbindelse ifølge oppfinnelsen fra en blanding av isomerer;

(g) alternativt å konvertere en ikke-avledet forbindelse av oppfinnelsen til et farmasøytisk akseptabelt prodrugderivat; og

5 (h) alternativt å konvertere et prodrugderivat av en forbindelse ifølge oppfinnelsen til dets ikke-deriverte form.

10 I den grad produksjonen av utgangsmaterialer ikke er spesielt beskrevet, er forbindelsene kjent eller kan fremstilles analogt med fremgangsmåter som er kjent i teknikken eller som beskrevet i eksemplene i det følgende.

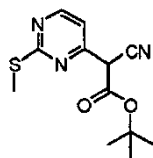
Fagmannen vil forstå at de ovennevnte transformasjonene kun er representative for fremgangsmåter for fremstilling av forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen, og at andre velkjente fremgangsmåter likeledes kan anvendes.

15 **Eksempel**

20 Den foreliggende oppfinnelsen er ytterligere eksemplifisert ved, men ikke begrenset av, følgende mellomprodukter og eksempel som illustrerer fremstillingen av forbindelser med formel I ifølge oppfinnelsen. Kun de forbindelsene som er anført i krav 1 og 3 er ifølge oppfinnelsen.

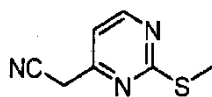
25 Anvendte forkortelser er som følger: benzyloksykarbonyl (Cbz); *tert*-butoksykarbonyl (BOC); celleproliferasjon (CP); diklormetan, (DCM); N,N-diisopropyletylamin (DIPEA); [1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen] diklorpalladium(II) (PdCl₂(dppf)); 1,2-dimetoksyetan (DME); N,N-dimetylacetamid (DMA); N,N-dimetylaminopyridin (DMAP); N,N-dimetylformamid (DMF); N,N-dimetylformamid-dimetylacetal (DMF-DMA); dimetylsulfoksid (DMSO); etylacetat (EtOAc); høytrykks-væskerkromatografi, (high pressure liquid chromatography, HPLC); isopropylacetat (iPrOAc); metansulfonyl (Ms); 2-
30 metyltetrahydrofuran (2-metylTHF); N-metylpyrolidinon (NMP); tetrahydrofuran (THF); tynnsljikt-kromatografi (thin layer chromatography, TLC); og para-toluensulfonsyre (pTsOH).

Mellomprodukt. Cyano-(2-metyltio-pyrimidin-4-yl)-eddisyre-*tert*-butyl-ester



5 I en suspensjon av natriumhydrid (7,15 g, 179 mmol, 60 % i olje) i DMSO (100 ml) ble det tilsatt tert-butyl-cyanoacetat (24,8 g, 170 mmol) ved 23 °C. Etter at hydrogenutviklingen opphørte ble 4-klor-2-metyltioprimidin (13,7 g, 85 mmol) tilsatt. Reaksjonen ble varmet opp ved 80 °C i 16 t. Reaksjonsblandingen ble deretter avkjølt til romtemperatur og bråkjølt med iskaldt mettet ammoniumklorid (300 ml). Faststoffet ble filtrert og vasket med vann (2 x 200 ml). 300 ml heksan ble tilsatt i faststoffet, og suspensjonen ble varmet opp ved 10 60 °C i 1 t og deretter avkjølt til romtemperatur. Faststoffet ble filtrert og vasket med heksan for å gi tittelforbindelsen; ¹H-NMR 400 MHz (CDCl₃) δ 7,82 (*d*, 1H), 6,74 (*d*, 1H), 2,63 (*s*, 3H), 2,61 (*s*, 1H), 1,52 (*s*, 9H); MS *m/z*: 266,0 (*M* + 1).

Mellomprodukt. (2-metyltio-pyrimidin-4-yl)-acetonitril

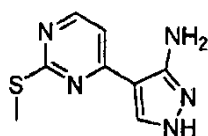


15

I en løsning av mellomprodukt cyano-(2-metyltio-pyrimidin-4-yl)-eddisyre-tert-butyl-ester (5,3 g, 20 mmol) i vannfri toluen (100 ml) ble det tilsatt *p*-toluensulfonsyre (800 mg). Blandingen ble varmet opp til tilbakebøp i 8 t, avkjølt til romtemperatur og ekstrahert med etylacetat. Det organiske laget ble vasket med 1N vandig natriumhydroksidløsning og saltløsning, tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble rensset ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 3:1 heksaner/etylacetat) for å gi tittelforbindelsen: ¹H-NMR 400 MHz (CDCl₃) δ 8,56 (*d*, 1H), 7,12 (*d*, 1H), 3,84 (20 *s*, 2H), 2,57 (*s*, 3H); MS *m/z*: 166,0 (*M* + 1).

25

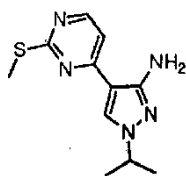
Mellomprodukt. 4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-3-amin



Trinn 1. 3-(dimetylamino)-2-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)akrylonitril. N,N-dimetylformamid-dimetyl-acetal (30 ml) ble tilsatt i mellomprodukt (2-metyltio-pyrimidin-4-yl)-acetonitril (2,62 g, 15,7 mmol), og blandingen ble varmet opp ved 100 °C i 16 t. Den avkjølte reaksjonsblanding ble konsentrert, og resten ble anvendt uten ytterligere rensing.

Trinn 2. 4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-3-amin. En blanding av ubearbeidet 3-(dimetylamino)-2-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)akrylonitril fra det foregående trinnet (hele mengden), og hydrazinmonohydrat (2,36 ml, 47 mmol) i vannfri etanol (75 ml) ble varmet opp ved 80 °C i 16 timer. Reaksjonsblanding ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert. Reaksjonsblanding ble fordelt mellom etylacetat og saltløsning. Det organiske laget ble separert og vasket med saltløsning, tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble rensert ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 2 til 5 % metanol i diklormetan) for å gi 4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-3-amin: $^1\text{H-NMR}$ 400 MHz (DMSO- d_6) δ 11,9 (s, 1H), 8,3 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,23 (s, br 1H), 6,43 (s, 1H), 5,74 (s, 1H), 2,53 (s, 3H); MS m/z : 208,0 (M + 1).

Mellomprodukt. 1-isopropyl-4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-3-amin:

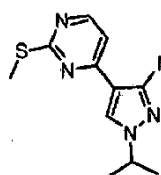


Mellomprodukt 4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-3-amin (10,0 g, 40 mmol) ble oppløst i THF (200 ml), etterfulgt av tilsetning av 2-jodpropan (6,3 ml, 63 mmol) og natriummetoksid (25 vekt-% løsning i metanol, 14,3 ml, 63 mmol). Blanding ble varmet opp ved 50 °C med omrøring under nitrogenatmosfære i 3 d, og ble deretter konsentrert under vakuum. Resten ble tatt opp i etylacetat (200 ml) og vasket med vandig kaliumkarbonatløsning og saltløsning, deretter tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe en brun rest. Resten ble kromatografert på silikagel (ekstraksjonsmiddel: heksan/etylacetat) for å tilveiebringe 1-isopropyl-4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-3-amin som et faststoff; $^1\text{H-NMR}$ 400 MHz

(CDCl₃) δ 8,23 (d, J=5,6 Hz, 1H), 7,60 (s, 1H), 6,83 (d, J=5,6 Hz, 1H), 5,23 (d, J=2,8 Hz, 2H), 4,21-4,25 (m, 1H), 2,50 (s, 3H), 1,37 (d, J=6,8 Hz, 6H); MS m/z : 250,1 (M + 1).

- 5 Fremstilt på lignende måte ble: 1-etyl-4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-3-amin og 1-metyl-4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-3-amin.

Mellomprodukt. 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metyltio)pyrimidin:



10

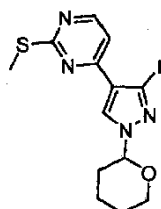
En blanding av mellomprodukt 1-isopropyl-4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-3-amin (4,0 g, 16,0 mmol), isopentylnitritt (13,2 g, 112 mmol), og metylenjodid (30 ml) ble varmet opp ved 100 °C i 3 t. Fjerning av de flyktige stoffene under vakuum tilveiebrakte en mørk rest, som ble rensset ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 2:1 heksan/etylacetat) for å gi

15 tittelforbindelsen som et faststoff; MS m/z : 361,1 (M + 1).

Fremstilt på lignende måte ble: 4-(3-jod-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metyltio)pyrimidin; 4-(3-jod-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metyltio)pyrimidin; og 4-(3-jod-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metyltio)pyrimidin.

20

Mellomprodukt. 4-(3-jod-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metyltio)pyrimidin.



25

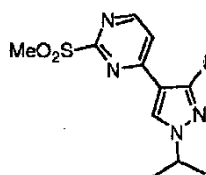
En løsning av 4-(3-jod-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metyltio)pyrimidin (270 mg, 0,85 mmol) og p-toluensulfosyremonohydrat (32 mg, 0,17 mmol) i 3,4-dihydro-2H-

pyran (1 ml) ble varmet opp ved 60 °C i 5 t. Den avkjølte blandingen ble fortynnet med etylacetat, og blandingen ble vasket med vann og saltløsning, og deretter tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Resten ble kromatografert på silikagel (ekstraksjonsmiddel: 10 % etylacetat i heksaner) for å tilveiebringe tittelforbindelsen. MS (m/z): 402,7 ($M+1$).

Mellomprodukt.

4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-2-

(metylsulfonyl)pyrimidin:

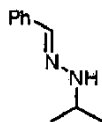


10

I en løsning av mellomprodukt 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metyltio)pyrimidin (4,51 g, 12,5 mmol) i diklormetan (60 ml) ved 0 °C ble det tilsatt m-klorperbenzoesyre (3,65 g, 77 % renhet, 16,3 mmol). Blandingen ble omrørt ved 0 °C under nitrogen i 3 t, den ble deretter fortynnet med etylacetat og vasket med vandig kaliumkarbonatløsning og saltløsning. Det organiske laget ble tørket over magnesiumsulfat, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metylsulfonyl)pyrimidin som et faststoff. MS m/z : 393,0 ($M + 1$).

20

Fremstilt på lignende måte ble: 4-(3-jod-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metylsulfonyl)pyrimidin; og 4-(3-jod-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metylsulfonyl)pyrimidin.



Mellomprodukt. 1-benzyliden-2-isopropylhydrazin

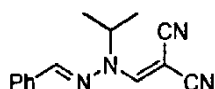
25

I en rundbunnet kolbe inneholdende vannfritt natriumacetat (8,2 g, 0,1 mol) i 125 ml 50 % etanol ble det tilsatt isopropylhydrazin-HCl-salt (11,1 g, 0,1 mol) og benzaldehyd (10,6 g, 0,1 mol). Blandingen ble omrørt ved rt i 20 t. Reaksjonen ble ekstrahert med eter (3 x 250 ml). De organiske lagene ble

kombinert og vasket med vandig natriumbikarbonatløsning og saltløsning og tørket over natriumsulfat. Filtrering, konsentrering, og ko-fordamping med toluen (3x) tilveiebrakte tittelforbindelsen som en olje. MS m/z 163,3 ($M + 1$).

- 5 Fremstilt på lignende måte ble: 1-benzyliden-2-etylhydrazin med utgangspunkt i etylhydrazinoksalat, ved hjelp av metanol og trietylamin i stedet for henholdsvis etanol og natriumacetat; og 1-benzyliden-2-metylhydrazin med utgangspunkt i metylhydrazin, ved hjelp av metanol som løsemiddel, uten tilsatt base.

10 **Mellomprodukt. 2-((2-benzyliden-1-isopropylhydrazinyl)metylen)-malononitril:**



15

En løsning av mellomprodukt 1-benzyliden-2-isopropylhydrazin (12,9 g, 0,079 mol) i 200 ml vannfri THF ble avkjølt i et tørt is/acetonbad under argonatmosfære. I denne løsningen ble det tilsatt *n*-butyllitium (1,6 M i heksaner, 66 ml, 0,106 mol) via sprøyte. Etter fullført tilsetning ble blandingen omrørt ved tørristemperatur i ytterligere 5 minutter. En løsning av (2-(etoksymetylen)malononitril (13,6 g, 0,11 mol) i THF (30 ml) ble tilsatt. Blanding ble omrørt ved tørristemperatur i 0,5 t, og ble deretter bråkjølt med mettet vandig natriumbikarbonatløsning. Den bråkjølte reaksjonsblanding fikk varme seg opp til rt og ble ekstrahert med etylacetat. De organiske lagene ble kombinert, tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Resten ble suspendert i etanol med sonikering. Den resulterende utfellingen ble samlet opp via filtrering og vasket med en liten mengde kald etanol for å oppnå 2-((2-benzyliden-1-isopropylhydrazinyl)metylen)malononitril som et gult faststoff. Moderluten ble konsentrert og resten renses ved silikagelkolonnekromatografi (ekstraksjonsmiddel: 1:1 heksaner/etylacetat) for å gi ytterligere 2-((2-benzyliden-1-isopropylhydrazinyl)metylen)malononitril. MS m/z 239,2 ($M + 1$).

20

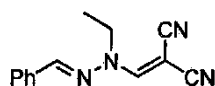
25

30

Mellomprodukt.
malononitril:

2-((2-benzyliden-1-etylhydrazinyl)metylen)-

5



10

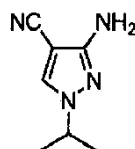
I en løsning av 2-(etoksymetylen)malononitril (15,2 g, 0,124 mol) i 100 ml toluen ble det tilsatt mellomprodukt 1-benzyliden-2-etylhydrazin (18,4 g, 0,124 mol). Blandingen fikk stå ved romtemperatur, og en utfelling ble dannet. Reaksjonsblandingen ble omrørt i ytterligere 16 t. Utfellingen ble samlet opp på et filter og vasket med en liten mengde kald etanol for å oppnå 2-((2-benzyliden-1-etylhydrazinyl)metylen)malononitril som et faststoff.

15

Fremstilt på lignende måte ble 2-((2-benzyliden-1-metylhydrazinyl)metylen)malononitril.

Mellomprodukt. 3-amino-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-karbonitril

20



25

En blanding av mellomprodukt 2-((2-benzyliden-1-isopropylhydrazinyl)metylen)malononitril (9,42 g, 40 mmol), konsentrert hydrokloridsyre (5 ml) og etanol (50 ml) ble varmet opp med tilbakeløp i 20 min. Reaksjonsblandingen ble konsentrert, og eter (50 ml) ble tilsatt. Blandingen ble sonikert, deretter det øvre eterlaget kastet. I resten ble det tilsatt 20 ml 5N vandig natrium hydroksidløsning, og blandingen ble ekstrahert med diklormetan (3x). De organiske lagene ble kombinert, tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Resten ble rensert ved silikagelkolonnekromatografi (ekstraksjonsmiddel: 1:1 heksaner/etylacetat) for å gi 3-amino-1-isopropyl-1H-

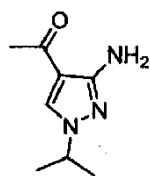
30

pyrazol-4-karbonitril som et brunt faststoff. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,09 (s, 1H), 5,51 (s, 2H), 4,22 (m, 1H), 1,31 (d, $J=7$ Hz, 6H); MS m/z 151,2 ($M + 1$).

- 5 Fremstilt på lignende måte ble: 3-amino-1-etyl-1H-pyrazol-4-karbonitril; og 3-amino-1-metyl-1H-pyrazol-4-karbonitril.

Mellomprodukt. 1-(3-amino-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon

10

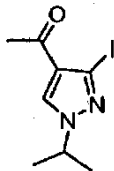


15

I en løsning av mellomprodukt 3-amino-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-karbonitril (5,29 g, 36,5 mmol) i 200 ml vannfri THF ved 0 °C ble det tilsatt metylmagnesiumbromidløsning (3 M i eter, 56,5 ml, 0,17 mol). Reaksjonsblandingen ble varmet opp med tilbakesløp i 4 t. Blandingen ble avkjølt til 0 °C og ble deretter bråkjølt med 10 % vandig hydrokloridsyre til nøytral pH. Reaksjonen ble ekstrahert med en stor mengde 9:1 diklormetan/isopropanol. De organiske lagene ble kombinert og tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble rensert ved silikagelkolonnekromatografi (ekstraksjonsmiddel: 1:1 etylacetat/heksaner til 9:1 etylacetat/metanol) for å gi tittelforbindelsen som et lysebrunt faststoff. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,18 (s, 1H), 5,62 (s, 2H), 4,23 (m, 1H), 2,20 (s, 3H), 1,37 (d, $J=7$ Hz, 6H); MS m/z 168,2 ($M + 1$).

25

Fremstilt på lignende måte ble: 1-(3-amino-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon; og 1-(3-amino-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon.

