



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 359 467**

51 Int. Cl.:
C07D 475/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07862967 .2**

96 Fecha de presentación : **14.12.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2102210**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.09.2009**

54 Título: **Compuestos útiles como inhibidores de proteína quinasas.**

30 Prioridad: **14.12.2006 US 874878 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.05.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.05.2011

73 Titular/es:
VERTEX PHARMCEUTICALS INCORPORATED
130 Waverly Street
Cambridge, Massachusetts 02139-4242, US

72 Inventor/es: **Charrier, Jean Damien;**
Kay, David y
Knegtel, Ronald

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 359 467 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos útiles como inhibidores de proteína quinasas

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos útiles como inhibidores de proteína quinasas. La invención también proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden los compuestos de la invención y procedimientos para usar las composiciones en el tratamiento de diversos trastornos. La invención también proporciona procedimientos para preparar los compuestos de la invención.

Antecedentes de la invención

10 En los últimos años se ha ayudado a la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos en gran medida por una mejor comprensión de la estructura de las enzimas y otras biomoléculas asociadas con enfermedades. Una clase importante de enzimas que ha sido el objeto de un estudio profundo es la proteína quinasas.

15 La proteína quinasas constituyen una gran familia de enzimas relacionadas estructuralmente que son responsables del control de una diversidad de procedimientos de transducción de señales dentro de la célula (véase Hardie, G y Hanks, S. The Protein Kinase Facts Book, I y II, Academic Press, San Diego, CA: 1995). Se cree que la proteína quinasas ha evolucionado desde un gen ancestral común debido a la conservación de su estructura y función catalítica. Casi todas las quinasas contienen un dominio catalítico similar de 250-300 aminoácidos. Las quinasas pueden clasificarse en familias por los sustratos que fosforilan (por ejemplo, proteína-tirosina, proteína-serina/treonina, lípidos, etc.). Se han identificado motivos de secuencia que corresponden, en general, a cada una de estas familias de quinasas (véase, por ejemplo, Hanks, S.K., Hunter, T., FASEB J. 1995, 9, 576-596; Knighton y col., Science 1991, 253, 407-414; Hiles y col, Cell 1992, 70, 419-429; Kunz y col, Cell 1993, 73, 585-596; Garcia-Bustos y col, EMBO J 1994, 13, 2352-2361).

20 En general, la proteína quinasas media la señalización intracelular realizando una transferencia de fosforilo desde un nucleósido trifosfato a un aceptor de proteínas que está implicado en una ruta de señalización. Estos acontecimientos de fosforilación actúan como interruptores moleculares de activación/desactivación que pueden modular o regular la función biológica de la proteína diana. Estos acontecimientos de fosforilación finalmente se inducen en respuesta a una diversidad de estímulos extracelulares y otros estímulos. Los ejemplos de dichos estímulos incluyen señales de estrés ambientales y químicas (por ejemplo, choque, choque térmico, radiación ultravioleta, endotoxinas bacterianas y H₂O₂), citocinas (por ejemplo, interleucina-1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) y factores de crecimiento (por ejemplo, factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)). Un estímulo extracelular puede afectar a una o más respuestas celulares relacionadas con el crecimiento celular, migración, diferenciación, secreción de hormonas, activación de factores de transcripción, contracción muscular, metabolismo de glucosa, control de la síntesis de proteínas, supervivencia y regulación del ciclo celular.

25 Muchas enfermedades están asociadas con respuestas celulares anómalas inducidas por acontecimientos mediados por proteína quinasas como se ha descrito anteriormente. Esas enfermedades incluyen, pero sin limitación, cáncer, enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades óseas, enfermedades metabólicas, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, enfermedades cardiovasculares, alergias y asma, enfermedad de Alzheimer y enfermedades relacionadas con hormonas. Por consiguiente, ha habido un esfuerzo sustancial en la química médica para encontrar inhibidores de proteína quinasas que sean eficaces como agentes terapéuticos.

30 Las quinasas tipo Polo (PLK) pertenecen a una familia de serina/treonina quinasas que están muy conservadas entre las especies, que varían desde levaduras al ser humano (revisado en Lowery DM y col., Oncogene 2005, 24; 248-259). Las quinasas PLK tienen múltiples papeles en el ciclo celular, incluyendo control de la entrada y la progresión a través de la mitosis.

35 La PLK1 es la mejor caracterizada de los miembros de la familia PLK. PLK1 se expresa ampliamente y es la más abundante en tejidos con un alto índice mitótico. Los niveles de proteína PLK-1 se elevan y alcanzan un valor máximo en la mitosis (Hamanaka, R y col., J Biol Chem 1995, 270, 21086-21091). Todos los sustratos presentados de PLK1 son moléculas que se sabe que regulan la entrada y la progresión a través de la mitosis, e incluyen CDC25C, ciclina B, p53, APC, BRCA2 y el proteosoma. PLK1 está regulada positivamente en múltiples tipos de cáncer y los niveles de expresión se correlacionan con la gravedad de la enfermedad (Macmillan, JC y col., Ann Surg Oncol 2001, 8, 729-740). PLK1 es un oncogén y puede transformar células NIH-3T3 (Smith, MR y col., Biochem Biophys Res Commun 1997, 234, 397-405). La reducción o inhibición de PLK1 por ARNip, antisentido, microinyección de anticuerpos o transfección de una construcción dominante negativa de PLK1 en las células, reduce la proliferación y viabilidad de las células tumorales *in vitro* (Guan, R y col., Cancer Res 2005, 65, 2698-2704; Liu, X y col., Proc Natl Acad Sci U S A 2003, 100, 5789-5794, Fan, Y y col., World J Gastroenterol 2005, 11, 4596-4599; Lane, HA y col., J Cell Biol 1996, 135, 1701-1713). Las células tumorales en las que se ha reducido el nivel de

PLK1 tienen activados puntos de control del huso mitótico y defectos en la formación del huso mitótico, en el alineamiento de cromosomas y en la separación y citocinesis. Se ha notificado que la pérdida de viabilidad es el resultado de una inducción de apoptosis. Por el contrario, se ha notificado que las células normales mantienen la viabilidad tras la reducción de PLK1. La reducción de la expresión (knock down) *in vivo* de PLK1 por ARNip o el uso de construcciones dominantes negativas conduce a una inhibición del crecimiento o regresión de tumores en modelos de xenoinjerto.

PLK2 se expresa principalmente durante la fase G1 del ciclo celular y se localiza en el centrosoma en células en interfase. Los ratones knockout para PLK2 se desarrollan normalmente, son fértiles y tienen tasas de supervivencia normales, pero son aproximadamente un 20% más pequeños que los ratones de tipo silvestre. Las células de animales knockout progresan a través del ciclo celular más lentamente que en ratones normales (Ma, S y col., Mol Cell Biol 2003, 23, 6936-6943). La reducción de PLK2 por ARNip o introducción por transfección de mutantes con quinasa inactiva en las células bloquea la duplicación del centriolo. La regulación negativa de PLK2 también sensibiliza a las células tumorales al taxol y promueve la catástrofe mitótica, en parte por supresión de la respuesta de p53 (Burns TF y col., Mol Cell Biol 2003, 23, 5556-5571).

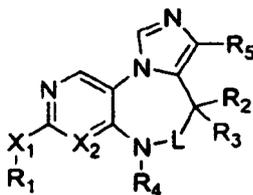
PLK3 se expresa a largo de todo el ciclo celular y aumenta desde la fase G1 a la mitosis. La expresión está regulada positivamente en tumores de ovario de alta proliferación y cáncer de mama y está asociada con un mal pronóstico (Weichert, W y col., Br J Cancer 2004, 90, 815-821; Weichert, W y col., Virchows Arch 2005, 446, 442-450). Además de la regulación de la mitosis, se cree que PLK3 está implicada en la fragmentación del aparato de Golgi durante el ciclo celular y en la respuesta a las lesiones del ADN. Se ha notificado que la inhibición de PLK3 por expresión dominante negativa promueve la apoptosis independiente de p53 después de las lesiones del ADN y reprime la formación de colonias por las células tumorales (Li, Z y col., J Biol Chem 2005, 280, 16843-16850).

PLK4 es estructuralmente más distinta de los otros miembros de la familia PLK. La reducción de esta quinasa produce apoptosis en células cancerosas (Li, J y col., Neoplasia 2005, 7, 312-323). Los ratones knockout para PLK4 se detienen en E7.5 con una alta fracción de células en mitosis y cromosomas segregados parcialmente (Hudson, JW y col., Current Biology 2001, 11, 491-946).

Se han implicado moléculas de la familia de proteína quinasa en el crecimiento, proliferación y supervivencia de células tumorales. Por consiguiente, existe una gran necesidad de desarrollar compuestos útiles como inhibidores de proteína quinasa. Las pruebas que implican a las quinasa PLK como esenciales para la división celular son firmes. El bloqueo del ciclo celular es un enfoque validado clínicamente para inhibir la proliferación y viabilidad de las células tumorales. Por lo tanto, sería deseable desarrollar compuestos que fueran útiles como inhibidores de la familia de proteína quinasa PLK (por ejemplo, PLK1, PLK2, PLK3 y PLK4), que inhibieran la proliferación y redujeran la viabilidad de las células tumorales, particularmente porque hay una fuerte necesidad médica de desarrollar nuevos tratamientos para el cáncer.

Sumario de la Invención

En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I a continuación o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.



I

En la fórmula I,

X^1 es un enlace, O, NR^8 , S, SO o SO_2 ;

X^2 es N o CH;

R^1 es H, alifático C_{1-10} , cicloalifático C_{3-10} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros; en el que R^1 está opcionalmente sustituido con 0-5 J^1 ;

cada R^2 y R^3 es independientemente H, alifático C_{1-10} o cicloalifático C_{3-10} ; donde cada R^2 y R^3 está sustituido opcional e independientemente con 0-5 J^2 y J^3 respectivamente; y R^2 y R^3 , junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S; dicho anillo monocíclico formado por R^2 y R^3 está opcionalmente sustituido con 0-4 J^{23} .

5	R ⁴ R ² y R ⁴ ,	es H, C(O)R, C(O)OR o C(O)NRR', alifático C ₁₋₁₀ , cicloalifático C ₃₋₁₀ , arilo C ₆₋₁₀ , heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, -(alifático C ₁₋₆)-(cicloalifático C ₃₋₁₀), -(alifático C ₁₋₆)-(aril C ₆₋₁₀) o -(alifático C ₁₋₆)-(heteroarilo de 5 a 10 miembros); y R ⁴ está opcionalmente sustituido con 0-5 J ⁴ ; o junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S; un anillo monocíclico formado por R ² y R ⁴ está opcionalmente sustituido con 0-4 J ²⁴ ;
10	R ⁵ L cada	es H, CO ₂ R, CH ₂ OR, CONR ₂ , CN, F o CF ₃ ; es un enlace o -C(R ⁶)(R ⁷)-; R ⁶ y R ⁷ es independientemente H, alifático C ₁₋₁₀ o cicloalifático C ₃₋₁₀ ; en el que cada R ⁶ y R ⁷ está opcional e independientemente sustituido con 0-5 J ⁶ y J ⁷ respectivamente; o
15	R ⁶	y R ⁷ , junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S; dicho anillo monocíclico formado por R ⁶ y R ⁷ está opcionalmente sustituido con 0-4 J ⁶⁷ ; o
20	R ²	y R ⁶ , junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo monocíclico de 3 a 8 miembros saturado o parcialmente insaturado que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S; dicho anillo monocíclico formado por R ² y R ⁶ está opcionalmente sustituido con 0-4 J ²⁶ ; o
25	R ⁴ y R ⁶ ,	junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S; dicho anillo monocíclico formado por R ⁴ y R ⁶ está opcionalmente sustituido con 0-4 J ⁴⁶ ;
30	R ⁸ cada	es H, alifático C ₁₋₆ , cicloalifático C ₃₋₈ , C(O)R, C(O)OR o C(O)NRR'; o J ¹ es independientemente haloalquilo C ₁₋₆ , halo, NO ₂ , CN, Q o -Z- Q; o dos J ¹ tomados juntos pueden formar opcionalmente =O;
35	Z	es alifático C ₁₋₆ opcionalmente reemplazado con 0-3 apariciones de -NR-, -O-, -S-, -C(O)-, -C(=NR)-, -C(=NOR)-, -SO- o -SO ₂ -; cada Z está opcionalmente sustituido con 0-2 J ² ;
40	Q	es H; alifático C ₁₋₆ ; un anillo monocíclico aromático o no aromático de 3 a 8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente entre O, N y S; o un sistema de anillos bicíclicos aromático o no aromático de 8-12 miembros que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente entre O, N y S; cada Q está opcionalmente sustituido con 0-5 J ^Q ;
45	cada	J ² , J ³ , J ⁶ y J ⁷ es independientemente alifático C ₁₋₆ , cicloalifático C ₃₋₆ o -(alquil C ₁₋₄) _n -V ¹ ; en el que n es 0 ó 1; V ¹ es halo (alifático C ₁₋₄), -O(haloalifático C ₁₋₄), halo, NO ₂ , CN, OH, OR", SH, SR", NH ₂ , NHR", N(R") ₂ , COH, COR", CO ₂ H, CO ₂ R", CONH ₂ , CONHR", CONR" ₂ , OCOR", OCONH ₂ , OCONHR", OCON(R") ₂ , NHCOR", NR"COR", NHCO ₂ R", NR"CO ₂ R", NHCO ₂ H, NR"CO ₂ H, NHCONH ₂ , NHCONHR", NHCON(R") ₂ , SO ₂ NH ₂ , SO ₂ NHR", SO ₂ N(R") ₂ , NHSO ₂ R" o NR"SO ₂ R"; o V ¹ es un grupo cíclico seleccionado entre cicloalifático C ₃₋₆ , fenilo, heteroarilo de 5 a 6 miembros o heterociclilo de 3 a 6 miembros heterociclilo; en el que dicho grupo cíclico está opcionalmente sustituido con 0-3 J ^V ; R" es alifático C ₁₋₄ sin sustituir; o dos J ² , J ³ , J ⁶ y J ⁷ iguales unidos al mismo átomo, pueden formar opcionalmente juntos =O;
50	cada	J ² y J ^V es independientemente halo, alifático C ₁₋₆ , cicloalifático C ₃₋₆ , NO ₂ , CN, -NH ₂ , -NH(alifático C ₁₋₄), -N(alifático C ₁₋₄) ₂ , -OH, -O(alifático C ₁₋₄), -CO ₂ H, -CO ₂ (alifático C ₁₋₄), -O(haloalifático C ₁₋₄) o halo(alifático C ₁₋₄);
55	cada	J ^Q , J ⁴ , J ²³ , J ²⁴ , J ⁶⁷ , J ²⁶ y J ⁴⁶ es independientemente M o -Y-M;
60	cada	Y es independientemente un alifático C ₁₋₆ sin sustituir reemplazado opcionalmente con 0-3 apariciones de -NR-, -O-, -S-, -C(O)-, -SO- o -SO ₂ -;
65	R	M es independientemente H, alifático C ₁₋₆ , cicloalifático C ₃₋₆ , halo(alifático C ₁₋₄), -O(haloalifático C ₁₋₄), heterociclilo de 3 a 6 miembros, halo, NO ₂ , CN, OH, OR', SH, SR', NH ₂ , NHR', N(R') ₂ , COH, COR', CO ₂ H, CO ₂ R', CONH ₂ , CONHR', CONR' ₂ , OCOR', OCONH ₂ , OCONHR', OCON(R') ₂ , NHCOR', NR'COR', NHCO ₂ R', NR'CO ₂ R', NHCO ₂ H, NR'CO ₂ H, NHCONH ₂ , NHCONHR', NHCON(R') ₂ , SO ₂ NH ₂ , SO ₂ NHR', SO ₂ N(R') ₂ , NHSO ₂ R' o NR'SO ₂ R';
70	R'	es H o alifático C ₁₋₆ sin sustituir; y es alifático C ₁₋₆ sin sustituir; o dos grupos R', junto con el átomo al que están unidos, forman un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que tiene 0-1 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S.