Mellomprodukt. 1-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon

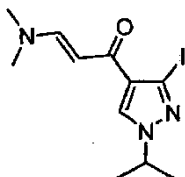
5

I en løsning av mellomprodukt 1-(3-amino-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon (3,97 g, 24 mmol) og p-TsOH.H₂O (9,07 g, 48 mmol, 2 ekv.) i 150 ml acetonitril ved 0 °C ble det dråpevis tilsatt en løsning av natriumnitritt (2,97 g, 43 mmol, 1,8 ekv.) og kaliumjodid (8,0 g, 48 mmol, 2,0 ekv.) i 20 ml vann. Blandingen ble omrørt ved denne temperaturen i 10 minutter og fikk deretter varme seg til rt og ble omrørt i 3 t. Blandingen ble konsentrert og deretter fortynnet med vann og nøytralisert med vandig natriumkarbonatløsning til pH 9 til 10. Blandingen ble ekstrahert med etylacetat (3x). De kombinerte organiske lagene ble vasket med natriumtiosulfatløsning, tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Resten ble rensert ved silikagelkolonnekromatografi (ekstraksjonsmiddel: 1:1 heksaner/etylacetat) for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et lysebrunt faststoff. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,51 (s, 1H), 4,53 (m, 1H), 2,37 (s, 3H), 1,41 (d, J=7 Hz, 6H); MS *m/z* 279,1 (M + 1).

20

Fremstilt på lignende måte ble: 1-(3-jod-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon; og 1-(3-jod-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon.

Mellomprodukt. 3-(dimetylamino)-1-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)prop-2-en-1-on:



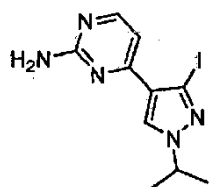
25

En blanding av mellomprodukt 1-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)etanon (5,0 g, 18,0 mmol) og N,N-dimetyformamid-dimetyl-acetal (50 ml) ble varmet opp

ved 155 °C i 20 t. Blandingen ble konsentrert under vakuum for å tilveiebringe den ubearbeidede tittelforbindelsen. Ms m/z 334,0 ($M + 1$).

Fremstilt på lignende måte ble: 3-(dimetylamino)-1-(3-jod-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)prop-2-en-1-on; og 3-(dimetylamino)-1-(3-jod-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)prop-2-en-1-on.

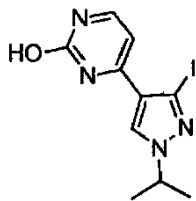
Mellomprodukt. 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-amin



En blanding av ubearbeidet mellomprodukt 3-(dimetylamino)-1-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)prop-2-en-1-on (4.0 g, 12.0 mmol), guanidinhydroklorid (2,63 g, 27,6 mmol), litiumhydroksid (635 mg, 27,6 mmol), og sec-butanol (50 ml) ble varmet opp med omrøring i en forseglet reaksjonsbeholder ved 110 °C i 20 t. Den avkjølte reaksjonsblandingen ble konsentrert, deretter ble det tilsatt vann og blandingen ble ekstrahert med etylacetat. De kombinerte ekstraktene ble tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Etylacetat ble tilsatt i faststoffresten, og blandingen ble sonikert. Faststoffproduktet ble samlet opp på et filter, skylt med etylacetat og tørket for å gi tittelforbindelsen som et brungult faststoff. MS m/z 330,0 ($M + 1$).

Fremstilt på lignende måte ble: 4-(3-jod-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-amin; og 4-(3-jod-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-amin.

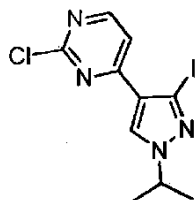
Mellomprodukt. 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ol



Natriumnitritt (314 mg, 4,55 mmol) ble tilsatt i porsjoner i en omrørt blanding av mellomprodukt 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-amin (500 mg, 1,52 mmol) og trifluoreddiksyre (15 ml) ved 0 °C. Blandingen fikk varme seg opp til rt og ble omrørt i 1 t, deretter ble løsemiddelet fjernet under vakuum. Den ubearbeidede blandingen ble fortynnet med etylacetat og vasket med mettet vandig kaliumkarbonatløsning og saltløsning for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et faststoff. MS m/z 331,0 ($M + 1$).

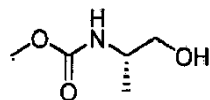
Fremstilt på lignende måte ble: 4-(3-jod-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ol; og 4-(3-jod-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ol.

Mellomprodukt. 2-klor-4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin



En løsning av mellomprodukt 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ol (438 mg, 1,33 mmol) i fosforoksyklorid (10 ml) ble varmet opp ved 110 °C i 16 t. Blandingen ble konsentrert under vakuum, deretter ble vandig natriumbikarbonatløsning forsiktig tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med etylacetat. De kombinerte organiske ekstraktene ble tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et gult faststoff. MS m/z 349,0 ($M + 1$).

Fremstilt på lignende måte ble: 2-klor-4-(3-jod-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin; og 2-klor-4-(3-jod-1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin.

Mellomprodukt. (S)-metyl-1-hydroksypropan-2-ylkarbamat

5

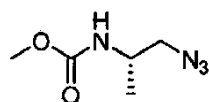
I en løsning av (S)-alaninol (10 g, 130 mmol) og natriumbikarbonat (32,8 g, 390 mmol) i THF-H₂O (1:1, 650 ml) ved 0 °C ble det dråpevis tilsatt metylklorformat (11,4 ml, 143 mmol). Blandingen ble omrørt og fikk varme seg til rt i løpet av 4 t, og ble deretter ekstrahert med etylacetat. Det organiske laget ble vasket med

10 1N vandig natriumhydroksidløsning og saltløsning, og ble deretter tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å gi den ubearbeidede tittelforbindelsen, som ble anvendt uten ytterligere rensing. MS *m/z* 134,1 (*M* + 1).

15

Fremstilt på lignende måte ble: (R)-metyl-1-hydroksypropan-2-ylkarbamat, ved hjelp av (R)-alinol i stedet for (S)-alaninol; og (S)-1,1-dimetyletyl-1-hydroksypropan-2-ylkarbamat ved hjelp av di-*t*-butyl-dikarbonat i stedet for metylkloroformat.

Mellomprodukt. (S)-metyl-1-azidopropan-2-ylkarbamat:



20

25

I en løsning av mellomprodukt (S)-metyl-1-hydroksypropan-2-ylkarbamat (2,65 g, 20 mmol) og trietylamin (7,0 ml, 50 mmol) i vannfri diklormetan (100 ml) ble det tilsatt metansulfonylchlorid (1,91 ml, 23,9 mmol). Blandingen ble omrørt ved

25 rt i 3 t og ble deretter ekstrahert med etylacetat. Det organiske laget ble vasket med 1N natriumhydroksidløsning og saltløsning, og ble deretter tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Det ubearbeidede mesylatet ble deretter oppløst i tørt DMF (70 ml), og natriumazid (5,2 g, 80 mmol) ble tilsatt. Blandingen ble varmet opp med omrøring ved 80 °C i 2 t. Den avkjølte

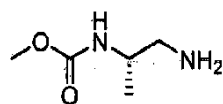
30 reaksjonsblandingen ble konsentrert, og resten ble fordelt mellom etylacetat og saltløsning. Det organiske laget ble separert og vasket med saltløsning; tørket

over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Resten ble rensset ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 8:1 heksan/etylacetat) for å gi (S)-metyl-1-azidopropan-2-ylkarbamat. MS m/z 159,1 ($M + 1$).

- 5 Fremstilt på lignende måte ble: (R)-metyl-1-azidopropan-2-ylkarbamat; og (S)-1,1-dimetyletyl-1-azidopropan-2-ylkarbamat.

Mellomprodukt. (S)-metyl-1-aminopropan-2-ylkarbamat

10



15

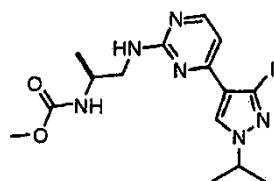
I en løsning av mellomprodukt (S)-metyl-1-azidopropan-2-ylkarbamat (2,86 g, 18,2 mmol) i etylacetat (200 ml) ble det tilsatt 10 % palladium på karbon (våt, 286 mg). Kolben ble avgasset og fylt på nytt med hydrogen (ballong, 1 atmosfære), og blandingen ble omrørt ved rt i 16 timer. Reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom et celittsjikt og vasket med etylacetat. Filtratet ble konsentrert for å gi ubearbeidet (S)-metyl-1-aminopropan-2-ylkarbamat, som ble anvendt uten ytterligere rensing. $^1\text{H-NMR}$ 400 MHz (CDCl_3) δ 4,79 (s, 1H), 3,71-3,65 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,75 (dd, 1H), 2,65 (dd, 1H), 1,14 (d, 3H); MS m/z 133,1 ($M + 1$).

20

Fremstilt på lignende måte ble: (R)-metyl-1-aminopropan-2-ylkarbamat; og (S)-1,1-dimetyletyl-1-aminopropan-2-ylkarbamat.

25

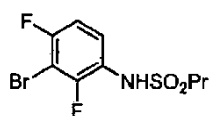
Mellomprodukt. (S)-metyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat:



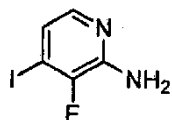
En løsning av mellomprodukt 2-klor-4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin (1,4 g, 4,01 mmol), (S)-metyl-1-aminopropan-2-ylkarbammat (0,8 g, 6 mmol) og trietylamin (2,8 ml, 20 mmol) i isopropanol (30 ml) og dioksan (20 ml) ble varmet opp til i en forseglet beholder ved 125 °C i 48 timer. Den avkjølte blandingen ble konsentrert under vakuum, og vandig natriumbikarbonat ble tilsatt i resten. Blandingen ble ekstrahert med etylacetat, og de kombinerte ekstraktene ble tørket over natriumtiosulfat, filtrert og konsentrert. Den ubearbeidede resten ble rensset ved silikagelkolonnekromatografi (ekstraksjonsmiddel: 1:2 heksaner/etylacetat) for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et hvitt faststoff. MS m/z 445,0 ($M + 1$).

Fremstilt på lignende måte ble: (R)-metyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbammat; (S)-tert-butyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbammat; 3-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propannitril; 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-N-metylpyrimidin-2-amin; og N^1 -(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-yl)- N^2,N^2 -dimetyletan-1,2-diamin.

Mellomprodukt. N-(3-brom-2,4-difluorfenyl)propan-1-sulfonamid



En løsning av 3-brom-2,4-difluoranilin (4,16 g, 20 mmol, EP184384), n-propansulfonylchlorid (4,6 ml, 40 mmol), pyridin, (8 ml), DMAP (97 mg) og DCM (100 ml) ble omrørt ved rt i 16 t. Vandig natriumbikarbonatløsning ble tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med etylacetat. Det organiske laget ble vasket med vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Det ubearbeidede produktet ble rensset ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 8:1 til 3:1 heksaner/etylacetat) for å gi tittelforbindelsen. MS m/z 313,9 ($M + 1$).

Mellomprodukt. 3-fluor-4-jodpyridin-2-amin

5

En løsning av 2-amino-3-fluorpyridin (1,0 g, 8,9 mmol) i vannfri THF (40 ml) ble dråpevis behandlet ved -78 °C med n-butyllitium (1,6 M i heksaner, 13,9 ml, 22,3 mmol). Etter tilsetningen ble blandingen omrørt ved -78 °C i 1 t, deretter ble en løsning av jod (10,2 g, 40,1 mmol) i THF (20 ml) tilsatt. Blandingen ble ekstrahert med etylacetat, og de organiske ekstraktene ble vasket med natriumtiosulfat, natriumbikarbonat og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble rensset ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 8:1 til 2:1 heksaner/etylacetat) for å tilveiebringe tittelforbindelsen. MS m/z 238,9 ($M + 1$).

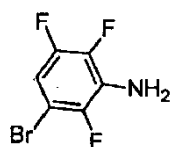
10

Fremstilt på lignende måte ble: 3-klor-4-jodpyridin-2-amin.

15

Mellomprodukt. 3-brom-2,5,6-trifluoranilin

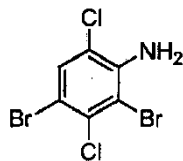
20



I et mikrobølgerør ble det tilsatt 1-brom-2,3,4,5-tetrafluorbenzen (1,0 g) og 28 % vandig ammoniumhydroksid (5 ml). Blandingen ble varmet opp under mikrobølgebestråling ved 150 °C i 2 timer, deretter ble blandingen helt i vann og ekstrahert med heksan. Det organiske laget ble separert, tørket med $MgSO_4$, deretter konsentrert. Resten ble rensset ved silikagel-flashkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 9:1 heksaner/etylacetat) gi tittelforbindelsen som en fargeløs væske. 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6,75 (m, 1H), 3,95 (br s, 2H) ppm; MS m/z : 226, 228 ($M+H$)⁺.

25

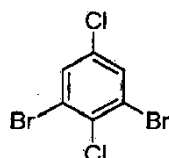
30

Mellomprodukt. 2,4-dibrom-3,6-dikloranilin

5

En blanding av 2,5-dikloranilin (0,2 g), *N*-bromsuksinimid (0,48 g) og THF (20 ml) ble omrørt ved rt i 2 timer. Løsemiddelet ble fjernet, og resten ble rensset ved silikagel-flashkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 8:2 heksaner/etylacetat) for å gi tittelforbindelsen. MS m/z : 318 ($M+H$)⁺.

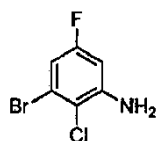
10

Mellomprodukt. 1,3-dibrom-2,5-diklorbenzen

15

A omrørt blanding av 2,4-dibrom-3,6-dikloranilin (5,0 g), *tert*-butylnitritt (3,3 g) og EtOH (50 ml) ble varmet opp i et forseglet rør ved 50 °C i 2 timer. Blandingen ble konsentrert og resten ble rensset ved silikagel-flashkromatografi (ekstraksjonsmiddel: heksaner) for å gi tittelforbindelsen. MS m/z : 303 ($M+H$)⁺.

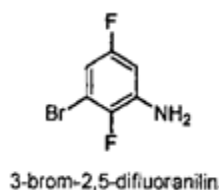
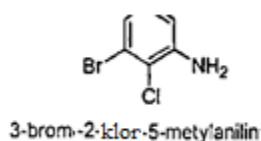
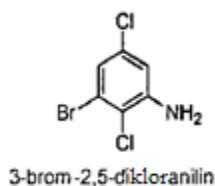
20

Mellomprodukt. 3-brom-2-klor-5-fluoranilin

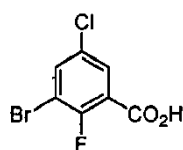
Trinn 1. 3-brom-2-klor-N-(difenylmetylen)-5-fluoranilin. En blanding av 2,6-dibrom-4-fluor-1-klorbenzen (865 mg, 3 mmol), benzofenonimin (0,61 ml, 3,6 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (137 mg, 0,15 mmol), natrium-t-butoksid (432 mg, 4,5 mmol), (S)-BINAP (280 mg, 0,45 mmol), og toluen (30 ml) ble varmet opp ved 80 °C i 16 t. Blandingen ble ekstrahert med etylacetat og den kombinerte organiske fasen vasket med saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble rensset ved silikagel-flashkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 40:1 til 20:1 heksaner/etylacetat) for å tilveiebringe tittelforbindelsen som et pulver. MS m/z 388,9 ($M + 1$).

Trinn 2. 3-brom-2-klor-5-fluoranilin. En løsning av 3-brom-2-klor-N-(difenylmetylen)-5-fluoranilin (1,16 g) i THF (20 ml) ble behandlet med 2N hydrokloridsyre (1,5 ml, 1 ekv.), og blandingen ble omrørt ved rt i 2 t. Blandingen ble ekstrahert med etylacetat og den kombinerte organiske fasen vasket med saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat og konsentrert. Den ubearbeidede resten ble kromatografert på silikagel (ekstraksjonsmiddel: 40:1 til 15:1 heksaner/etylacetat) for å tilveiebringe tittelforbindelsen, kontaminert med benzofenon. MS m/z 223,9 ($M + 1$).

Fremstilt på lignende måte ble: 3-brom-2,5-dikloranilin; 3-brom-2-klor-5-metylanilin; og 3-brom-2,5-difluoranilin.



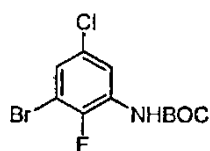
Mellomprodukt. 3-brom-5-klor-2-fluorbenzosyre



En løsning av 2-brom-4-klor-1-fluorbenzen (4,31 g, 20 mmol) ble dråpevis tilsatt i en -78 °C løsning av LDA i THF (fremstilt fra diisopropylamin (3,38 ml, 24 mmol) og n-BuLi (1,6 M, 13,1 ml, 21 mmol)). Blandingen ble omrørt ved -78 °C i 1 t, og ble deretter sakte overført (~ 30–60 min) via kanyle til en omrørt -78 °C blanding av tørris og THF (40 ml). Blandingen ble omrørt ved -78 °C i 1 t, og fikk deretter varme seg opp til rt (gassutvikling). Blandingen ble konsentrert, og ble deretter behandlet med 50 ml 1 N natriumhydroksidløsning. Blandingen ble ekstrahert med etylacetat (kastet). Det vandige laget ble forsuret med 1N hydrokloridsyre, og ble deretter ekstrahert med kloroform (3 x 400 ml). Kloroformekstraktet ble tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe den ubearbeidede tittelforbindelsen. Produktet ble kontaminert med en liten mengde av isomerproduktet 2-brom-6-klor-3-fluorbenzoesyre. ¹H-NMR for tittelforbindelse 3-brom-5-klor-2-fluorbenzoesyre: (400 MHz, CDCl₃) δ 7,93 (dd, 1H, J = 2,8, 5,6 Hz), 7,79 (dd, 1H, J = 2,8, 5,6 Hz) ppm.

Fremstilt på lignende måte ble: 3-brom-2,6-difluorbenzoesyre; og 3-brom-2-fluor-5-metylbenzoesyre.

Mellomprodukt. *Tert*-butyl-3-brom-5-klor-2-fluorfenylkarbamat

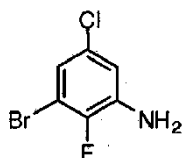


En løsning av ubearbeidet mellomprodukt 3-brom-5-klor-2-fluorbenzoesyre (2,03 g, 8 mmol), difenylfosforylazid (2,07 ml, 9,6 mmol, 1,2 ekv.), og DIPEA (1,67 ml, 9,6 mmol, 1,2 ekv.) i 1:1 *t*-butanol/toluen (25 ml) ble varmet opp ved 110 °C i 36 t. Blandingen ble konsentrert, deretter fordelt mellom etylacetat og vann. Det organiske laget ble vasket med saltløsning, og ble deretter tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble renset ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 30:1 1 til 10:1 heksaner/etylacetat) for å tilveiebringe tittelforbindelsen. MS *m/z*: 267,8 (M+H)⁺. (M-^tBu).

Fremstilt på lignende måte ble: tert-butyl-3-brom-2,6-difluorfenylkarbamat; og tert-butyl-3-brom-2-fluor-5-metylfenylkarbamat.

Mellomprodukt. 3-brom-5-klor-2-fluoranilin

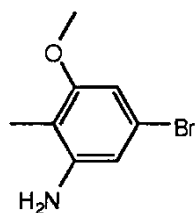
5



En løsning av tert-butyl-3-brom-5-klor-2-fluorfenylkarbamat (900 mg, 2,78 mmol) i DCM/TFA (1:1, 20 ml) ble omrørt ved rt i 1 t. Reaksjonsblandingen ble konsentrert, deretter ble resten tatt opp i etylacetat og vasket med vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Det organiske laget ble tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe den ubearbeidede tittelforbindelsen (736 mg). MS m/z 223,9 ($M+1$).

15

Mellomprodukt. 5-brom-3-metoksy-2-metylanilin:

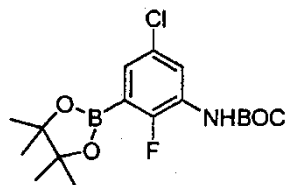


20

En heterogen reaksjonsblanding av 4-brom-2-metoksy-6-nitrotoluen (500 mg, 2,032 mmol), eddiksyre (20 ml), og jern (1135 mg, 20,32 mmol) ble omrørt ved rt i 24 t. Etylacetat ble tilsatt, deretter ble blandingen filtrert gjennom celitt og filtratet konsentrert. Resten ble fordelt mellom etylacetat og mettet vandig natriumbikarbonatløsning. Det vandige laget ble ekstrahert med ytterligere etylacetat. De kombinerte organiske fasene ble vasket med vann og saltløsning, deretter tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å gi tittelforbindelsen. MS m/z : 218,0 ($M+H$)⁺.

25

Mellomprodukt. *Tert*-butyl-5-klor-2-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenylkarbamat:

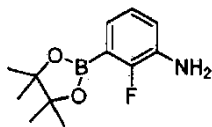


5

En blanding av mellomprodukt *tert*-butyl-3-brom-5-klor-2-fluorfenylkarbamat (1,45 g, 4,46 mmol), *bis*(pinakolato)dibor (1,7g, 6,69 mmol), kaliumacetat (1,53g, 15,6 mmol), PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (163 mg, 0,22mmol), og dioksan (100 ml) ble varmet opp til et forseglet rør ved 100 °C i 16 t. Den ubearbeidede reaksjonsblandingen ble tatt opp i etylacetat og vasket med vandig natriumbikarbonatløsning og saltløsning. Det organiske laget ble tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Den ubearbeidede forbindelsen ble fortynnet med varm heksan (600 ml), varmet opp til 65 °C i 30 min. deretter avkjølt til romtemperatur. Den brune blandingen ble filtrert gjennom celitt, og filterkaken ble vasket med heksaner. De kombinerte filtratene ble konsentrert for å gi den ubearbeidede tittelforbindelsen som en gul olje. MS *m/z* 233 (M-pinakol-tBu).

Fremstilt på lignende måte ble: 5-klor-2-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; *tert*-butyl 2,6-difluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenylkarbamat; N-(2,4-difluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenyl)propan-1-sulfonamid; 2-(2-fluor-3-nitrofenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan; 2,5-difluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; 2-klor-5-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; 2,5-diklor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; 2-klor-5-metyl-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; *tert*-butyl 2-fluor-5-metyl-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenylkarbamat; 3-fluor-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)pyridin-2-amin; 2,3,6-trifluor-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; 3-klor-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)pyridin-2-amin; 3-klor-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin; 3-metoksy-2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin.

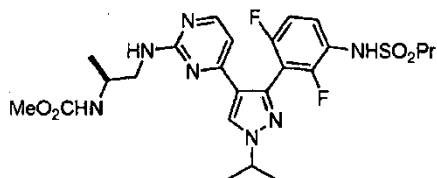
Mellomprodukt. 2-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin:



En blanding av mellomprodukt 2-(2-fluor-3-nitrofenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan (500 mg), 10% palladium på karbon (50 mg) og etylacetat (20 ml) ble omrørt under 1 atmosfære av hydrogen i 16 t. Blandingen ble boblet med nitrogen og filtrert. Filtratet ble konsentrert for å tilveiebringe tittelforbindelsen, som ble anvendt uten ytterligere rensing. MS m/z 237,1 ($M + 1$).

Eksempel 1

Metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[2,6-difluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat (forbindelse 7 i tabell 1)



En blanding av ubearbeidet mellomprodukt N-(2,4-difluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenyl)propan-1-sulfonamid (854 mg), Intermediate (S)-metyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (350 mg, 90 % ren), tetrakis(trifenylfosfin)palladium(0) (90 mg), 2 M vandig natriumkarbonatløsning (6 ml), toluen (50 ml) og etanol (6 ml) ble varmet opp ved 80 °C i 16 t. Den avkjølte blandingen ble ekstrahert med etylacetat, og de kombinerte organiske ekstraktene ble vasket med saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble rensert ved silikagelkromatografi

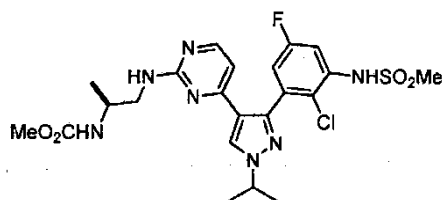
(ekstraksjonsmiddel: 70:1 til 40:1 DCM/metanol) for å tilveiebringe tittelforbindelsen.

Eksempel 2

5

Metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-klor-5-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat (forbindelse 15 i tabell 1)

10



15

Trinn 1. (S)-metyl-1-(4-(3-(3-amino-2-klor-5-fluorfenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat. En blanding av ubearbeidet mellomprodukt 2-klor-5-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin (214 mg), mellomprodukt (S)-metyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (68 mg, 0,14 mmol), tetrakis(trifenyfosfin)-palladium(0) (16 mg), 2 M vandig natriumkarbonatløsning (3 ml)), toluen (18 ml) og etanol (3 ml) ble varmet opp ved 85 °C i 16 t. Blandingen ble ekstrahert med etylacetat, og de kombinerte organiske ekstraktene ble vasket med saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble rensert ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 60:1 til 40:1 DCM/metanol) for å tilveiebringe tittelforbindelsen (46 mg) kontaminert med (S)-metyl-1-(4-(1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat. MS m/z 462,1 ($M + 1$).

25

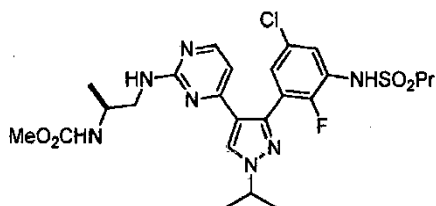
30

Trinn 2. (S)-metyl-1-(4-(3-(2-klor-5-fluor-3-(metansulfonamido)fenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat. En blanding av anilinproduktet i trinn 1 (46 mg), pyridin (2 ml), trietylamin (1 ml), DCM (4 ml), og metansulfonylklorid (23 μ l, 0,3 mmol) ble omrørt ved rt i 16 t.

Den ubearbeidede reaksjonsblandingen ble konsentrert, deretter ble resten tatt opp i en blanding av toluen (9 ml), etanol (1 ml), natriumkarbonat (2 g) og vann (10 ml). Den omrørte blandingen ble varmet opp ved 85 °C i 16 t. Bearbeiding som for trinn 1 tilveiebrakte det ubearbeidede produktet, som ble renset ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 60:1 til 40:1 DCM/metanol) for å tilveiebringe tittelforbindelsen.

Eksempel 3

Metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[5-klor-2-fluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)aminopropan-2-yl]karbamat (forbindelse 1 i tabell 1)



Trinn 1. (S)-metyl-1-(4-(3-(5-klor-2-fluor-3-(*tert*-butoksykarbonylamino)fenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat. En blanding av ubearbeidet mellomprodukt *tert*-butyl-5-klor-2-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenylkarbamat (2,0 g), mellomprodukt (S)-metyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (600 mg, 1,34 mmol), tetrakis(trifenylfosfin)palladium(0) (150 mg, 0,13mmol), 2 M vandig natriumkarbonatløsning (6,7 ml, 13,5 mmol), toluen (80 ml) og etanol (6 ml) ble varmet opp ved 80 °C i 16 t. Blandingen ble ekstrahert med etylacetat, og de kombinerte organiske ekstraktene ble vasket med saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble renset ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 80:1 til 60:1 DCM/metanol) for å tilveiebringe tittelforbindelsen kontaminert med trifenylfosfinoksid. MS *m/z* 562,1 (M + 1).

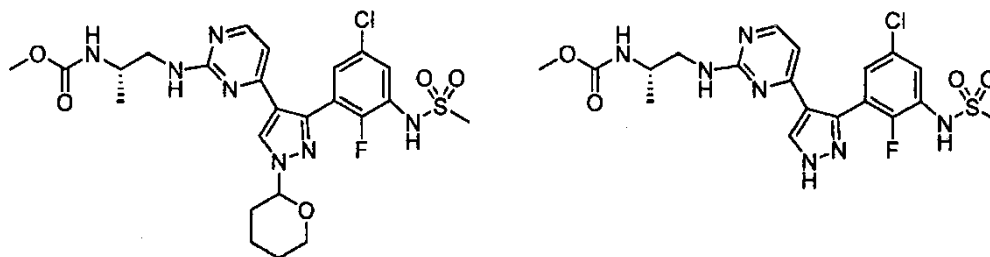
Trinn 2. (S)-metyl-1-(4-(3-(3-amino-5-klor-2-fluorfenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat. En løsning av delvis rensset (S)-metyl-1-(4-(3-(5-klor-2-fluor-3-(*tert*-butoksykarbonylamino)fenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (1,15 g) i DCM (50 ml) og TFA (20 ml) ble omrørt ved rt i 1 t. Løsemidlene ble fjernet, deretter ble vandig natriumbikarbonatløsning tilsatt. Blandingen ble ekstrahert med etylacetat, og deretter ble de kombinerte organiske ekstraktene vasket med natriumbikarbonat og saltløsning. Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat og konsentrert. Produktet ble oppnådd ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 60:1 til 40:1 DCM/metanol); MS m/z 462,1 (M + 1).

Trinn 3. Metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[5-klor-2-fluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat. En blanding av (S)-metyl-1-(4-(3-(3-amino-5-klor-2-fluorfenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (41 mg, 0,09 mmol), trietylamin (1 ml), og DCM (4 ml) ble behandlet med propansulfonylchlorid (40 mg, 0,27 mmol). Blandingen ble omrørt ved rt i 16 t. Den ubearbeidede blandingen ble konsentrert, og resten ble tatt opp i en blanding av toluen (9 ml), etanol (1 ml), natriumkarbonat (2 g) og vann (10 ml). Den omrørte blandingen ble varmet opp ved 85 °C i 16 t. Bearbeiding som for trinn 1 tilveiebrakte det ubearbeidede produktet, som ble rensset ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 60:1 til 40:1 DCM/metanol) for å tilveiebringe tittelforbindelsen.

Eksempel 4

Metyl-N-[(2S)-1-(4-{3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(oksan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat (forbindelse 33 i tabell 1) og Metyl-N-[(2S)-1-(4-{3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat (forbindelse 31 i tabell 1)

60



Trinn 1. 5-klor-2-fluor-3-(4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)anilin. Fremstilt ifølge fremgangsmåten i eksempel 3, trinn 1, med utgangspunkt i mellomprodukt 4-(3-jod-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl)-2-(metyltio)pyrimidin og mellomprodukt 5-klor-2-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)anilin. MS m/z 420,0 ($M + 1$).

Trinn 2. N-(5-klor-2-fluor-3-(4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)fenyl)metansulfonamid og N-(5-klor-2-fluor-3-(4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)fenyl)-N-(metylsulfonyl)metansulfonamid. I en løsning av 5-klor-2-fluor-3-(4-(2-(metyltio)pyrimidin-4-yl)-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)anilin (233 mg, 0,55 mmol) og trietylamin (2 ml) i diklormetan (10 ml) ble det tilsatt metansulfonylchlorid (0,13 ml, 1,66 mmol). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 16 t, noe som tilveiebrakte en blanding av tittelforbindelsene (LCMS-analyse). Etylacetat ble tilsatt og blandingen ble vasket med vann og saltløsning, deretter ble det organiske laget tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert for å tilveiebringe den ubearbeidede tittelblanding, som ble anvendt uten ytterligere rensing. MS m/z mono-sulfonamid 498,0 ($M + 1$); bis-sulfonamid 576,0 ($M + 1$)

Trinn 3. Metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(oksan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat. Den ubearbeidede produktblanding fra trinn 2 ble oppløst i THF-H₂O (1:1, 30 ml) og behandlet ved rt med Oxone® (1,68 g, 2,75 mmol). Blandingen ble omrørt ved rt i 16 t, deretter ble etylacetat tilsatt. Det organiske laget ble vasket med vandig natriumbikarbonatløsning, vann og saltløsning, og ble deretter tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Den ubearbeidede resten ble oppløst i NMP (5 ml) og behandlet med mellomprodukt (S)-metyl-1-aminopropan-2-ylkarbamat (146 mg, 1,1 mmol) og natriumkarbonat (233 mg, 2,2 mmol). Blandingen ble varmet opp med omrøring ved 110 °C i 16 t. Den avkjølte

reaksjonsblandingen ble fortynnet med etylacetat, og ble deretter vasket med vann og saltløsning. Det organiske laget ble tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Resten ble kromatografert på silikagel (ekstraksjonsmiddel: 2 % metanol i diklormetan) for å tilveiebringe tittelforbindelsen.

5

Trinn 4. Metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat. I en løsning av metyl-(2S)-1-(4-(3-(5-klor-2-fluor-3-(metylsulfonamido)fenyl)-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (94 mg, 0,16 mmol) i MeOH (15 ml) ble det tilsatt konsentrert hydrokloridsyre (0,5 ml). Blandingen ble omrørt ved rt i 16 t. Vandig natriumbikarbonat ble tilsatt for å justere pH-verdien til 9, og blandingen ble ekstrahert med etylacetat. Det organiske laget ble vasket med vandig natriumbikarbonat og saltløsning. Det ubearbeidede produktet ble rensset ved silikagelkromatografi (ekstraksjonsmiddel: 30:1 til 15:1 diklormetan/metanol) for å tilveiebringe tittelforbindelsen.