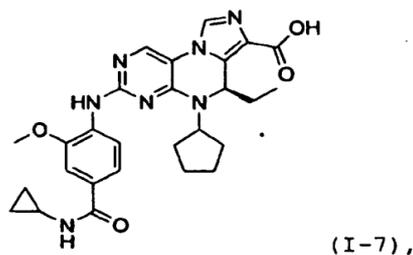
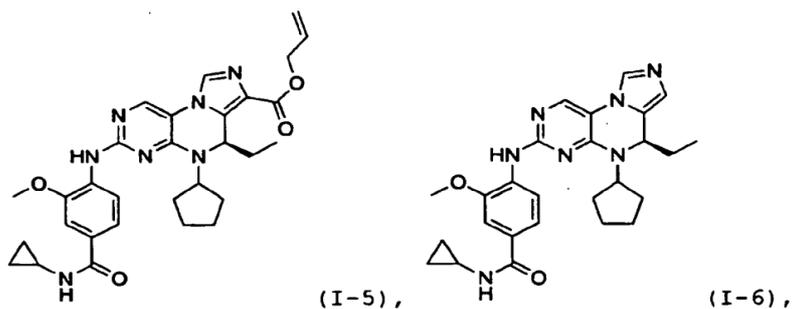
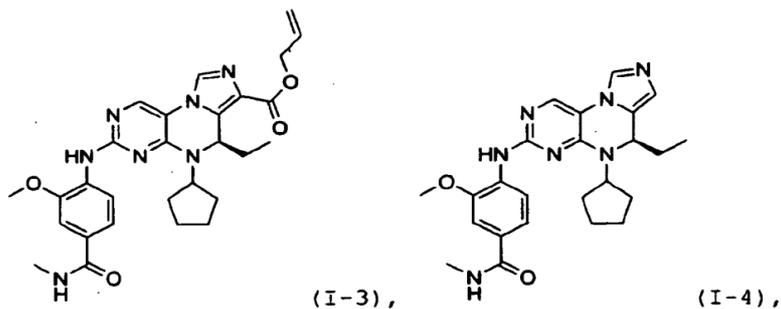
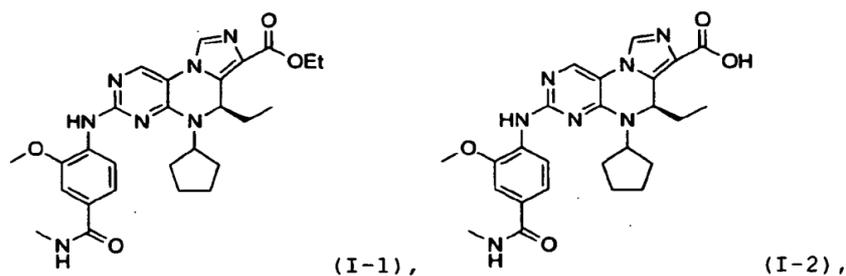
En algunas realizaciones, X¹ es O, NR⁸ o S. En algunas realizaciones, X² es N. En algunas realizaciones, R¹ es arilo C₆₋₁₀ opcionalmente sustituido o heteroarilo de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido. En algunas realizaciones, R⁴ es cicloalifático C₃₋₁₀. En algunas realizaciones, R⁵ es H o CO₂R. En algunas realizaciones, uno de R² y R³ es H y el otro es alifático C₁₋₆ opcionalmente sustituido o cicloalifático C₃₋₈ opcionalmente sustituido. En algunas realizaciones, R⁸ es H.

En algunas realizaciones, L es un enlace; X² es N; R¹ es arilo C₆₋₁₀ opcionalmente sustituido o heteroarilo

opcionalmente sustituido de 5 a 10 miembros; y cada R^2 y R^3 es independientemente H, alifático C_{1-10} o cicloalifático C_{3-10} ; en el que cada R^2 y R^3 está opcionalmente sustituido con 0-5 J^2 y J^3 respectivamente; o R^2 y R^3 , junto con el átomo de carbono al que están unidos, pueden formar un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 6 miembros opcionalmente sustituido.