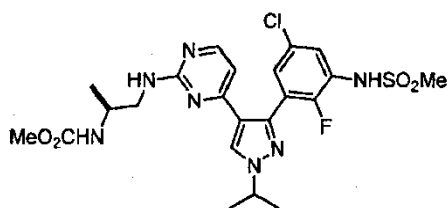
10

15

Eksempel 5

20

Metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat (forbindelse 9 i tabell 1)



25

Metansulfonylchlorid (0,277 ml, 357 mmol) ble tilsatt i en løsning av (S)-metyl-1-(4-(3-(3-amino-5-klor-2-fluorfenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (550 mg, 1,2 mmol) i DCM (30 ml) og pyridin (10 ml), og blandingen ble omrørt ved rt i 16 t. Vandig natriumbikarbonatløsning ble tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med etylacetat og vasket med saltløsning.

30

Den organiske fasen ble tørket over natriumsulfat og konsentrert. Det ubearbeidede produktet ble rensert ved silikagelkromatografi (60:1 til 40:1 DCM/metanol) for å tilveiebringe tittelforbindelsen. En alternativ syntese er beskrevet i eksempel 6, *infra*.

5

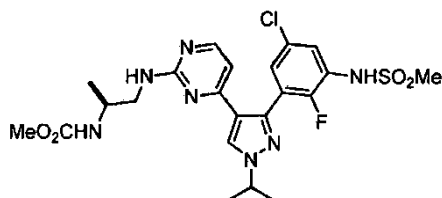
Også isolert fra reaksjonsblandingen ble; Metyl-N-[(2S)-2-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propyl]karbamat (forbindelse 32 i tabell 1); N-{3-[4-(2-aminopyrimidin-4-yl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl]-5-klor-2-fluorfenyl}metansulfonamid (forbindelse 30 i tabell 1).

10

Eksempel 6

Metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat (forbindelse 9 i tabell 1)

15



20

Trinn 1. 1-benzyliden-2-isopropylhydrazin. I en reaktor utstyrt med en mekanisk omrører, et termometer, og en tilsetningstrakt under nitrogenspyling ble det tilsatt isopropylhydrazinhydrogenkloridsalt (712 g, 6,43 mol), natriumacetat (528 g, 6,43 mol) og 50 % etanol (4500 ml). Blandingen ble omrørt ved 20 °C i 5 min. Benzaldehyd (683 g, 6,43 mol) ble tilsatt samtidig som partiets temperatur ble opprettholdt under 23 °C. Blandingen ble omrørt ved 20 °C i 20 t. Toluen (6500 ml) ble tilsatt, og omrøring ble opprettholdt i 5 min. Det organiske sjiktet ble separert. Mettet vandig natriumbikarbonatløsning (4800 ml) ble sakte tilsatt i det kraftig omrørte organiske laget (Merk: det vandige lagets pH var ~8,0). Det organiske laget ble separert og vasket med mettet vandig natriumbikarbonatløsning (3000 ml). Deretter ble det organiske laget separert

25

30

og konsentrert under vakuum (50→20 torr) ved 40 °C for å gi tittelforbindelsen som en gul olje (anvendt uten ytterligere rensing).

Trinn 2. 2-((2-benzyliden-1-isopropylhydrazinyl)metylen)-malononitril. I en kolbe utstyrt med en mekanisk omrører, et termometer, og en tilsetningstrakt under nitrogenspyling ble det fylt (etoksyetylidin)malononitril (755 g, 6,18 mol), DMAP (150 g, 1,23 mol), og etanol (6400 ml). Blandingen ble omrørt for å gi en mørk oransje løsning, og en endoterm reaksjon fra 20 °C til 12 °C ble observert. 1-benzyliden-2-isopropylhydrazin (1101 g, ubearbeidet) ble sakte tilsatt i løpet av 15 min for å gi en eksoterm reaksjon til 32 °C og en oransje suspensjon. Den oransje suspensjonen ble varmet opp til 50 °C og holdt ved 50 °C i 30 min for å gi en mørkebrun suspensjon. Etanol (3200 ml) ble tilsatt i blandingen, og blandingen ble avkjølt til 20 °C og holdt ved 20 °C i 1 t. Slurrien ble filtrert og den faste kaken ble skylt med etanol (3000 ml). Faststoffet ble samlet opp og tørket under vakuum ved 40 °C/5 torr i 3 t for å frembringe tittelforbindelsen som et gult faststoff. HPLC-renhet > 99 %.

Trinn 3. 3-amino-1-isopropyl-1H-pyrazole-4-karbonitril. I en kolbe utstyrt med en mekanisk omrører, et termometer, en kondensator og en tilsetningstrakt under nitrogenspyling ble det fylt 2-((2-benzyliden-1-isopropylhydrazinyl)metylen)-malononitril (632,6 g, 2,65 mol), MeOH (2,5 l), og kons. (12 N) HCl (329,0 ml, 3,94 mol). Blandingen ble varmet opp til 63 °C og holdt ved 63 °C i 30 min for å gi en oransje løsning. Blandingen ble avkjølt til 15 °C. Heptan (4 l) og MTBE (1 l) ble tilsatt og blandingen omrørt i 5 min. Deretter ble vann (7,5 l) tilsatt i en strøm i løpet av 30 min ved 15 °C til 25 °C. Blandingen ble omrørt 10 min ved 25 °C etter at tilsetningen av vann var fullført. Heptan/MTBE-laget ble separert. Det vandige laget ble vasket med en (4:1 v/v) heptan/MTBE-blanding (2 x 5 l) ved omrøring av hver vask i 10 min ved 25 °C. Lagene ble separert. Fast natriumklorid (1 kg) ble tilsatt i det vandige laget. Mettet vandig kaliumkarbonatløsning ble deretter sakte tilsatt i det vandige laget for å regulere CO₂-utviklingen og for å justere pH-verdien ~ 9,0. Det vandige laget ble deretter ekstrahert to ganger med CH₂Cl₂ (1 x 2,2 l, 1 x 800 ml). De kombinerte CH₂Cl₂-lagene ble tørket over MgSO₄, filtrert, og filtratet ble konsentrert under vakuum (200 torr) ved en badtemperatur på 30 °C til restvekten var ~ 1 kg. Heptan (6,0 l) ble sakte tilsatt (i løpet av ~ 20 min) i CH₂Cl₂-løsningen med omrøring og en slurry ble dannet. Blandingen ble konsentrert under vakuum (60 torr) ved en indre temperatur på 25 °C til

restvolumet var - 6.2 l. Slurrien ble avkjølt til 15 °C og holdt ved denne temperaturen i 10 min. Produktet ble filtrert og faststoffet ble vasket med heptan (1 l). Faststoffet ble tørket under vakuum (5 torr) ved 30 °C i 4 h for å frembringe tittelforbindelsen som et gult faststoff. HPLC-renhet > 99 %.

5

Trinn 4. 1-(3-amino-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-etanon. I en kolbe utstyrt med en mekanisk omrører, et termometer, en tilbakeløpskondensator, varme-/kjølekapasitet, tilsetningstrakt og nitrogeninntak/-uttak ble det fylt 3-amino-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-karbonitril (274 g, 1,82 mol) og syklopentylmetyleter (2600 ml) ved 20 °C under nitrogen. Suspensjonen ble avkjølt til -10 °C. 1,5 M metyllitium/litiumbromid-kompleks i dietyleterløsning (6,0 l, 9,00 mol) ble tilsatt dråpevis i løpet av 2,5 h ved -10 °C til 0 °C. Da metyllitium-tilsetningen var fullført ble reaksjonssuspensjonen raskt varmet til 5 °C til 10 °C og holdt i dette temperaturområdet i 1 t. Blandingen ble avkjølt til 0 °C, og 2N HCl (6,0 l) ble dråpevis tilsatt ved 5–10 °C. Det (øvre) organiske laget ble separert og ekstrahert med 2N HCl (500 ml). De kombinerte vandige lagene ble omrørt ved rt i 16 t. Blandingen ble avkjølt til 15 °C og gjort basisk med 50 % NaOH (260,0 g) for å gi en pH på ~ 11,0. Blandingen ble ekstrahert med CH₂Cl₂ (1 x 2,0 l, 1 x 1 l). De kombinerte CH₂Cl₂-lagene ble tørket over MgSO₄, filtrert og konsentrert under vakuum for å gi et gult faststoff (278 g). Faststoffet ble oppløst i EtOAc (750 ml) etter oppvarming til 65 °C. Løsningen ble avkjølt til rt og en slurry ble oppnådd. Heptan (1500 ml) ble sakte tilsatt i løpet av 40 min ved rt. Slurrien ble avkjølt til -10 °C og holdt ved -10 °C i 30 min. Slurrien ble filtrert og filterkaken ble skylt med heptan (300 ml). Faststoffet ble tørket under vakuum (5 torr) ved 40 °C i 3 t for å gi tittelforbindelsen som et lysebrunt faststoff. HPLC-renhet > 99 %. M.P. 136–139 °C.

Trinn 5. 1-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-etanon. En kolbe utstyrt med en mekanisk omrører, et termometer og en tilsetningstrakt under nitrogenspyling ble fylt med 1-(3-amino-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-etanon (250,0 g, 1,49 mol) og acetonitril (3725 ml). Blandingen ble avkjølt til -20 °C. BF₃.THF (313,1 g, 2,23 mol) ble tilsatt dråpevis samtidig som den indre temperaturen ble holdt < -10 °C. Isoamylnitritt (227,5 g, 1,94 mol) ble tilsatt dråpevis samtidig som den indre temperaturen ble holdt lik. < -10 °C. Blandingen fikk varme seg opp til 10 °C og ble omrørt ved 10 °C i 30 min. Blandingen ble tilsatt i en tynn strøm i en kolbe inneholdende en blanding av I₂ (28,5 g, 0,112 mol), KI (371,9 g, 2,24 mol) og acetonitril (1160 ml) ved 10–15 °C med kraftig omrøring. Tilsetningen

35

- forårsaket utvikling av nitrogengass og en lett eksoterm reaksjon. Blandingen ble omrørt ved rt i 30 min. HPLC viste ikke noe gjenværende diazonium-mellomprodukt. Deretter ble natriumbisulfitt (157,1 g, 1,51 mol) i 8 % natriumkloridløsning (4360 ml) tilsatt ved 15–20 °C. Blandingen ble gjort basisk med mettet kaliumkarbonat til pH - 8,5. Det øverste acetonitrillaget ble separert og konsentrert under vakuum for å gi en oljeaktig rest. Oljen ble oppløst i iPrOAc (2770 ml) og vasket med mettet vandig natriumkarbonat løsning (1100 ml). iPrOAc-laget ble separert og konsentrert til et restvolum på ~ 1,5 l. En suspensjon ble oppnådd. I suspensjonen ble det tilsatt heptan (5,5 l) i løpet av 30 min ved 20 °C. Suspensjonen ble omrørt i 10 min ved 20 °C etter at tilsetningen av heptan var fullført. Slurryen ble filtrert og faststoffet ble skylt med heptan (1 l) og deretter tørket ved 20 °C under vakuum (5 torr) for 16 t for å gi tittelforbindelsen. MP 90-92 °C.
- Trinn 6. 3-(dimetylamino)-1-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)prop-2-en-1-on. I en kolbe utstyrt med en mekanisk omrører, et termometer, og en tilsetningstrakt under nitrogenspyling ble det fylt 1-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-etanon (640 g, 2,30 mol) og DMF (6,4 l). Den resulterende oransje løsningen ble varmet opp til 120 °C. Brederecks reagens (598,6 g, 3,43 mol) ble tilsatt i én porsjon. Tilsetningen fikk partitemperaturen til å synke til 114 °C, og løsningen ble mørkere oransje i farge. Blandingen ble omrørt ved 120 °C i 20 min. Blandingen ble avkjølt til rt og deretter konsentrert ved 5 mmHg ved 60 °C for å gi en oljeaktig rest. Resten ble oppløst i iPrOAc (2400 ml) ved oppvarming til 74 °C. Blandingen ble avkjølt til 35 °C og omrørt for å oppnå en slurry. Heptan (6000 ml) ble tilsatt ved 35 °C til rt i løpet av 1 t. Blandingen ble avkjølt til -15 °C og filtrert, og faststoffet ble tørket under vakuum ved 40 °C i 3 t for å gi tittelforbindelsen som et faststoff. HPLC-renhet > 98 %. MP 106-109 °C.
- Trinn 7. 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-pyrimidin-2-amin. I en kolbe utstyrt med en mekanisk omrører, et termometer, en Dean-Stark-felle og en kondensator under nitrogenspyling ble det fylt (E)-3-dimetylamino-1-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-prop-2-en-1-on (735 g, 2,2 mol), guanidinkarbonat (596 g, 3.3 mol) og NMP (5200 ml). Blandingen ble varmet opp til 130 °C og holdt ved 130 °C i 5 t. (Merk: Eventuelle flyktige fraksjoner ble samlet opp av Dean-Stark-fellen). Blandingen ble avkjølt til 80 °C og 15 % vand. natriumklorid (7500 ml) ble tilsatt ved 80 °C til 35°C i løpet av ~ 1 t. Produktet begynte å utfelle tilnærmet halvveis i tilsetningen av vandig natriumklorid. Blandingen ble

videre avkjølt til rt og holdt i 30 min. Faststoffproduktet ble samlet opp ved filtrering og tørket under vakuum ved 65 °C i 16 t for å gi tittelforbindelsen som et faststoff. HPLC-renhet > 99 %. MP 167–169 °C.

5 Trinn 8. 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-pyrimidin-2-ol. En kolbe utstyrt med en mekanisk omrører og termometer under nitrogenspyling ble fylt med TFA (748,8 ml). 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-pyrimidin-2-amin (300 g, 0,91 mol) ble tilsatt i porsjoner som et faststoff samtidig som den indre temperaturen ble opprettholdt under 30 °C ved hjelp av et kaldt vannbad.

10 Blandingen ble omrørt ved rt i 10 min for å oppnå en løsning. Blandingen ble avkjølt til 20 °C og natriumnitritt (79,7g, 1,27 mol) ble tilsatt i porsjoner i løpet av 5 timer ved 22–28 °C med rask omrøring. (Merk: Noe gassutvikling ble observert, og det var en mild eksoterm reaksjon som lett ble kontrollert ved hjelp av et kjølig vannbad). DCM (12 l) ble tilsatt og blandingen ble varmet til 27

15 °C. Vann (4400 ml) ble tilsatt (Merk: gassutvikling i begynnelsen). Mettet kaliumkarbonatløsning (~1500 ml) ble sakte tilsatt i blandingen for å gjøre den basisk til pH ~ 9,0 (Merk: En stor mengde gass ble utviklet). I blandingen ble det tilsatt en løsning av natriumbisulfitt (32 g, 0,30 mol) i vann (100 ml). Blandingen ble omrørt ved 27 °C i 15 min og pH-ble justert på nytt til ~9,0.

20 DCM-laget ble separert og konsentrert under vakuum (200–100 mmHg) ved en badtemp. på 40 °C til restvekten var ~2300 g (-1750 ml). I resten ble det tilsatt MTBE (1500 ml) ved 20 °C. Blandingen ble omrørt 10 min ved 20 °C og ble deretter filtrert. Faststoffet ble tørket 16 t ved 30°C under vakuum (5 torr) for å gi tittelforbindelsen som et off-white faststoff. HPLC-renhet > 99 %. MP 216–218

25 °C.

Trinn 9. 2-klor-4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-pyrimidin. I en kolbe utstyrt med omrører, termometer, kondensator, tilsetningstrakt og nitrogeninntak/-uttakk ble det fylt 4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-

30 pyrimidin-2-ol (311 g, 942 mmol). I faststoffet ble det tilsatt acetonitril (2500 ml) ved 20 °C. Blandingen ble omrørt for å gi en suspensjon. I suspensjonen ble det tilsatt DIPEA (246,2 ml, 1,41 mol), etterfulgt av DMF (218,8 ml, 2,83 mol). Den resulterende suspensjonen ble omrørt 5 min ved 20 °C. I suspensjonen ble det tilsatt POCl₃ (217 g, 1,41 mol) ved 20–40 °C for å gi en oransje løsning.

35 Blandingen ble varmet til 80 °C og holdt ved 80 °C i 3 t. Blandingen ble avkjølt til 10 °C, og en løsning av ammoniumhydroksid (622 ml 28 %) i deionisert vann (5550 ml) ble sakte tilsatt i løpet av 1,5 t, mens temperaturen ble holdt under

20 °C. Etter fullført tilsetning av ammoniumhydroksidet, ble den resulterende suspensjonen omrørt i 40 min ved 10–20 °C. Faststoffproduktet ble samlet opp ved filtrering og tørket over natten ved 40 °C under vakuum (5 torr) for å gi tittelforbindelsen som et brunt faststoff HPLC-renhet > 99 %.