- 5 En algunas realizaciones, cada J^2 y J^3 es independientemente alifático C_{1-6} , cicloalifático C_{3-6} , o $-(alquil\ C_{1-4})_n-V^1$; en el que n es 0 ó 1; V^1 es halo (alifático C_{1-4}), $-O(haloalifático\ C_{1-4})$, halo, NO_2 , CN, OH, OR", SH, SR", NH_2 , $NHR^"$, $N(R^")_2$, COH, COR", CO_2H , $CO_2R^"$, $CONH_2$, $CONHR^"$, $CONR^"_2$, $OCOR^"$, $OCONH_2$, $OCONHR^"$, $OCON(R^")_2$, $NHCOR^"$, $NR^"COR^"$, $NHCO_2R^"$, $NR^"CO_2R^"$, $NHCO_2H$, $NR^"CO_2H$, $NHCONH_2$, $NHCONHR^"$, $NHCON(R^")_2$, SO_2NH_2 , $-SO_2NHR^"$, $-SO_2N(-R^")_2$, $NHSO_2R^"$ o $NR^"-SO_2R^"$; $R^"$ es alifático C_{1-4} sin sustituir; o dos J^3 , J^4 , J^5 o J^6 iguales, unidos al mismo átomo, pueden formar opcionalmente juntos =O.
- 10

En otras realizaciones más, los compuestos de la invención pueden ser los siguientes:



o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de la presente invención son útiles como inhibidores de proteína quinasas. En algunas realizaciones, estos compuestos son eficaces como inhibidores de proteína quinasas PLK y, en algunas realizaciones, como inhibidores de proteína quinasas PLK-1. Estos compuestos son como se definen en el presente documento.

5 Estos compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, son útiles para tratar o prevenir una diversidad de enfermedades, trastornos o afecciones que incluyen, pero sin limitación, una enfermedad autoinmune, inflamatoria, proliferativa o hiperproliferativa, una enfermedad neurodegenerativa, o una enfermedad mediada inmunológicamente. Los compuestos proporcionados por la presente invención (y sales apropiadas de los mismos) también son útiles para el estudio de quinasas en fenómenos biológicos y patológicos; el estudio de rutas de transducción de señales intracelulares mediadas por tales quinasas; y la evaluación comparativa de nuevos inhibidores de quinasa.

Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que incluye un compuesto descrito anteriormente y un vehículo, adyuvante o excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 Otro aspecto proporciona un procedimiento para inhibir la actividad proteína quinasa en un paciente, que incluye administrar a dicho paciente un compuesto descrito anteriormente.

Otro aspecto proporciona un procedimiento para inhibir la actividad proteína quinasa en una muestra biológica, que comprende poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto descrito anteriormente.

En algunas realizaciones, la proteína quinasa a la que se hace referencia es PLK1.

20 Otro aspecto proporciona un procedimiento para tratar un trastorno proliferativo, un trastorno neurodegenerativo, un trastorno autoinmune, un trastorno inflamatorio o un trastorno mediado inmunológicamente en un paciente, que incluye administrar a dicho paciente que lo necesita un compuesto como se ha descrito anteriormente.

25 En algunas realizaciones, el procedimiento incluye además administrar a dicho paciente un agente terapéutico adicional seleccionado de un agente quimioterapéutico o antiproliferativo, un agente antiinflamatorio, un agente inmunomodulador o inmunosupresor, un factor neurotrófico, un agente para tratar enfermedades cardiovasculares, un agente para tratar trastornos destructivos del hueso, un agente para tratar enfermedades hepáticas, un agente antiviral, un agente para tratar trastornos sanguíneos, un agente para tratar diabetes o un agente para tratar trastornos de inmunodeficiencia, en el que dicho agente terapéutico adicional es apropiado para la enfermedad a tratar; y dicho agente terapéutico adicional se administra junto con dicha composición como una sola forma de dosificación o por separado de dicha composición como parte de una forma de dosificación múltiple.

30 Otro aspecto se refiere a un procedimiento para tratar melanoma, mieloma, leucemia, linfoma, neuroblastoma, o un cáncer seleccionado de cáncer de colon, mama, gástrico, ovárico, cervical, pulmonar, del sistema nervioso central (SNC), renal, de próstata, de vejiga o pancreático, en un paciente que lo necesita, que incluye administrar a dicho paciente un compuesto como el descrito.

35 También está dentro del alcance de la presente invención el uso de un compuesto como se ha descrito anteriormente en la fabricación de un medicamento para tratar un cáncer en un paciente que lo necesita.

Descripción detallada de la Invención

La presente invención describe compuestos de fórmula I como se ha definido en el presente documento.

40 Los compuestos de la presente invención incluyen aquellos descritos de manera general anteriormente y se ilustran adicionalmente mediante las clases, subclases y especies descritas en el presente documento. Como se usa en el presente documento, deben aplicarse las siguientes definiciones a menos que se indique otra cosa. Para los propósitos de la presente invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75ª Ed. Además, se describen principios generales de la química orgánica en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y "March's Advanced Organic Chemistry", 5ª Ed., Ed.: Smith, M.B. and March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 45 2001, todo el contenido de los mismos se incorpora en el presente documento por referencia.

Como se describe en el presente documento, un intervalo numérico específico de átomos incluye cualquier número entero del mismo. Por ejemplo, un grupo que tiene de 1-4 átomos puede tener 1, 2, 3 ó 4 átomos.

50 Como se describe en el presente documento, los compuestos de la invención pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, tales como los que se han ilustrado de manera general anteriormente, o como se ilustran mediante clases, subclases y especies particulares de la invención. Se apreciará que la frase "opcionalmente sustituido" se usa de manera intercambiable con la frase "sustituido o sin sustituir." En general, el término "sustituido", tanto si está precedido por el término "opcionalmente" como si no, se refiere al reemplazo de radicales hidrógeno en una estructura dada con el radical de un sustituyente específico. A menos que se indique otra

cosa, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición adecuada del grupo, y cuando más de una posición en cualquier estructura dada puede sustituirse con más de un sustituyente seleccionado entre un grupo específico, el sustituyente puede ser igual o diferente en cada posición. Preferentemente, son combinaciones de sustituyentes previstas en la presente invención aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables o químicamente posibles.

El término "estable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones para permitir su producción, detección, recuperación, purificación y uso para uno o más de los propósitos descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, un compuesto estable o compuesto químicamente posible es uno que no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40°C o menos, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana.

El término "alifático" o "grupo alifático", como se usa en el presente documento, se refiere a una cadena de hidrocarburo de cadena lineal (es decir, sin ramificar) o ramificada, sustituida o sin sustituir que está completamente saturada o que contiene una o más unidades de insaturación, que tiene un solo punto de unión al resto de la molécula. A menos que se especifique otra cosa, los grupos alifáticos contienen 1-20 átomos de carbono alifáticos. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-10 átomos de carbono. En otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-8 átomos de carbono alifáticos, y en otras realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono alifáticos, y en otras realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos de carbono alifáticos. Los grupos alifáticos adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos alquilo, alqueno o alquino lineales o ramificados, sustituidos o sin sustituir. Los ejemplos específicos incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, isopropilo, *n*-propilo, *sec*-butilo, vinilo, *n*-butenilo, etinilo y *terc*-butilo.

El término "cicloalifático" se refiere a un hidrocarburo monocíclico C₃-C₈ o hidrocarburo bicíclico C₈-C₁₂ que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático, que tiene un solo punto de unión al resto de la molécula, en el que cualquier anillo individual en dicho sistema de anillos bicíclico tiene 3-7 miembros. Los grupos cicloalifáticos preferidos incluyen, pero sin limitación, grupos cicloalquilo y cicloalqueno. Los ejemplos específicos incluyen, pero sin limitación, ciclohexilo, ciclopropenilo y ciclobutilo. El término "heteroalifático", como se usa en el presente documento, se refiere a grupos alifáticos en los que uno o dos átomos de carbono están reemplazados independientemente por uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio. Los grupos heteroalifáticos pueden estar sin sustituir o sustituidos, ser lineales o ramificados, cíclicos o acíclicos e incluyen grupos "heterociclos", "heterociclos", "heterocicloalifáticos" o "heterocíclicos". El término "heterociclo", "heterociclo" o "heterocíclico" como se usa en el presente documento se refiere a sistemas de anillo monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos no aromáticos en los que uno o más miembros del anillo son un heteroátomo seleccionado independientemente. En algunas realizaciones, el grupo "heterociclo", "heterociclo" o "heterocíclico" tiene de tres a catorce miembros del anillo en los que uno o más miembros del anillo es un heteroátomo seleccionado independientemente entre oxígeno, azufre, nitrógeno o fósforo, y cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo.

Los heterociclos adecuados incluyen, pero sin limitación, 3-1H-bencimidazol-2-ona, 3-(1-alquil)-bencimidazol-2-ona, 2-tetrahidrofuranilo, 3-tetrahidrofuranilo, 2-tetrahidrotiofenilo, 3-tetrahidrotiofenilo, 2-morfolino, 3-morfolino, 4-morfolino, 2-tiomorfolino, 3-tiomorfolino, 4-tiomorfolino, 1-pirrolidinilo, 2-pirrolidinilo, 3-pirrolidinilo, 1-tetrahidropiperazinilo, 2-tetrahidropiperazinilo, 3-tetrahidropiperazinilo, 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 1-pirazolinilo, 3-pirazolinilo, 4-pirazolinilo, 5-pirazolinilo, 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-piperidinilo, 2-tiazolidinilo, 3-tiazolidinilo, 4-tiazolidinilo, 1-imidazolidinilo, 2-imidazolidinilo, 4-imidazolidinilo, 5-imidazolidinilo, indolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, -benzotiolano, benzoditiano y 1,3-dihidro-imidazol-2-ona.

Los grupos cíclicos, (por ejemplo, cicloalifáticos y heterociclos), pueden estar linealmente condensados, puenteados o ser espirocíclicos.

El término "heteroátomo" significa uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno o fósforo, (incluyendo, cualquier forma oxidada de nitrógeno, azufre o fósforo; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico o; un nitrógeno adecuado de un anillo heterocíclico, por ejemplo N (como en 3,4-dihidro-2H-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o NR⁺ (como en pirrolidinilo N-sustituido)).

El término "insaturado", como se usa en el presente documento, significa que un resto tiene una o más unidades de insaturación.

El término "no aromático", como se usa en el presente documento, describe anillos que están saturados o parcialmente insaturados.

El término "aromático", como se usa en el presente documento, describe anillos que están totalmente insaturados.

El término "alcoxi" o "tioalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido previamente, unido a la cadena de carbono principal a través de un átomo de oxígeno ("alcoxi") o azufre

("tioalquilo").

Los términos "haloalquilo", "haloalquenilo", "haloalifático" y "haloalcoxi" se refieren a alquilo, alquenilo o alcoxi, como puede ser el caso, sustituidos con uno o más átomos de halógeno. Los términos "halógeno", "halo" y "hal" se refieren a F, Cl, Br o I.

- 5 El término "arilo" usado solo o como parte de un resto más largo como en "aralquilo", "aralcoxi" o "ariloxialquilo", se refiere a sistemas de anillo monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros del anillo, en los que al menos un anillo en el sistema es aromático y en el que cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo. El término "arilo" puede usarse de manera intercambiable con el término "anillo arilo". El término "arilo" también se refiere a sistemas de anillo heteroarilo como se definen a continuación en el presente documento.

- 10 El término "heteroarilo", usado solo o como parte de un resto más largo como en "heteroaralquilo" o "heteroarilalcoxi", se refiere a sistemas de anillo monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros del anillo, en los que al menos un anillo en el sistema es aromático, al menos un anillo en el sistema contiene uno o más heteroátomos y en el que cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo. El término "heteroarilo" puede usarse de manera intercambiable con el término "anillo heteroarilo" o el término "heteroaromático". Los anillos heteroarilo adecuados incluyen, pero sin limitación, 2-furanilo, 3-furanilo, N-imidazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 5-imidazolilo, bencimidazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, N-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, piridazinilo (por ejemplo, 3-piridazinilo), 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, tetrazolilo (por ejemplo, 5-tetrazolilo), triazolilo (por ejemplo, 2-triazolilo y 5-triazolilo), 2-tienilo, 3-tienilo, benzofurilo, benzotiofenilo, indolilo (por ejemplo, 2-indolilo), pirazolilo (por ejemplo, 2-pirazolilo), isotiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, purinilo, pirazinilo, 1,3,5-triazinilo, quinolinilo (por ejemplo, 2-quinolinilo, 3-quinolinilo, 4-quinolinilo) e isoquinolinilo (por ejemplo, 1-isoquinolinilo, 3-isoquinolinilo o 4-isoquinolinilo).

- 25 Las expresiones "grupo protector" y "grupo de protección" como se usan en el presente documento, son intercambiables y se refieren a un agente que se usa para bloquear temporalmente uno o más sitios reactivos deseados en un compuesto multifuncional. En ciertas realizaciones, un grupo protector tiene uno o más, o preferentemente todas, de las siguientes características: a) se añade selectivamente a un grupo funcional con buen rendimiento para dar un sustrato protegido que es b) estable a reacciones que suceden en uno o más de los otros sitios reactivos; y c) es eliminable de manera selectiva con buen rendimiento mediante reactivos que no atacan el grupo funcional desprotegido regenerado. Se detallan grupos protectores ejemplares en Greene, T.W., Wuts, P. G en "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera Edición, John Wiley & Sons, Nueva York: 1999 (y otras ediciones del libro), el contenido completo del mismo se incorpora en el presente documento por referencia. La expresión "grupo protector de nitrógeno", como se usa en el presente documento, se refiere a unos agentes que se usan para bloquear temporalmente uno o más sitios reactivos de nitrógeno deseados en un compuesto multifuncional. Los grupos protectores de nitrógeno preferidos también poseen las características ilustradas anteriormente y ciertos grupos de nitrógeno ejemplares también se detallan en el Capítulo 7 en Greene, T.W., Wuts, P. G en "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera Edición, John Wiley & Sons, Nueva York: 1999, el contenido completo del mismo se incorpora en el presente documento por referencia.