5

Trinn 10. (S)-benzyl 2-(metoksykarbonylamino)propylkarbamat. I en suspensjon av (S)-1,2-diaminopropan dihydroklorid (50 g, 340 mmol) i diklormetan (500 ml) ble det tilsatt kaliumkarbonat (1190 mmol). Suspensjonen ble omrørt og filtrert for å samle opp filtratet. Filtratet ble avkjølt til 0–5 °C og omrørt mens benzylklorformat (51 ml, 357 mmol) ble tilsatt dråpevis. Etter fullført tilsetning ble reaksjonsblandingen omrørt i 3 t ved 0–5 °C, og fikk deretter varme seg til rt, og ble omrørt ved rt over natten. I denne blandingen ble det dråpevis tilsatt trietylamin (71 ml, 510 mmol), og blandingen ble avkjølt til 0–5 °C. Metylklorformat (28 ml, 357 mmol) ble tilsatt sakte ved 0–5 °C, og blandingen fikk varme seg opp til rt og ble omrørt over natten. Blandingene ble helt i vann. De flyktige stoffene ble fjernet under vakuum. Den resulterende vandige slurryen ble filtrert for å samle opp faststoffene, og filterkaken ble deretter vasket med etylacetat for å tilveiebringe et hvitt faststoff (65 g, 92–94 % HPLC-renhet). Flere rekrySTALLISERINGER fra etylacetat tilveiebrakte tittelforbindelsen som et hvitt faststoff, HPLC-renhet 99,5 %.

20

Trinn 11. (S)-metyl-1-aminopropan-2-ylkarbamat-hydroklorisdyresalt En løsning av (S)-benzyl 2-(metoksykarbonylamino)propylkarbamat i metanol ble hydrogenert over en 5 % palladium/C-katalysator ved 50–60 psi. Reaksjonsblandingen ble filtrert, og filtratet ble konsentrert under vakuum for å gi en fargeløs olje. 60 g av den fargeløse oljen ble oppløst i 200 ml vannfri diklormetan, og løsningen ble avkjølt til 0–5 °C i et isvannbad. En løsning av HCl i metanol (ca. 75 ml) ble tilsatt dråpevis til løsningens pH var < 1. Den resulterende suspensjonen ble omrørt ved 0–5 °C i 30 min, deretter ble faststoffet samlet opp via filtrering. Faststoffet ble vasket med diklormetan og deretter med heksaner for å gi tittelforbindelsen som et hvitt faststoff.

25

30

35

Trinn 12. 3-brom-5-klor-2-fluorbenzaldehyd. En løsning av 2,2,6,6-tetrametylpiperidin (327 g, 98 %, 2,274 mol) og THF (1,9 l, HPLC-grad) ble avkjølt til -75 °C (tørris-metanolbad) under argonatmosfære. 1,6 M n-BuLi/heksan-løsning (1,47 l, 2,35 mol) ble sakte tilsatt i blandingen ved -72 til -67 °C i løpet av 1 t. Blandingene ble omrørt ved -72 til -67 °C i 30 min for å gi en

blekgul suspensjon. 2-brom-4-klor-1-fluorbenzen (435 g, 97 %, 2,02 mol) ble sakte tilsatt i blandingen ved -72 til -67 °C i løpet av 30 min, og deretter ble blandingen omrørt ved -72 til -67 °C i ytterligere 30 min. Dimetylformamid (230 g, 99,5 %, 3,14 mol) ble sakte tilsatt i blandingen ved -70 til -65 °C i løpet av 30 min, og deretter ble blandingen omrørt ved -70 til -65 °C i 30 min for å gi en lysebrun løsning. Kjølebadet ble fjernet, og deretter ble mettet ammoniumkloridløsning (720 ml) tilsatt i partiet ved -60 til -30 °C i løpet av 15 min for å oppnå en uklar blanding. 6 N hydrokloridsyre ble raskt tilsatt i blandingen ved -30 til 10 °C i løpet av 15 min til pH 1, og deretter ble etylacetat (2,0 l) tilsatt ved 10 til 20 °C. Lagene ble separert og det vandig laget ble ekstrahert med etylacetat (1 x 300 ml). De kombinerte organiske ekstraktene ble vasket med vann (1 x 800 ml) og saltløsning (1 x 500 ml), tørket over magnesiumsulfat og filtrert. Filtratet ble konsentrert under vakuum (60–65 °C) for å gi tittelforbindelsen som en brungul viskøs olje, som størknet etter å ha stått flere timer. ¹H-NMR (CDCl₃): δ 7,76-8,30 (m, 2H), 10,0-10,8 (br s, 1H); MS m/z 238,0 (M+1).

Trinn 13. 3-brom-5-klor-2-fluorbenzoesyre. En omrørt blanding av 3-brom-5-klor-2-fluorbenzaldehyd (415 g), tert-butanol (1,2 l) og vann (1,2 l) ble varmet til 30 °C, og deretter ble kaliumpermanganat (335 g, 2,12 mol) tilsatt (5 porsjoner) i partiet ved 40–45 °C i løpet av 1 t. Det mørkelilla innholdet ble varmet topp på en trinnvis måte ved 45–50 °C i 30 min, 50–55 °C i 30 min og 55–60 °C i 30 min for å en brunlilla suspensjon. Reaksjonsblandingen fikk avkjøle seg til 20 °C, deretter ble mettet natriumsulfittløsning tilsatt ved 22–27 °C, til en negativ peroksidtest ble oppnådd. Varmt vann (2,5 l, -50 °C) og mettet natriumkarbonatløsning (100 ml) ble sekvensielt tilsatt i blandingen i løpet av 15 min. Den mørke suspensjonen ble filtrert gjennom et 1 cm celittsjikt, og filterkaken ble vasket med varmt vann (4 x 1 l, -50 °C). Det kombinerte filtratet ble surgjort med 6 N hydrokloridsyreløsning til pH 1 for å oppnå en gul, oljeaktig suspensjon. Etylacetat (3 l) ble tilsatt i blandingen, og blandingen ble omrørt i 10 min. Det (øvre) organiske laget ble vasket med vann (1,2 l), tørket over magnesiumsulfat, filtrert og konsentrert under vakuum (60–65 °C) for å gi en tykk gul suspensjon. Heksan (700 ml) ble tilsatt i resten og the suspensjon ble avkjølt til 5–10 °C. Faststoffet ble samlet opp, og filterkaken ble tørket under vakuum (65 °C) over natten for å gi tittelforbindelsen som et gult faststoff. Sp. 150–152 °C; HPLC-renhet (225 nm): 97,5 %; ¹H-NMR (d₆-DMSO): δ 7,82 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 13,82 (br s, 1H); MS m/z 254 (M+H).

Trinn 14. *Tert*-butyl-3-brom-5-klor-2-fluorfenylkarbamat. En blanding av 3-brom-5-klor-2-fluorbenzoesyre (243 g, 97,5 %, 0,935 mol), trietylamin (105 g, 99,5 %, 1,02 mol) og *tert*-butanol (1,4 l) ble varmet opp til 74 °C. En løsning av difenylfosforylazid (260 g, 97 %, 0,916 mol) i toluen (960 ml) ble sakte tilsatt i blandingen ved 75–79 °C i løpet av 1 t (forsiktig tilbakesløp). Blandingen ble sakte varmet opp til 83 °C i løpet av 30 min og opprettholdt ved 83–84 °C (forsiktig tilbakesløp) i 1 t. Innholdet ble konsentrert under vakuum (65–70 °C) til en viskøs olje. Toluen (2 l) og vann (1,5 l) ble sekvensielt tilsatt i partiet, og blandingen ble deretter omrørt ved 35 °C i 15 min. Det vandige laget ble kastet. Det organiske laget ble vasket med mettet natriumbikarbonatløsning (400 ml) og vann (400 ml). Det organiske laget ble konsentrert under vakuum (60–65 °C) til ~350 ml rest (~94 % renhet). 10% etylacetat/heksan (~1,2 l, v/v) ble tilsatt i partiet, og blandingen ble deretter varmet opp ved 50 °C i 15 min for å gi en lysegul, homogen løsning. Etylacetat/heksan-løsning ble overført på en ferdiglagd silikagel (1,8 kg, 70–200 mesh)/heksanseng på en a 4 l Pyrex Büchner-trakt (med grove frittete skiver, 40–60 µm, 16 cm diameter, 18 cm høy). *t*-butylkarbamatprodukt ble eluert (ved tyngdekraft) sakte med 3–5 % etylacetat/heksan (totalvolum ~5 l, v/v) for å samle opp tittelforbindelsen som et off-white faststoff. Sp 87–88 °C; HPLC-renhet (225 nm): 97–98 %; ¹H-NMR (d₆-DMSO): δ 1,48 (s, 9H), 7,48–7,49 (m, 1H), 7,80–7,82 (m, 1H), 9,42 (s, 1H); MS *m/z* 325 (M+H).

Trinn 15. (S)-metyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat. I en 4-halset kolbe utstyrt med en mekanisk omrører, et termometer, og en kondensator under nitrogenspyling ble det fylt 2-klor-4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)-pyrimidin (300,0 g), (S)-metyl-1-aminopropan-2-ylkarbamat-hydrokloridsalt (174,3 g), natriumkarbonat (365,7 g) og DMSO (2400 ml). Blandingens ble varmet opp med omrøring i 18 t ved en indre temperatur på 90 °C. Blandingens ble avkjølt til 40 °C. Toluen (3870 ml) ble tilsatt ved 37–43 °C med omrøring. Vann (7200 ml) ble tilsatt ved 37–43 °C. Toluenslaget ble separert ved 37–43 °C. I toluenslaget ble det tilsatt 15 % vandig natriumklorid-1-løsning (3870 ml) og det vandige lagets pH-verdi ble justert til en pH ~ 5,0 ved tilsetning av 10 % vandig sitronsyreløsning ved 37–43 °C. pH-justeringen krevde -20 ml 10 % vandig sitronsyre. Toluenslaget ble deretter vasket med mettet vandig natriumbikarbonatløsning (2880 ml) ved 37–43 °C.

Toluenlaget inneholdende tittelforbindelsen ble anvendt som inngangsmateriale i trinn 17.

Trinn 16. *Tert*-butyl-5-klor-2-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenylkarbamat. I en kolbe utstyrt med en mekanisk omrører, termometer, kondensator og varmekappe under nitrogenspyling ble det fylt *tert*-butyl-3-brom-5-klor-2-fluorfenylkarbamat (33,0 g), *bis*(pinakolato)dibor (447,0 g), kaliumacetat (405,6 g) og toluen (2700 ml). Blandingen ble omrørt ved rt i 15 min, og PdCl₂(dppf) (50,4 g) ble tilsatt. Blandingen ble deretter varmet opp til 108 ± 2 °C. (Merk: Blandingen ble mørk ved 50–60 °C) En løsning av *tert*-butyl-3-brom-5-klor-2-fluorfenylkarbamat (414 g) i toluen (1770 ml) ble tilsatt ved 108 ± 2 °C i løpet av 70 min. Blandingen ble holdt ved 108 ± 2 °C i 15 t. Blandingen ble avkjølt til rt under nitrogenstrøm og ble deretter filtrert gjennom celitt. Filtratet inneholdende tittelforbindelsen ble anvendt som inngangsmateriale i trinn 17.

Trinn 17. (S)-metyl-1-(4-(3-(5-klor-2-fluor-3-(*tert*-butoksykarbonylamino)fenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat. I en kolbe ble det fylt (S)-metyl-1-(4-(3-jod-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (3870 ml toluenløsning, ~382 g, 0,861 mol) og *tert*-butyl-5-klor-2-fluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenylkarbamat (4470 ml toluenløsning, ~467,0 g, 1,26 mol). I den resulterende brune løsningen ble det tilsatt en løsning av natriumkarbonat (349,8 g, 3,30 mol) i vann (1400 ml). I blandingen ble det tilsatt PdCl₂(dppf) (34,5 g, 0,047 mol). Blandingen ble varmet til 80 °C med omrøring og ble holdt ved denne temperaturen i 2 t. Blandingen ble avkjølt til 40 °C og filtrert gjennom celitt. Lagene i filtratet ble separert. Toluenlaget inneholdende tittelforbindelsen ble anvendt direkte som inngangsmateriale i trinn 18.

Trinn 18. (S)-metyl-1-(4-(3-(3-amino-5-klor-2-fluorfenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat. I en kolbe ble det fylt (S)-metyl-1-(4-(3-(5-klor-2-fluor-3-(*tert*-butoksykarbonylamino)fenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (~7,3 l toluenløsning, ~483,3 g, 0,86 mol) ved 20 °C under nitrogenatmosfære. I løsningen ble det tilsatt 12N HCl (574,3 ml, 6,95 mol) i løpet av ~20 min samtidig som temperaturen ble opprettholdt under 25 °C. HCl-tilsetningen

forårsaket en eksoterm reaksjon fra 19 °C til 24 °C. Blandingen ble omrørt ved 20–23 °C i 1 t. I reaksjonsblandingen ble det tilsatt vann (3100 ml). Blandingen ble omrørt 10 min ved 20 °C. Det vandige laget ble separert og vasket med 2-metyl-THF (3100 ml). I det vandige laget ble det sakte tilsatt mettet vandig kaliumkarbonatløsning (~778 ml). Det vandige lagets pH var ~ 8,5. Det vandige laget ble ekstrahert med 2-metyl-THF

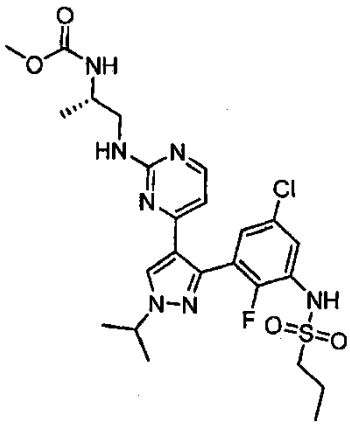
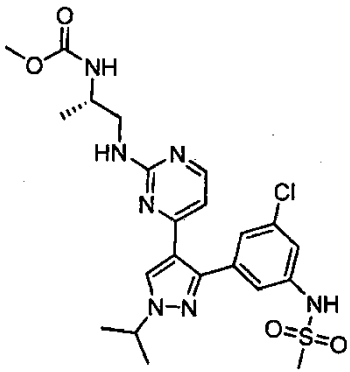
(3825 ml). 2-metyl-THF-laget ble konsentrert under vakuum (60 mmHg, 40 °C). Resten ble fortynnet med 2-metyl-THF (~3800 ml) for å tilveiebringe en løsning av tittelforbindelsen, som ble anvendt direkte som inngangsmateriale i trinn 19. HPLC-renhet: 95 %.

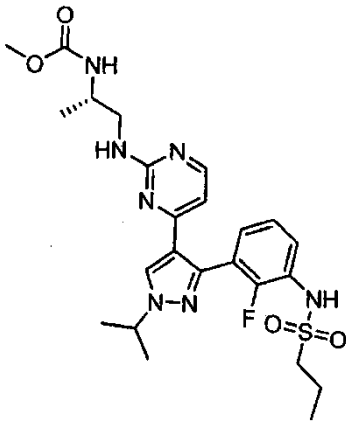
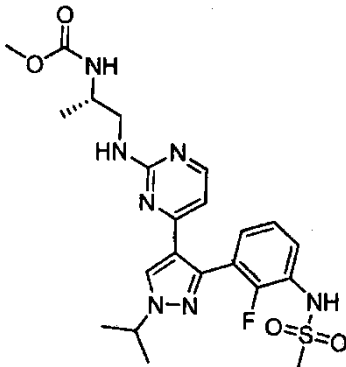
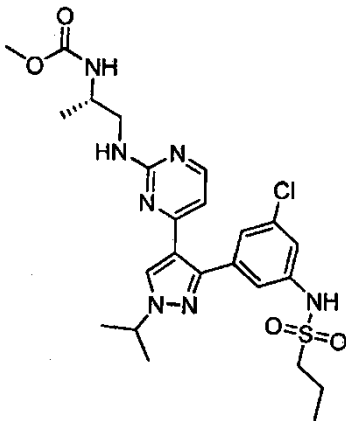
Trinn 19. (S)-metyl-1-(4-(3-(5-klor-2-fluor-3-(N-(metylsulfonyl)metylsulfonamido)fenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat. I en kolbe ble det fylt (S)-metyl-1-(4-(3-(3-amino-5-klor-2-fluorfenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (~3,8 l metyl-THF-løsning, ~396,5 g, 0,86 mol) ved 20 °C. I løsningen ble det tilsatt trietylamin (435,0 g, 4,3 mol). Løsningen ble avkjølt til 0 til -5 °C. I løsningen ble det dråpevis tilsatt metansulfonylklorid (246,0 g, 2,15 mol) med omrøring i løpet av 20 min ved 0 til -5 °C. Blandingen fikk varme seg opp til 18–20 °C og ble holdt ved denne temperaturen i 20 min. I reaksjonsblandingen ble det tilsatt vann (2115 ml) i løpet av 30 min ved 18–20 °C. Blandingen ble omrørt 10 min ved 20 °C etter at tilsetningen var fullført. Deretter ble pH-verdien justert til mellom 6,0 og 6,5 med 2N HCl (~1230 ml). pH-verdien ble deretter justert til 7–7,5 ved hjelp av mettet vandig natriumbikarbonatløsning. Blandingen ble omrørt 10 min @ 20 °C. Lagene ble separert. 2-metyl-THF-laget inneholdende tittelforbindelsen ble anvendt direkte i trinn 20.