- 40 En algunas realizaciones, una cadena de alquilo o alifática puede interrumpirse opcionalmente con otro átomo o grupo. Esto significa que una unidad de metileno de la cadena de alquilo o alifática se reemplaza opcionalmente con dicho átomo o grupo distinto. Los ejemplos de dichos átomos o grupos incluirían, pero sin limitación, -NR-, -O-, -S-, -CO₂-, -OC(O)-, -C(O)CO-, -C(O)-, -C(O)NR-, -C(=N-CN), -NRCO-, -NRC(O)O-, -SO₂NR-, -NRSO₂-, -NRC(O)NR-, -OC(O)NR-, -NRSO₂NR-, -SO- o -SO₂-, en los que R se define en el presente documento. A menos que se especifique otra cosa, las sustituciones opcionales forman un compuesto químicamente estable. Pueden suceder interrupciones opcionales tanto en la cadena como en el extremo de la cadena; es decir, en el punto de unión y/o también en el extremo terminal. Dos sustituciones opcionales pueden ser adyacentes entre sí en una cadena siempre y cuando den como resultado un compuesto estable. Las interrupciones o sustituciones opcionales también pueden reemplazar por completo a todos los átomos de carbono en una cadena. Por ejemplo, un alifático C₃ puede interrumpirse o reemplazarse opcionalmente por -NR-, -C(O)- y -NR- para formar -NRC(O)NR- (una urea).

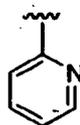
A menos que se especifique otra cosa, si la sustitución o interrupción sucede en el extremo terminal, el átomo de reemplazo se une a un H en el extremo terminal. Por ejemplo, si -CH₂CH₂CH₃ se interrumpiera opcionalmente con -O-, el compuesto resultante podría ser -OCH₂CH₃, -CH₂OCH₃ o -CH₂CH₂OH.

- 55 A menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales)) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, isómeros de doble enlace (Z) y (E) e isómeros conformacionales (Z) y (E). Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos sencillos, así como mezclas enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales) de los compuestos de la

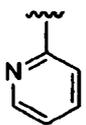
presente invención están dentro del alcance de la invención.

A menos que se indique otra cosa, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención.

- 5 A menos que se indique otra cosa, un sustituyente puede girar libremente en torno a cualquiera de los enlaces giratorios. Por ejemplo, un sustituyente que se dibuja como



también representa



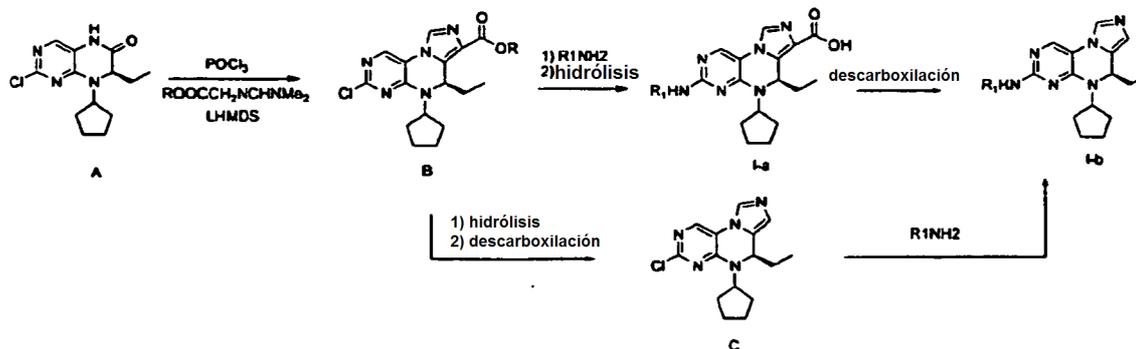
- 10 Además, a menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir compuestos que difieren únicamente en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Por ejemplo, compuestos que tienen las estructuras presentes excepto por la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido ^{13}C o ^{14}C están dentro del alcance de la presente invención. Dichos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas o sondas analíticas en ensayos biológicos.

- 15 Se usan las siguientes abreviaturas:

	PG	grupo protector
	GL	grupo saliente
	DCM	diclorometano
	Ac	acetilo
20	DMF	dimetilformamida
	EtOAc	acetato de etilo
	DMSO	dimetilsulfóxido
	MeCN	acetonitrilo
	TCA	ácido tricloroacético
25	ATP	trifosfato de adenosina
	EtOH	etanol
	Ph	fenilo
	Me	metilo
	Et	etilo
30	Bu	butilo
	DEAD	dietilazodicarboxilato
	HEPES	ácido 4-(2-hidroxi-etil)-1-piperazinaetanosulfónico
	BSA	albúmina de suero bovino
	DTT	ditiotreitolo
35	MOPS	ácido 4-morfolinpropanosulfónico
	RMN	resonancia magnética nuclear
	HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
	LCMS	cromatografía líquida-espectrometría de masas
	TLC	cromatografía de capa fina
40	Tr	tiempo de retención

Metodología sintética general

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse en general por procedimientos tales como aquellos representados en los esquemas generales a continuación y los ejemplos preparativos que siguen. A menos que se indique otra cosa, todas las variables en los siguientes esquemas son como se definen en el presente documento.

Esquema 1

El esquema 1 anterior muestra la ruta sintética para dar los compuestos I-a y I-b descritos en la presente invención. El compuesto A se preparó de acuerdo con el documento US20040176380

El compuesto A se hizo reaccionar con POCl_3 , seguido de $\text{RO}_2\text{CCH}_2\text{NCHNMe}_2$ y LHMDS para dar el compuesto B. El compuesto B se acopló a una amina (o anilina) y después se hidrolizó (condiciones de hidrólisis dependiendo de la naturaleza del grupo éster) para dar el compuesto I-a la presente invención. Después, el compuesto I-a se descarboxiló para dar el compuesto I-b la presente invención. Como alternativa, el intermedio B puede someterse a hidrólisis (condiciones de hidrólisis dependiendo de la naturaleza del grupo éster) y después descarboxilarse para formar el intermedio C. El acoplamiento con una amina (o una anilina) conduce al compuesto I-b.

Por consiguiente, la presente invención también proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la presente invención.

La presente invención proporciona compuestos que son útiles para el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones que incluyen, pero sin limitación, enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades proliferativas e hiperproliferativas, enfermedades mediadas inmunológicamente, enfermedades óseas, enfermedades metabólicas, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades relacionadas con hormonas, alergias, asma y enfermedad de Alzheimer. Otro aspecto de la presente invención proporciona compuestos que son inhibidores de proteína quinasas y, por lo tanto, son útiles para el tratamiento de las enfermedades, trastornos y afecciones, junto con otros usos descritos en el presente documento. En otro aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticamente aceptables, comprendiendo estas composiciones cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento, y comprendiendo opcionalmente un vehículo, adyuvante o excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, estas composiciones comprenden opcionalmente además uno o más agentes terapéuticos adicionales.

También se apreciará que ciertos de los compuestos de la presente invención pueden existir en forma libre para el tratamiento, o cuando sea apropiado, como una sal farmacéuticamente aceptable o derivado farmacéuticamente aceptable del mismo.