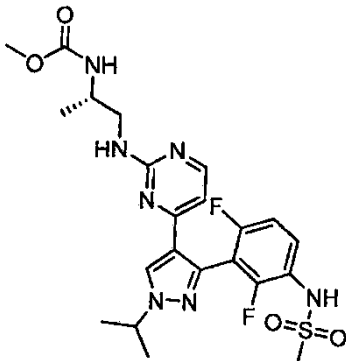
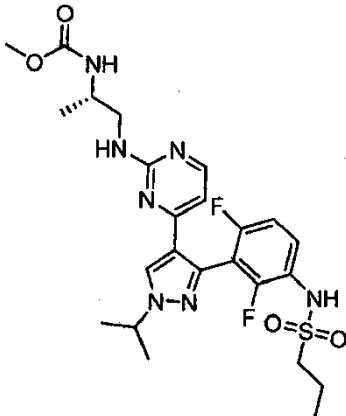
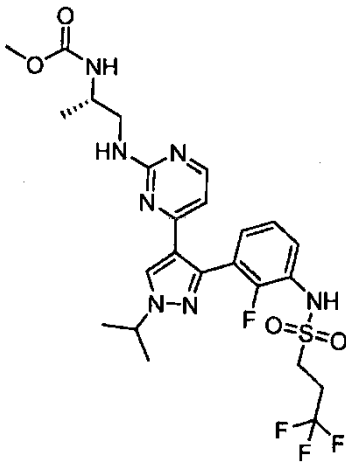
Trinn 20. Metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat. I en kolbe ble det fylt (S)-metyl-1-(4-(3-(5-klor-2-fluor-3-(N-(metylsulfonyl)metylsulfonamido)fenyl)-1-isopropyl-1H-pyrazol-4-yl)pyrimidin-2-ylamino)propan-2-ylkarbamat (~3,8 l metyl-THF-løsning, ~531,5 g, 0,86 mol). I løsningen ble det tilsatt 3N vandig natriumhydroksid (1782,8 ml, 5,34 mol) ved 15–20 °C med omrøring. Blandingen ble kraftig omrørt ved 20–23 °C i 30 min, og omrøringen ble stoppet. Det vandige laget ble kastet. 2N HCl (~ 410 ml) ble

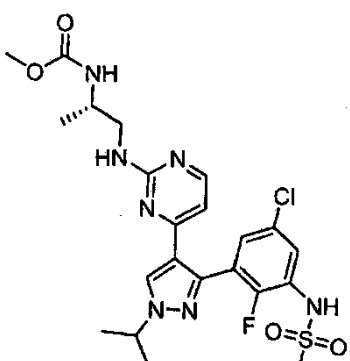
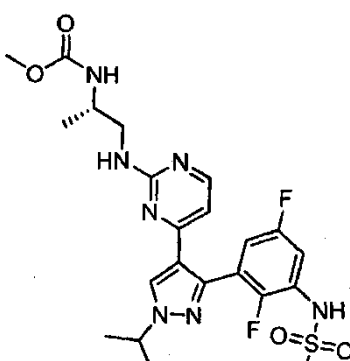
- tilsatt i det organiske laget for å justere pH-verdien til 6,0–6,5, deretter ble mettet vandig natriumbikarbonatløsning (~30 ml) tilsatt for å justere pH-verdien ~ 8,5. Det vandige laget ble kastet. Det organiske laget ble vasket med 15 % vandig natriumkloridløsning (2000 ml). Det organiske laget ble konsentrert under vakuum (80 torr) ved en badtemperatur på 45 °C for å gi en brun løsning (780 g). Løsningen ble fortynnet med 2-metyl-THF (3500 ml), og deretter ble en suspensjon av PICA HP 120N aktivert karbon (90 g, CDH858) i 2-metyl-THF (1 l) tilsatt. Den resulterende sorte suspensjonen ble varmet opp til 60 °C og holdt ved 60 °C i 16 t. Etter å ha stått i 16 t var Pd-innholdet 309 ppm. Blandingen ble avkjølt til 20 °C og filtrert gjennom et celittsjikt (forhåndsfuktet med 2-metyl-THF). Reaksjonskolben ble skylt med 2-metyl-THF (500 ml). Denne skyllingen ble deretter helt gjennom filterkaken av PICA/celitt. I filtratet ble det tilsatt PL-TMT-harpiks (90 g). Den resulterende suspensjonen ble varmet opp med omrøring til 60 °C og holdt ved denne temperaturen i 4 t. Etter 4 t ved 60 °C var Pd-innholdet 2,3 ppm. Blandingen ble avkjølt til 20 °C og omrørt over natten ved 20 °C. Blandingen ble filtrert gjennom et celittsjikt (forhåndsfuktet med 2-metyl-THF). Filtratet ble konsentrert under vakuum (100–80 torr) ved 40–45 °C for å gi en oransje olje. Denne oljeresten ble oppløst i 3 l ren (200 proof) etanol ved oppvarming til 78 °C. Den resulterende klare oransje løsningen ble deretter avkjølt til 20 °C i løpet av 3 t, og en utfelling ble dannet. Blandingen ble deretter avkjølt til 0 °C og holdt 1 t ved 0 °C. Blandingen ble filtrert og filterkaken ble vasket med etanol (300 ml). Faststoffet ble tørket 14 t ved 40 °C for å gi tittelforbindelsen; sp: 186–189 °C.
- Forbindelsene i følgende tabell 1 ble fremstilt på lignende måte som eksemplene ovenfor, ved hjelp av passende startmaterialer:

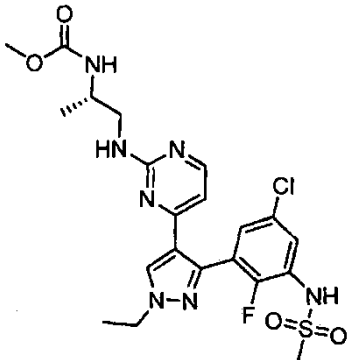
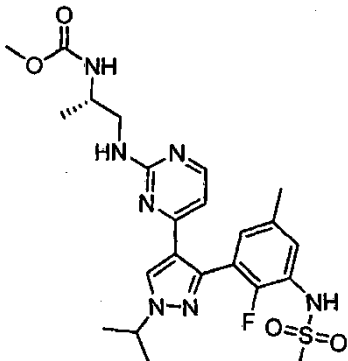
Tabell 1

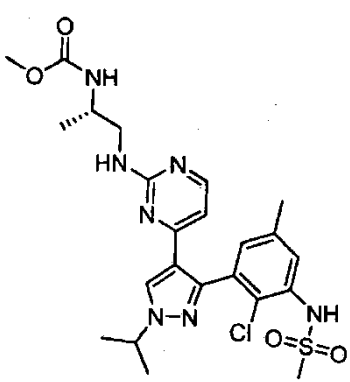
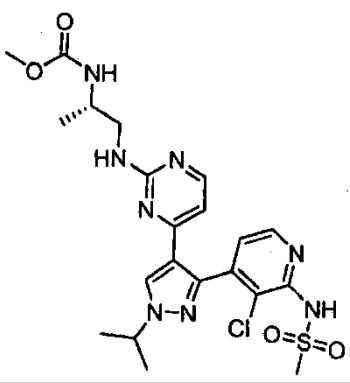
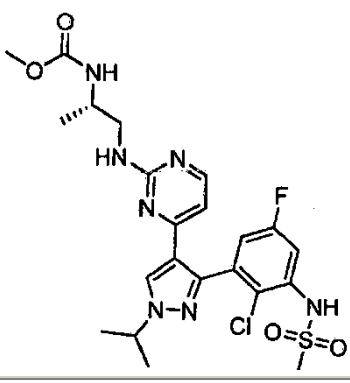
Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μM)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μM)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
1		0.002		¹ H NMR 400 MHz (CD ₃ OD) δ 8.41 (s, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.57 (dd, 1H), 7.34 (dd, 1H), 6.64 (d, 1H), 4.63 (hept, 1H), 3.62-3.68 (m, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.40-3.44 (m, 1H), 3.32-3.36 (m, 1H), 3.05 (q, 2H), 1.88 (q, 2H), 1.58 (d, 6H), 1.02 (d, 3H), 0.97 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 568.2 (M + 1).
2		0.018	0.0008	MS <i>m/z</i> 522.1 (M + 1)

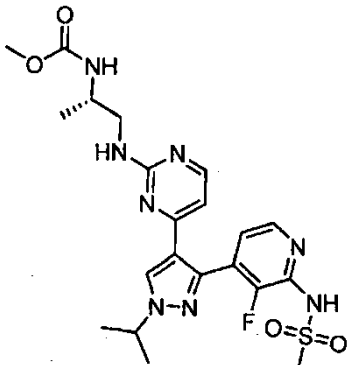
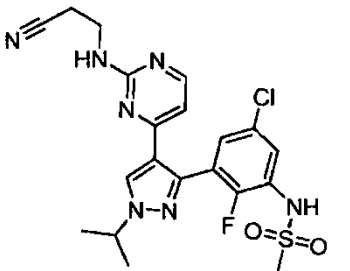
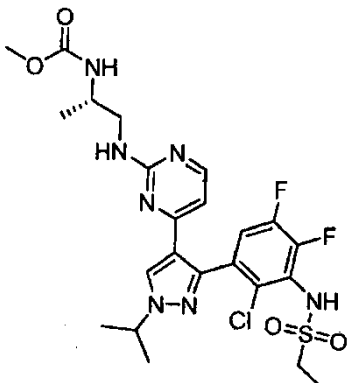
Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μ M)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μ M)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
3		0.002		MS <i>m/z</i> 534.1(M + 1)
4		0.033	0.0023	MS <i>m/z</i> 506.1(M+1)
5		0.001	0.0002	MS <i>m/z</i> 550.1 (M + 1)

Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μ M)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μ M)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
6		0.046	0.0039	MS <i>m/z</i> 524.2 (M + 1)
7		0.008	0.0007	MS <i>m/z</i> 552.2 (M + 1)
8		0.027		MS <i>m/z</i> 588.2 (M + 1)

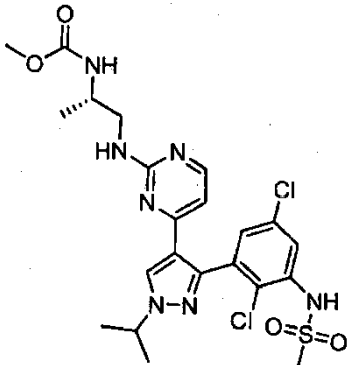
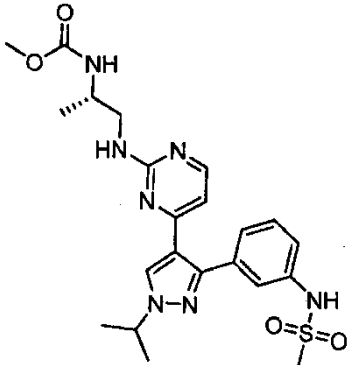
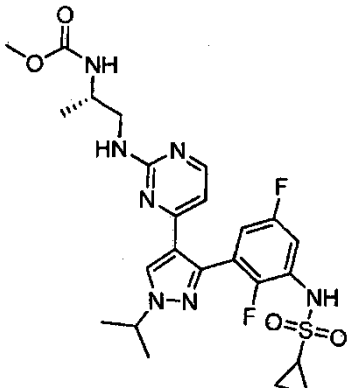
Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μM)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μM)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
9		0.002	0.0003	¹ H NMR 400 MHz (CD ₃ OD) δ 8.41 (s, 1H), 8.08 (d, J= 5.6 Hz, 1H), 7.57 (dd, J= 6.4, 2.6 Hz, 1H), 7.34 (dd, J= 5.6, 2.6 Hz, 1H), 6.65 (brs, 1H), 4.63 (hept, J= 6.8 Hz, 1H), 3.62-3.68 (m, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.40-3.44 (m; 1H), 3.32-3.36 (m, 1H), 3.00 (s, 3H), 1.58 (d, J= 6.8 Hz, 6H), 1.02 (d, J= 4.8 Hz, 3H). MS m/z 540.1 (M + 1)
10		0.003	0.0006	¹ H NMR 400 MHz (CD ₃ OD) δ 8.41 (s, 1H), 8.08 (d, 1H), 7.37 (ddd, 1H), 7.08 (ddd, 1H), 6.62 (brs, 1H), 4.63 (hept, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.54-3.58 (m, 1H), 3.34-3.40 (m, 2H), 3.00 (s, 3H), 1.58 (d, 6H), 1.12 (d, 3H); MS m/z 524.1 (M + 1).

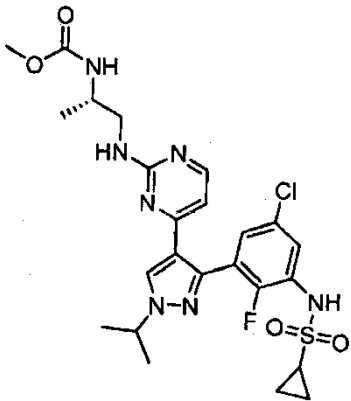
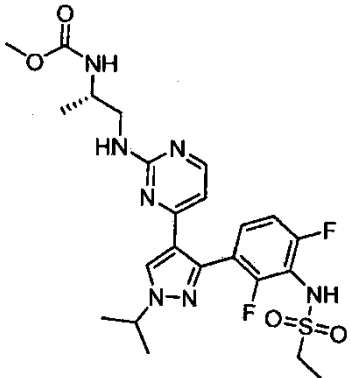
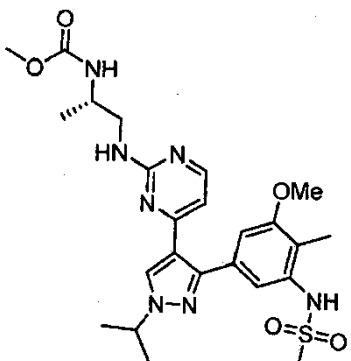
Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μM)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μM)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
11		0.003	0.0005	¹ H NMR 400 MHz (CD ₃ OD) δ 8.34 (s, 1H), 8.09 (d, 1H), 7.57 (dd, 1H), 7.35 (dd, 1H), 6.65 (brs, 1H), 4.28 (q, 2H), 3.68-3.71 (m, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.32-3.36 (m, 2H), 3.00 (s, 3H), 1.54 (t, 3H), 1.02 (d, 3H); MS <i>m/z</i> 526.0 (M + 1).
12		0.004	0.00095	¹ H (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.12 (s, 2H), 7.40 (d, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.10 (m, 1H), 6.40 (s, 1H), 5.35 (s, 1H), 5.25 (d, 1H), 4.60 (m, 1H), 3.90(s, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.30 (s, 1H), 3.00 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 1.60 (d, 6H), 1.10 (d, 3H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 521 (M+H) ⁺ .

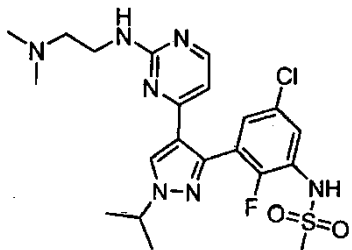
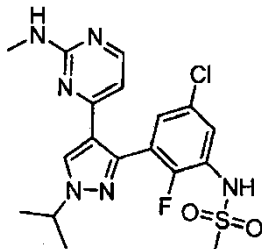
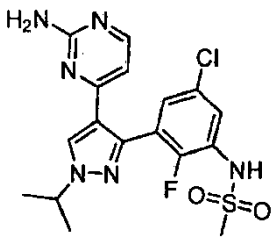
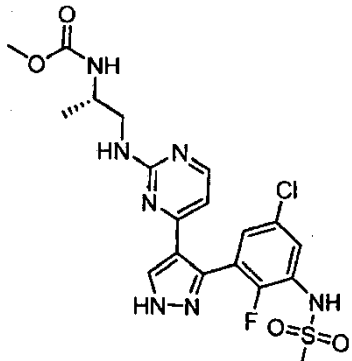
Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μ M)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μ M)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
13		0.006	0.0010	¹ H (400 MHz, CDCl ₃) δ 10.10 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.65 (m, 1H), 3.95 (s, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.45 (s, 1H), 3.30 (s, 1H), 3.05 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 1.65 (d, 6H), 1.20 (d, 3H). MS (ESI) m/z: 537 (M+H) ⁺ .
14		0.079		MS m/z 523.1 (M + 1) ¹
15		0.004	0.0011	MS m/z 540.1 (M + 1)

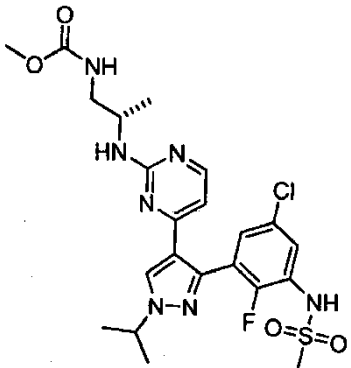
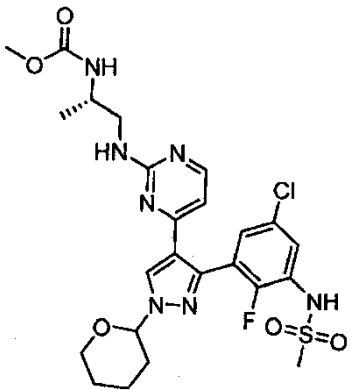
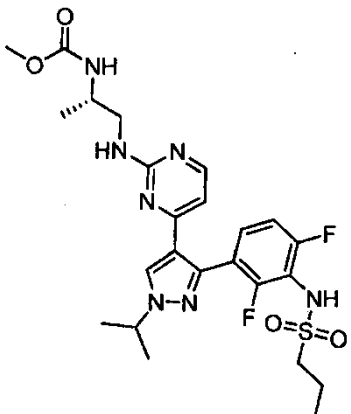
Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μM)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μM)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
16		1.4	0.024	MS <i>m/z</i> 507.2 (M + 1)
17		0.002		MS <i>m/z</i> 478.1 (M + 1)
18		0.012		¹ H NMR 400 MHz (CD ₃ OD) δ 8.45 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 7.41 (dd, 1H), 6.57 (d, 1H), 4.61 (hept, 1H), 3.70-3.74 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.34-3.40 (m, 2H), 3.23 (q, 2H), 1.58 (d, 6H), 1.43 (t, 3H), 1.02 (d, 3H); MS <i>m/z</i> 573.1 (M + 1).

Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μ M)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μ M)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
19		0.093	0.0061	MS <i>m/z</i> 524.1 (M + 1)
20		0.007	0.0008	MS <i>m/z</i> 540.2 (M + 1)
21		0.045		¹ H (400 MHz, CDCl ₃) δ 7.95 (s, 2H), 7.30 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 5.15 (s, 1H), 4.50 (m, 1H), 3.70 (s, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.20 (s, 1H), 3.05 (s, 3H), 1.50 (d, 6H), 1.05 (d, 3H). MS (ESI) <i>m/z</i> : 542 (M+H) ⁺ .

Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μ M)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μ M)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
22		0.006		¹ H (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.50 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 5.0 (s, 1H), 4.62 (m, 1H), 3.90 (s, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.30 (s, 1H), 3.10 (s, 3H), 1.70 (d, 6H), 1.20 (d, 3H). MS (ESI) m/z: 557 (M+H) ⁺ .
23		1.15		MS m/z 488.2 (M + 1)
24		0.023		MS m/z 550.1 (M + 1)

Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μ M)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μ M)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
25		0.002		MS <i>m/z</i> 566.1 (M + 1)
26		0.014	0.0017	MS <i>m/z</i> 538.2 (M + 1)
27		>20	0.39	MS <i>m/z</i> 532.2 (M + 1)

Forb. #	Struktur	A375 CP IC₅₀ (μM)	BRAF V600E biokjemisk IC₅₀ (μM)	Fysiske data ¹H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
28		0.55	0.09	MS <i>m/z</i> 496.1 (<i>M</i> + 1)
29		0.076	0.008	MS <i>m/z</i> 439.0 (<i>M</i> + 1)
30		0.069	0.0043	MS <i>m/z</i> 425.1 (<i>M</i> + 1)
31		0.18	0.0008	MS <i>m/z</i> 497.9 (<i>M</i> + 1)

Forb. #	Struktur	A375 CP IC ₅₀ (μ M)	BRAF V600E biokjemisk IC ₅₀ (μ M)	Fysiske data ¹ H-NMR 400 MHz og/eller MS (m/z)
32		0.031	0.0029	MS <i>m/z</i> 540.1 (M + 1)
33		0.007		MS <i>m/z</i> 582.1 (M + 1)
34		0.013	0.0027	¹ H NMR 400 MHz (CD ₃ OD) δ 8.41 (s, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.47 (ddd, 1H), 7.17 (ddd, 1H), 6.59 (d, 1H), 4.62 (hept, 1H), 3.71-3.74 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.34-3.40 (m, 2H), 3.05 (q, 2H), 1.88 (q, 2H), 1.58 (d, 6H), 1.02 (d, 3H), 0.97 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 552.1 (M + 1).

Eksempel 122**B-Raf V600E/Mek ALPH-assay (Amplified Luminescence Proximity Homogeneous Assay) (B-Raf V600E Biochemical)**

5

B-Raf (V600E; 4pM) og biotinyllert Mek (kinasedød; 10nM) ble kombinert ved 2X endelige konsentrasjoner i assaybuffer (50 mM Tris, pH 7,5, 15 mM MgCl₂, 0,01 % BSA og 1 mM DTT) og fordelt 10 µl per brønn i assayplater (Greiner hvit 384-brønns assayplater #781207) inneholdende 0,5 µl 40X av en forbindelse ifølge oppfinnelsen fortynnet i 100 % DMSO. Platen ble inkubert i 60 minutter ved romtemperatur.

10

B-Raf-kinaseaktivitetsreaksjonen ble startet ved tilsetningen av 10 µl per brønn av 2X ATP (10 µM) fortynnet i assaybuffer. Etter 3 timer ble reaksjonene stanset med tilsetningen av 10 µl stoppreagens (60 mM EDTA, 0,01 % Tween20). Fosforylert produkt ble målt ved hjelp av et kanin-anti-p-MEK-antistoff (Cell Signaling, #9121) og Alpha Screen IgG (ProteinA) deteksjonssett (PerkinElmer #6760617R), ved tilsetning av 30 µl i brønnen av en blanding av antistoff- (1:2000 fortynning) og deteksjonsperlene (1:1000 fortynning av begge perlene) i perlebuffer (50 mM Tris, pH 7,5, 0,01 % Tween20). Tilsetningene ble gjennomført under mørke betingelser for å beskytte deteksjonsperlene fra lys. Et lokk ble satt på toppen av platen, og platen ble inkubert i 1 time ved romtemperatur. Luminescensen ble avlest på et PerkinElmer Envision-instrument. Konsentrasjonen av hver forbindelse for 50 % hemming (IC₅₀) ble beregnet ved ikke-lineær regresjon ved hjelp av XL Fit dataanalyseprogram.

15

20

25

Forbindelser ifølge oppfinnelsen, i fri form eller i farmasøytisk akseptabel saltform, fremviser verdifulle farmakologiske egenskaper, for eksempel som angitt ved *in vitro*-testene beskrevet i denne søknaden. For eksempel viser forbindelser ifølge oppfinnelsen foretrukket en IC₅₀ i området 1×10^{-10} til 1×10^{-5} M, foretrukket mindre enn 500 nM, 250 nM, 100 nM og 50 nM for V600E B-Raf.

30

For eksempel er IC₅₀ data for noen forbindelser ifølge oppfinnelsen i LPH-assayet (Luminescence Proximity Homogeneous Assay) vist i tabellen, *supra*.

35

Eksempel 123**A375-celleproliferasjonsassay (A375 CP)**

- 5 A375 er en melanomcellelinje som bærer B-Raf V600E-mutasjonen. A375-luc-celler som er manipulert til å uttrykke luciferase plates i 384-brønns hvite, klarbunnede plater med 1500 celler / 50 µl / brønn i DMEM inneholdende 10 % FBS. Forbindelser ifølge oppfinnelsen oppløst i 100 % DMSO ved passende konsentrasjoner overføres til cellene ved et robotnåleverktøy (100 nl). Cellene
- 10 inkuberes i 2 dager ved 25 °C, deretter tilsettes 25 µl BrightGlo™ i hver brønn, og platene avleses ved luminescens. Konsentrasjonen av hver forbindelse for 50 % hemming (IC₅₀) ble beregnet ved ikke-lineær regresjon ved hjelp av XL Fit dataanalyseprogram.
- 15 Forbindelser ifølge oppfinnelsen, i fri form eller i farmasøytisk akseptabel saltform, fremviser verdifulle farmakologiske egenskaper, for eksempel som angitt ved *in vitro*-testene beskrevet i denne søknaden. For eksempel viser forbindelser ifølge oppfinnelsen foretrukket en IC₅₀ i området mindre enn 500 nM, 250 nM, 100 nM og 50 nM for villtype og V600E B-Raf.
- 20 For eksempel er IC₅₀ data for noen forbindelser ifølge oppfinnelsen i A375-celleproliferasjonsassayet vist i tabellen, *infra*.

Eksempel 124

25

Immunoassay

- 30 Celler ble sådd i 1640 RPMI + 10 % FBS med en tetthet på 30×10^3 celler per 96-brøn i vevskulturbehandlede plater, deretter inkubert ved 37 °C og 5 % CO₂ i 24 timer før forbindelser ble tilsatt. Testforbindelser ble seriefortynnet i DMSO, deretter tilsatt til cellene (endelig DMSO-konsentrasjon på 0,1%) og inkubert ved 37 °C og 5 % CO₂ i 3 timer. pMEK- og pERK-nivåer ble målt ved hjelp av et sandwich-immunoassay-sett (Meso Scale Discovery). Kulturens supernatanter ble fjernet og cellene ble lysert ved tilsetning av kald lysisbuffer (tilveiebrakt i
- 35 sett) i 30 minutter med forsiktig risting. For deteksjon av pMEK1/2 (Ser217/221)

og pERK1/2 (Thr/Tyr202/204, Thr/Tyr185/187), ble lysater tilsatt i de blokkerte antistoffbelagte platene tilveiebrakt med settene og inkubert over natten ved 4 °C med risting. Platene ble vasket og fosfoproteinene detektert ved hjelp av de tilveiebrakte merkede antistoffene, og avlest på et Sector 6000-instrument.

5 **Eksempel 125**

SW620-celleviabilitetsassay

10 SW620-celler ble sådd i 1640 RPMI + 10 % FBS med en tetthet på 1500 celler per 96-brønn i klarbunnede vevskulturbehandlede plater med sorte vegger. Testforbindelser ble seriefortynnet i DMSO, deretter tilsatt til cellene (endelig DMSO-konsentrasjon på 0,1%) og inkubert ved 37 °C og 5 % CO₂ i 4 dager. For å måle celleviabilitet, ble celleplater brakt til romtemperatur, kulturmedium ble fjernet, og 200 µl Cell Titer-Glo-reagens (Promega, settbestanddeler blandet i
15 henhold til produsentens protokoll, deretter fortynnet 1:2 med vekstmedium) ble tilsatt i hver brønn. Plates ble ristet i 5 minutter, deretter inkubert ved romtemperatur i 5 minutter, og luminescensen ble målt (Trilux, Perkin Elmer).

Eksempel 126

20

Rat1-assay i myk agarose

25 Rat1-celler ble suspendert i 1 % agarose (Lonza) med en tetthet på 1000 celler per 96-brønn. Agarose/celleblandingen fikk størkne. Testforbindelser ble seriefortynnet i DMSO, deretter tilsatt over agarosecelleblanding (endelig DMSO-konsentrasjon på 0,2 %) og inkubert ved 37 °C og 5 % CO₂. Etter 17 dager ble kolonivekst bestemt ved å inkubere celler med alamarBlue (TREK Diagnostics) og måle den metabolske aktiviteten med en Spectramax-plateleser (Molecular Devices, Inc; absorbans målt ved 562 nm).

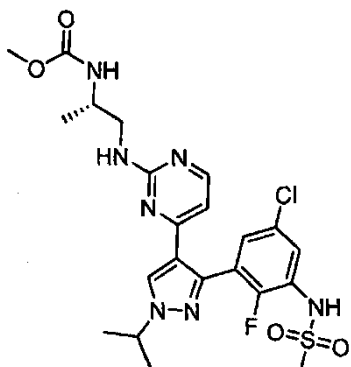
30

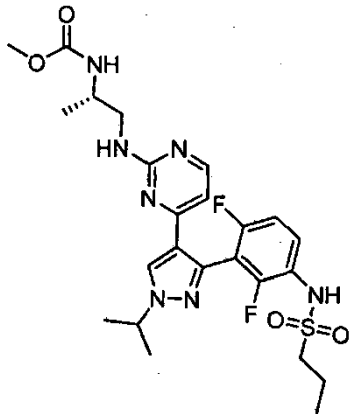
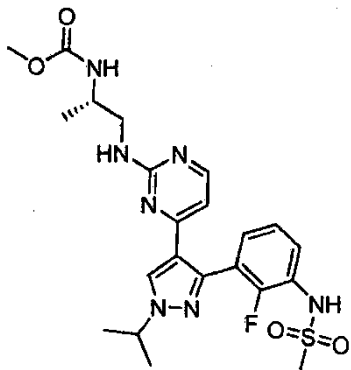
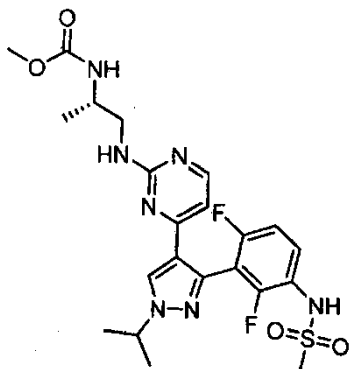
Eksempel 127

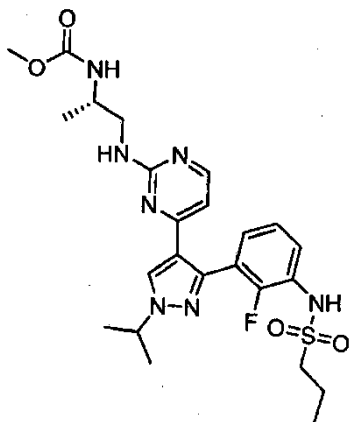
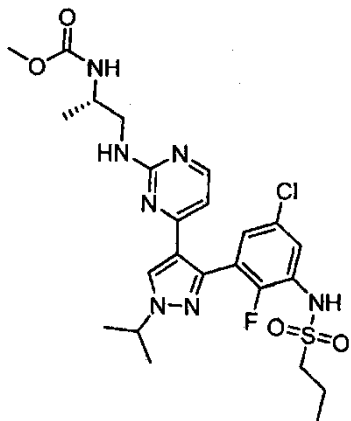
Levermikrosom-clearance-assay

In vitro-assayet for mikrosom-clearance er utformet for å vurdere potensiell risiko forbundet med hepatisk metabolsk stabilitet av forbindelser. Testforbindelsen (1 µM) ble inkubert med levermikrosomer (0,5 mg/ml) fra ulike arter (mus, rotte, ape, hund og menneske) og NADPH (1 mM) i 100 mM kaliumfosfatbuffer ved 37 °C. På spesifikke reaksjonstidspunkter (0, 5, 10 og 30 minutter) ble reaksjonsaliquoter fjernet, og reaksjoner ble avsluttet ved tilsetning av iskald acetonitril inneholdende intern standard for massespektrometri. Prøvene ble sentrifugert, og supernatantene ble analysert ved LC-MS/MS. Metabolsk halveringstid *in vitro* ($t_{1/2}$, min) og CL_{int} (eng.: intrinsic clearance) (CL_{int}, µl/min/mg) er basert på hastigheten og utbredelsen av testforbindelsens metabolisme, som bestemt ved forsvinningen av moderforbindelsen fra reaksjonsblandingen. Disse verdiene kan skaleres til å forutse hepatisk metabolsk clearance-hastighet (CL_h, ml/min/kg) og ekstraksjonsforhold (ER, uttrykt som et forhold mellom forutsett hepatisk metabolsk clearance og hepatisk blodstrøm i den arten). Generelt anses forbindelser med høy forutsett CL_{int} eller ER *in vitro* å ha høy risiko for eksponeringsbegrensende metabolisme *in vivo*.

Målte ekstraksjonsforhold for noen forbindelser ifølge oppfinnelsen er gitt i tabellen nedenfor.