Como se usa en el presente documento, un "derivado farmacéuticamente aceptable" es un aducto o derivado que, tras la administración a un paciente que lo necesita, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto como se describe de otra manera en el presente documento, o un metabolito o residuo del mismo. Los ejemplos de derivados farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, ésteres y sales de dichos ésteres.

Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales de un compuesto que, dentro del alcance de un criterio médico razonable, son adecuadas para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin toxicidad, irritación, o respuesta alérgica indebida, y similares, y que están en proporción con una relación razonable de beneficios/riesgos.

Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge y col., describen sales farmacéuticamente aceptables con detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19, incorporado en el presente documento por referencia. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen las derivadas de ácidos y bases inorgánicas y orgánicas adecuadas. Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y purificación final de los compuestos. Las sales de adición de ácidos pueden prepararse 1) haciendo reaccionar el compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y 2) aislando la sal formada de esta manera.

Son ejemplos de sales de adición de ácidos no tóxicas farmacéuticamente aceptables sales de un grupo amino

formado con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o mediante el uso de otros procedimientos usados en la técnica tales como intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanfosulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, glicolato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares. Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos, metales alcalinotérreos, amonio y N⁺(alquilo C₁₋₄)₄. La presente invención también prevé la cuaternización de cualquier grupo que contenga nitrógeno básico de los compuestos analizados en el presente documento. Por medio de dicha cuaternización pueden obtenerse productos solubles o dispersables en agua o aceite.

Las sales de adición de bases pueden prepararse 1) haciendo reaccionar el compuesto purificado en su forma ácida con una base orgánica o inorgánica adecuada y 2) aislando la sal formada de esta manera. Las sales de adición de bases incluyen sales de metales alcalinos o alcalinotérreos. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando es apropiado, cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina, formados usando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquilsulfonato inferior y arilsulfonato. Otros ácidos y bases, aunque no son farmacéuticamente aceptables por sí mismos, pueden emplearse en la preparación de sales útiles como intermedios en la obtención de los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácidos o bases farmacéuticamente aceptables.

Como se describe en el presente documento, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención además comprenden un vehículo, adyuvante o excipiente farmacéuticamente aceptable que, como se usa en el presente documento, incluye todos y cada uno de los disolventes, diluyentes u otros vehículos líquidos, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, adecuados para la forma de dosificación particular deseada. Remington's Pharmaceutical Sciences, Decimosexta Edición, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) desvela diversos excipientes usados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para su preparación. Excepto en caso de que cualquier medio excipiente convencional sea incompatible con los compuestos de la invención, tal como mediante la producción de cualquier efecto biológico indeseable o interacción de otra manera de una forma perjudicial con cualquier otro componente de la composición farmacéuticamente aceptable, se contempla que su uso está dentro del alcance de la presente invención.

Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, agentes de intercambio iónico, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas tales como albúmina de suero humano, sustancias tamponantes tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico o sorbato potásico, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos tales como sulfato de protamina, fosfato ácido disódico, fosfato ácido potásico, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxipropileno, lanolina, azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras de supositorios; aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; tales como propilenglicol o polietilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua sin pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; y también pueden estar presentes en la composición, de acuerdo con el criterio del formulador, alcohol etílico, y soluciones tampón fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos tales como lauril sulfato sódico y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de revestimiento, edulcorantes, agentes aromatizantes y de perfume, conservantes y antioxidantes.

Un aspecto de la presente invención proporciona un procedimiento para el tratamiento o reducción de la gravedad de una enfermedad seleccionada de una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad proliferativa o hiperproliferativa tal como cáncer, una enfermedad mediada inmunológicamente, una enfermedad ósea, una enfermedad metabólica, una enfermedad neurológica o neurodegenerativa, una enfermedad cardiovascular, alergias, asma, enfermedad de Alzheimer o una enfermedad relacionada con hormonas, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto, o una composición farmacéuticamente aceptable que comprende un compuesto, a un sujeto que lo necesita. El término "cáncer" incluye, pero sin limitación, los siguientes cánceres: mama; ovario; cuello del útero; próstata; testículos, tracto genitourinario; esófago; laringe, glioblastoma; neuroblastoma; estómago; piel, queratoacantoma; pulmón, carcinoma epidermoide, carcinoma de células grandes,

carcinoma de células pequeñas, adenocarcinoma de pulmón; hueso; colon, adenoma; páncreas, adenocarcinoma; tiroides, carcinoma folicular, carcinoma indiferenciado, carcinoma papilar; seminoma; melanoma; sarcoma; carcinoma de vejiga; carcinoma hepático y conductos biliares; carcinoma de riñón; trastornos mieloides; trastornos linfoides, Hodgkin, células pilosas; cavidad bucal y faringe (oral), labios, lengua, boca, faringe; intestino delgado; colon-recto, intestino grueso, recto; cerebro y sistema nervioso central; y leucemia.

En ciertas realizaciones, una “cantidad eficaz” del compuesto o composición farmacéuticamente aceptable es la cantidad eficaz para tratar dicha enfermedad. Los compuestos y composiciones, de acuerdo con el procedimiento de la presente invención, pueden administrarse usando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para tratar o reducir la gravedad de dicha enfermedad. En algunas realizaciones, dicha enfermedad se selecciona de un trastorno proliferativo, un trastorno neurodegenerativo, un trastorno autoinmune y trastorno inflamatorio, y un trastorno mediado inmunológicamente. En algunas realizaciones, dicha enfermedad es un trastorno proliferativo. En algunas realizaciones, cáncer.

En otras realizaciones de la presente invención, dicha enfermedad es una afección mediada por proteína quinasa. En algunas realizaciones, dicha proteína quinasa es PLK.

La expresión “afección mediada por proteína quinasa”, como se usa en el presente documento, significa cualquier enfermedad u otra afección perjudicial en la que interviene una proteína quinasa. Dichas afecciones incluyen, sin limitación, enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades proliferativas e hiperproliferativas, enfermedades mediadas inmunológicamente, enfermedades óseas, enfermedades metabólicas, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades relacionadas con hormonas, alergias, asma y enfermedad de Alzheimer.

La expresión “afección mediada por PLK”, como se usa en el presente documento, significa cualquier enfermedad u otra afección perjudicial en la que interviene PLK. Dichas afecciones incluyen, sin limitación, un trastorno proliferativo tal como cáncer, un trastorno neurodegenerativo, un trastorno autoinmune, un trastorno inflamatorio, y un trastorno mediado inmunológicamente.

En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones de la invención son inhibidores de proteína quinasa. Como inhibidores de proteína quinasa, los compuestos y composiciones de la presente invención son particularmente útiles para tratar o reducir la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno cuando está implicada una proteína quinasa en la enfermedad, afección o trastorno. En un aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para tratar o reducir la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno, en el que está implicada una proteína quinasa en el estado de enfermedad. En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para tratar o reducir la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno en el que la inhibición de la actividad enzimática está implicada en el tratamiento de la enfermedad. En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para tratar o reducir la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno con compuestos que inhiben la actividad enzimática mediante la unión a la proteína quinasa. En algunas realizaciones, dicha proteína quinasa es PLK.