Forb.	Struktur	ER menneske	ER mus
9		<0,21	0,48

Forb.	Struktur	ER menneske	ER mus
7		0,65	0,91
4		<0,31	0,40
6		0,69	

Forb.	Struktur	ER menneske	ER mus
3		0,69	0,85
1		0,66	0,79

Eksempel 128

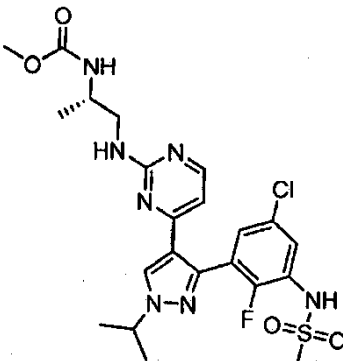
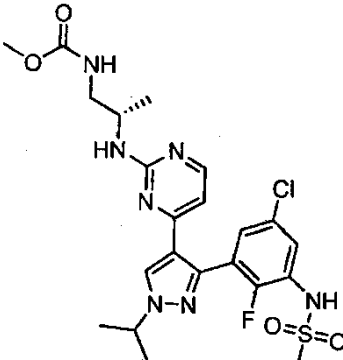
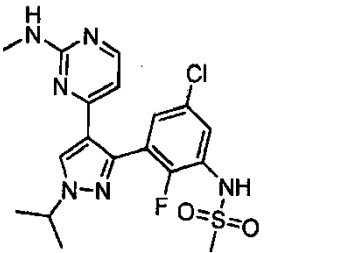
A549 p38 α MAP-kinase Bright-Glo-reportergen-assay

5

A549-celler ble stabilt transfektert med den IL-8-promoterdrivne reporteren pGL3-IL8-Luc. Cellene ble platet ved 4×10^5 /ml i 384-brønns faste hvite plater (40 μ l/brønn, 5 % CD-FBS, 1xP/S, DMEM) og ble inkubert over natten (18–20 timer) ved 37 °C. Testforbindelser ble seriefortynnet i DMSO, deretter ble

50 nl testløsning tilsatt i inkuberingen (endelig DMSO-konsentrasjon på 0,1 %). Etter inkubering med testforbindelse i 30 min ble cellene stimulert med 1ng/ml IL-1 beta (10 μ l 5 ng/ml-løsning per brønn). Bright-Glo (25 μ l/brønn) ble tilsatt for å måle luciferase-ekspresjon etter 7–8 timers stimulering. IC₅₀-data for noen forbindelser ifølge oppfinnelsen er gitt i tabellen nedenfor.

10

Forb.	Struktur	A549 RGA (μM)	p38 IC ₅₀	A375 CP IC ₅₀ (μM)	(p38 RGA)/(A375)- forhold
9		2,2		0,002	1100
32		0,69		0,031	91
29		17		0,076	220

Eksempel 129

Farmakokinetisk in vivo-assay

5

Fullstendig farmakokinetikkstudie: Balb/c-hannmus (n = 3, kroppsvekt 22–25 g) eller Wistar-hannrotter (n = 3, kroppsvekt 250–300 g) fikk administrert testforbindelse intravenøst via den laterale halevenen eller oralt via tvangsfôring.

Formuleringen var typisk en 2,5 mg/ml løsning av forbindelsen i 75 % PEG300 og 25 % D5W. Seks blodprøver på 50 µl hver ble tatt i serie 24 t etter dosering. Blodprøvene ble sentrifugert for å separere plasma. Plasmaprøver ble analysert og kvantifisert ved LC-MS/MS.

5

Avkortet farmakokinetikkstudie: Balb/c-hannmus (n = 3, kroppsvekt 22–25 g) eller Wistar-hannrotter (n = 3, kroppsvekt 250–300 g) fikk administrert testforbindelse intravenøst (IV) via den laterale halevenen eller oralt (PO) via tvangsfôring. Formuleringen var typisk en 2,5 mg/ml løsning av forbindelsen i 75 % PEG300 og 25 % D5W. Seks blodprøver på 50 µl hver ble tatt i serie 24 t etter dosering. Blodprøver ble sentrifugert og plasma separert og konsentrert på tvers av de tre dyrene på hvert tidspunkt per doseringsmåte. Plasmaprøver ble analysert og kvantifisert ved LC-MS/MS.

10

15

For både fullstendige og korte farmakokinetikkstudier ble følgende parametere beregnet ved regresjonsanalyse uten separasjon ved hjelp av programmet Winnonlin 5.0.

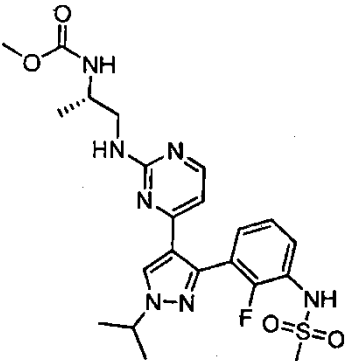
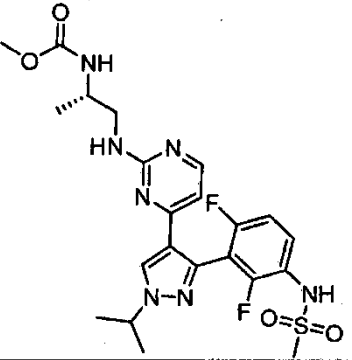
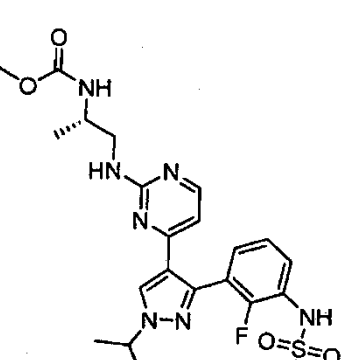
20

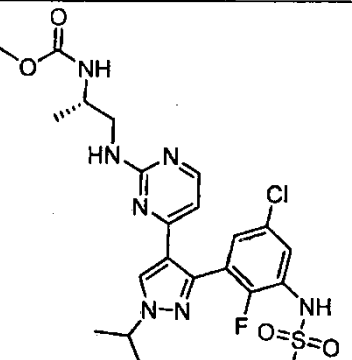
(Pharsight, Mountain View, CA, USA): plasma-clearance (Cl), maksimal konsentrasjon i plasma (C_{max}), areal under kurven for plasmakonsentrasjon mot tid (area-under-the-concentration-time-curve, AUC_{0-inf}), og oral biotilgjengelighet i prosent (F%).

25

Farmakokinetiske parametere hos mus er gitt for noen forbindelser i tabellen nedenfor.

Forbindelse #	Struktur	Dose (mg/kg), PO/IV	Cl (mL/min/kg)	PO AUC (time* μ M)	PO Cmax (μ M)	F(%)
9		10/2	4.3 ± 0.4	30 ± 4	27 ± 4	43 ± 6
7		10/2	99 ± 13	0.24 ± 0.21	0.15 ± 0.07	8 ± 7
4		10/2	41 ± 9	3.0 ± 0.5	2.0 ± 0.5	36 ± 6

						
6		10/2	61 ±6	1.1 ±0.2	0.60 ±0.02	15 ±3
3		5/2	51 (n=1)	0.20 (n=1)	0.07 (n=1)	6 (n=1)

1		5/2	7.0 (n=1)	9.7 (n=1)	7.4 (n=1)	46 (n=1)
---	---	-----	--------------	--------------	--------------	-------------

Forbindelser med formel I i fri form eller i farmasøytisk akseptabel saltform, fremviser verdifulle farmakologiske egenskaper, for eksempel som angitt ved *in vitro*- og *in vivo*-testene beskrevet i denne søknaden. For eksempel viser forbindelser med formel I foretrukket en IC_{50} i A375 CP-celleproliferasjonsassayet i området 250 nM eller bedre, foretrukket mindre enn 200 nM, 150 nM, 100 nM og 50 nM.

2-(metoksykarbonylamino)-1-propyl-gruppen ved R_1 tilveiebringer et foretrukket nivå av aktivitet og selektivitet fremfor andre kinaser, inkludert p38. For eksempel finnes det en mer en 30 gangers økning i aktivitet mellom forbindelse 9 og 29 hvor A375 IC_{50} for er henholdsvis 2 nM og 76 nM.

Fenylsubstitusjonsmønsteret av forbindelser med formel Ib er optimal for metabolsk stabilitet (ER i hus og menneske) med fluor eller klor ved R_5 -posisjonen og fluor, klor eller metyl R_3 -posisjonen. Sammenlign for eksempel ER (human) i forbindelse 9 og 6 på henholdsvis <0,21 og 0,69.

Kombinasjonen av 2-(metoksykarbonylamino)-1-propylgruppen ved R_1 , R_3/R_5 -substitusjonsmønsteret og metylgruppen ved R_4 har en overraskende effekt på den totale legemiddeleksponeringen (AUC). Se for eksempel, forbindelse 9 (sammenlignet med forbindelsene 1, 3, 4, 6 og 7) hvor AUC, ved en oral dose på 10 mg/kg, er 30 ± 4 nukromolar*timer.

Eksempel 130

In vivo-effekt – 14 dagers A375-xenotransplantert musemodell

A375-celler ble dyrket i sterile betingelser i en 37 ° C inkubator med 5 % CO_2 i to til fire uker. Cellene ble dyrket i RPMI-1640-medium supplert med 10 % FBS. Celler ble passert to ganger i uken med 0,05 % trypsin/EDTA. På implantasjonsdagen ble celler høstet i HBSS (Hank's Balanced Salt Solution). Nu/Nu-hunnmus (Charles River, 10–11 uker ved studiens start) ble implantert med 5×10^6 A375-celler/mus i 50 % matrigel, 0,2 ml SQ høyre flanke på dag 1. Ved 19 dager etter implantasjon ble mus randomisert 6 grupper (9 mus per gruppe), med et gjennomsnittlig tumorvolum på 215 mm^3 og gjennomsnittlig

kroppsvekt på 24 g. Testforbindelse ble dosert b.i.d. i 14 dager med oppstart på dag 19 ved hjelp av et dosevolum på 0,2 ml per dose, med forbindelse formulert i passende konsentrasjon til å nå det ønskede dosenivået. Kliniske observasjoner ble gjort daglig. Tumorvolum og kroppsvekt ble målt to ganger i uken.

5 Endepunkt: Hvilket som helst individuelt dyr eller hvilken som helst gruppe som fremviste tap av kroppsvekt som oversteg 25 % av opprinnelig og/eller tumorvolum i overskudd på 3000 mm³.

10 Forbindelse 9 (formulert i 20 % PEG300 / 3 % ETPGS / 77 % vann) ble dosert ifølge protokollen ovenfor ved hjelp av følgende doseregime.

Gruppe 1: Vehikkel, q.d. x 14

Gruppe 2: 1 mg/kg forb. 9, b.i.d. x 14

Gruppe 3: 3 mg/kg forb. 9, b.i.d. x 14

Gruppe 4: 10 mg/kg forb. 9, b.i.d. x 14

15 Gruppe 5: 20 mg/kg forb. 9, b.i.d. x 14

Tumorvolumresultater ble vurdert ved 14 dager etter første dose. Partiell respons er definert som en tumorvekst på 20–50 % av kontrolltumorvekst. Stabil sykdom er definert som et endelig tumorvolum innenfor +/-20 % av opprinnelig tumorstørrelse. Partiell regresjon er definert som et endelig tumorvolum < 80 % av opprinnelig tumorvolum.

20

Gruppe 2: partiell respons

Gruppe 3: stabil sykdom

Gruppe 4: partiell regresjon

25 Gruppe 5: partiell regresjon

Det skal forstås at eksemplene og utførelsesformene beskrevet heri kun er til illustrasjonsformål.

Patentkrav**1.** Forbindelse valgt fra:

metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-klor-5-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

5 metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[3-klor-5-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-klor-2-metansulfonamidopyridin-4-yl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

10 metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-fluor-2-metansulfonamidopyridin-4-yl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-klor-3-etansulfonamido-4,5-difluorfenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2,4-difluor-5-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

15 metyl-N-[(2S)-1-({4-[1-(propan-2-yl)-3-(2,4,5-trifluor-3-metansulfonamidofenyl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl} amino)propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

20 metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[2,4-difluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(3-syklopropansulfonamido-2,5-difluorfenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

25 metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-3-syklopropansulfonamido-2-fluorfenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[5-klor-2-fluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[2,6-difluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat;

30 metyl-N-[(2S)-1-{[4-(3-{2-fluor-3-[(3,3,3-trifluorpropan)sulfonamido]fenyl}-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino}propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2S)-1-[(4-{3-[2-fluor-3-(propan-1-sulfonamido)fenyl]-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl]karbamat; og

metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

5 metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2,5-difluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

10 metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-etyl-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-fluor-3-metansulfonamido-5-metylphenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

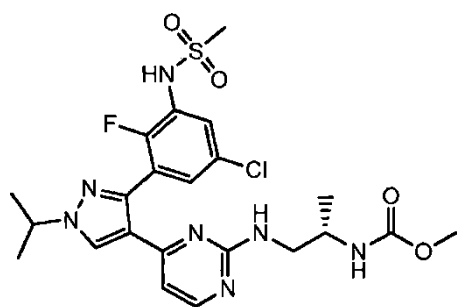
metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-klor-3-metansulfonamido-5-metylphenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

15 metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2-klor-5-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat;

metyl-N-[(2R)-1-({4-[3-(5-klor-2-fluor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat; og

20 metyl-N-[(2S)-1-({4-[3-(2,5-diklor-3-metansulfonamidofenyl)-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-4-yl]pyrimidin-2-yl}amino)propan-2-yl]karbamat.

2. Forbindelsen ifølge krav 1, hvori forbindelsen er:



3. Forbindelse valgt fra:

25 N-(3-brom-2,4-difluorfenyl)propan-1-sulfonamid;

N-(2,4-difluor-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)fenyl)propan-1-sulfonamid; eller

N-[5-klor-3-(4-{2-[(2-cyanoethyl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl)-2-fluorfenyl]metansulfonamid

5 **4.** Farmasøytisk sammensetning omfattende en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-2, iblandet minst ett farmasøytisk akseptabelt hjelpestoff.

10 **5.** Den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 4, hvori hjelpestoffet er valgt fra gruppen bestående av maisstivelse, potetstivelse, tapiokastivelse, stivelsespasta, pregelatinisert stivelse, sukker, gelatin, naturgummier, syntetiske
15 gummier, natriumalginat, algininsyre, tragakant, guar gummi, cellulose, etylcellulose, celluloseacetat, karboksymetylcellulosekalsium, natriumkarboksymetylcellulose, metylcellulose, hydroksypropylmetylcellulose, mikrokrySTALLinsk cellulose, magnesiumaluminumsilikat, polyvinylpyrrolidon, talkum, kalsiumkarbonat, pulvercellulose, dekstrater, kaolin, mannitol, kiseltsyre,
20 sorbitol, agar-agar, natriumkarbonat, kroskarmellosenatrium, krospovidon, polakrilinkalium, natriumstivelseglykolat, leirer, natriumstearat, kalsiumstearat, magnesiumstearat, stearinsyre, mineralolje, lett mineralolje, glyserin, sorbitol, mannitol, polyetylglykol, andre glykoler, natriumlaurylsulfat, hydrogenert vegetabilsk olje, peanøttolje, bomullsfrøolje, solsikkeolje, sesamolje, olivenolje,
25 maisolje, soyaolje, sinkstearat, natriumoleat, etyloleat, etyllaureat, silika og kombinasjoner derav.

25 **6.** Den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 4, videre omfattende et ytterligere terapeutisk middel.

30 **7.** Den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 6, hvori det ytterligere terapeutiske middelet er valgt fra en anticancerforbindelse, et analgetikum, et antiemetikum, et antidepressivum og et antiinflammatorisk middel.

30 **8.** Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-2 eller farmasøytisk sammensetning ifølge et hvilket som helst av kravene 5-8 for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling av cancer.

35 **9.** Anvendelse av en forbindelse ifølge hvilke som helst av kravene 1-2 i fremstillingen av et legemiddel for behandling av cancer.

10. Forbindelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling ifølge krav 8 eller anvendelse ifølge krav 9, hvori canceren som skal behandles, er valgt fra gruppen bestående av lungekarsinom, pankreaskarsinom, blærekar-sinom, kolonkarsinom, myelogene lidelser, prostatacancer, cancer i skjoldbruskkjertelen, melanom, adenomer og karsinomer i eggstokkene, øyet, leveren, galleveiene og nervesystemet.

11. Forbindelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling ifølge krav 8 eller anvendelsen ifølge krav 9, videre omfattende administrering til individet av et ytterligere terapeutisk middel, eventuelt hvori det ytterligere terapeutiske middelet er en annen Raf-kinasehemmer eller en hemmer av MEK, mTOR, HSP90, AKT, PI3K, CDK9, PAK, proteinkinase C, en MAP-kinase, en MAPK-kinase eller ERK, og det ytterligere terapeutiske middelet administreres til individet samtidig med forbindelsen.

12. Forbindelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling ifølge krav 11 eller anvendelsen ifølge krav 11, hvori:

(a) det ytterligere terapeutiske middelet omfatter et anticancerlegemiddel, et smertestillende middel, et antiemetikum, et antidepressivum eller et antiinflammatorisk middel; eller

(b) det ytterligere terapeutiske middelet er en annen Raf-kinasehemmer eller en hemmer av MEK, mTOR, HSP90, AKT, PI3K, CDK9, PAK, proteinkinase C, en MAP-kinase, en MAPK-kinase eller ERK.

13. Forbindelsen for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling ifølge et hvilket som helst av kravene 8–12 eller anvendelsen ifølge et hvilket som helst av kravene 8–12, hvori forbindelsen er til behandling av en tilstand mediert ved Raf-kinase, eventuelt hvori Raf-kinasen er en mutant b-Raf-kinase så som b-Raf(V600E).

Figur 1