La actividad de los compuestos como inhibidores de proteína quinasa puede ensayarse *in vitro*, *in vivo* o en una línea celular. Los ensayos *in vitro* incluyen ensayos que determinan la inhibición de la actividad quinasa o la actividad ATPasa de la quinasa activada. Los ensayos *in vitro* alternativos cuantifican la capacidad del inhibidor de unirse a la proteína quinasa y pueden medirse por radiomarcaje del inhibidor antes de la unión, aislamiento del complejo inhibidor/quinasa y determinación de la cantidad de radiomarcador unido, o mediante la realización de un experimento competitivo en el que se incuban nuevos inhibidores con la quinasa unida a radioligandos conocidos.

Los inhibidores de proteína quinasa o sales farmacéuticas de los mismos pueden formularse en composiciones farmacéuticas para administración a animales o seres humanos. Estas composiciones farmacéuticas, que comprenden una cantidad del inhibidor de proteínas eficaz para tratar o prevenir una afección mediada por proteína quinasa y un vehículo farmacéuticamente aceptable, son otra realización de la presente invención. En algunas realizaciones, dicha afección mediada por proteína quinasa es una afección mediada por PLK. En algunas realizaciones, una afección mediada por PLK1.

La cantidad exacta de compuesto necesaria para el tratamiento variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, edad y estado general del sujeto, la gravedad de la infección, el agente particular, su modo de administración y similares. Los compuestos de la invención preferentemente se formulan en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y conseguir uniformidad de la dosificación. La expresión “forma de dosificación unitaria”, como se usa en el presente documento, se refiere a una unidad físicamente discreta de agente apropiada para el paciente a tratar. Sin embargo, se entenderá que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención se decidirá por el médico a cargo del caso dentro del alcance de un criterio médico razonable. El nivel de dosificación eficaz específico para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen el trastorno a tratar y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, peso corporal, salud general,

sexo y dieta del paciente; el momento de administración, vía de administración y velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o simultáneamente con el compuesto específico empleado, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. El término "paciente", como se usa en el presente documento, significa un animal, preferentemente un mamífero y aún más preferentemente un ser humano.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden administrarse a seres humanos y otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (tal como por medio de polvos, pomadas o gotas), bucal, como una pulverización oral o nasal, o similares, dependiendo de la gravedad de la infección a tratar. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención pueden administrarse por vía oral o parenteral a niveles de dosificación de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg y preferentemente de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de peso corporal del sujeto al día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen, pero sin limitación, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyente inertes usados comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano, y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, saporíferos y agentes de perfume.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico y aceptable para la vía parenteral, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer, solución de cloruro sódico isotónica y U.S.P. Además, convencionalmente se emplean como disolventes o medios de suspensión aceites fijos estériles. Para este fin puede emplearse cualquier aceite fijo insípido incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables se usan ácidos grasos tales como ácido oleico.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención de bacterias o mediante la incorporación de agentes de esterilización en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes del uso.

Para prolongar el efecto de un compuesto de la presente invención, con frecuencia es deseable ralentizar la absorción del compuesto tras la inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede conseguirse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con baja solubilidad en agua. La velocidad de absorción del compuesto entonces depende de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma de compuesto administrada por vía parenteral se consigue disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso. Las formas de depósito inyectables se obtienen formando matrices de microcápsulas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la relación entre compuesto y polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del compuesto. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con tejidos corporales.

Las composiciones para administración rectal o vaginal preferentemente son supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de la presente invención con excipientes o vehículos no irritantes adecuados tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio, que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura corporal y, por lo tanto, se funden en el recto o en la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable, tal como citrato sódico o fosfato dicálcico y/o a) cargas o expansores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manito y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos y carbonato sódico, e) agentes para retrasar la disolución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como,

por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita, y i) lubricantes tales como talco, estearato cálcico, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato sódico y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponantes.

5 También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con revestimientos y cubiertas tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Opcionalmente pueden contener agentes opacificadores y
10 también pueden ser de una composición tal que liberen el ingrediente o ingredientes activos únicamente, o preferentemente, en cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

15 Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha indicado anteriormente. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con revestimientos y cubiertas tales como revestimientos entéricos, revestimientos de control de la liberación y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En dichas formas de dosificación sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa,
20 lactosa o almidón. Dichas formas de dosificación también pueden comprender, como es la práctica normal, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes para la fabricación de comprimidos y otros adyuvantes para la fabricación de comprimidos tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tamponantes. Opcionalmente pueden contener agentes opacificadores y también pueden ser de una composición tal que liberen el principio o principios activos únicamente, o preferentemente, en cierta parte del tracto intestinal,
25 opcionalmente de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

Las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica de un compuesto de la presente invención incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizaciones, inhalantes o parches. El
30 componente activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante necesario o tampón que pueda requerirse. También se contemplan dentro del alcance de la presente invención formulaciones oftálmicas, gotas para los oídos y gotas para los ojos. Además, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos que tienen la ventaja añadida de proporcionar la liberación controlada de un compuesto al cuerpo. Dichas formas de dosificación pueden prepararse disolviendo o distribuyendo el compuesto
35 en el medio apropiado. También pueden usarse potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

Además de los compuestos de la presente invención, también pueden emplearse derivados o profármacos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención en composiciones para tratar o prevenir
40 los trastornos identificados anteriormente.

Un "derivado o profármaco farmacéuticamente aceptable" significa cualquier éster, sal de un éster u otro derivado farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la presente invención que, tras la administración a un receptor, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto de la presente invención o un metabolito activo de
45 forma inhibidora o residuo del mismo. Son derivados o profármacos particularmente preferidos los que aumentan la biodisponibilidad de los compuestos de la presente invención cuando dichos compuestos se administran a un paciente (por ejemplo, dejando que un compuesto administrado por vía oral se absorba más fácilmente en la sangre) o los que aumentan la liberación del compuesto parental en un compartimento biológico (por ejemplo, el cerebro o el sistema linfático) con respecto a la especie parental.

Los profármacos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen, sin limitación, ésteres, ésteres de aminoácidos, ésteres de fosfato, sales de metales y ésteres de sulfonato.
50

Los vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en estas composiciones farmacéuticas incluyen, pero sin limitación, agentes de intercambio iónico, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas tales como albúmina de suero humano, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato potásico, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos tales como sulfato
55 de protamina, fosfato ácido disódico, fosfato ácido potásico, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliácridatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y lanolina.

Las composiciones de la presente invención pueden administrarse por vía oral, parenteral, por pulverización de inhalación, tópicamente, por vía rectal, nasal, bucal, vaginal o a través de un depósito implantado. El término "parenteral", como se usa en el presente documento, incluye pero sin limitación, técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intra-articular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. Preferentemente, las composiciones se administran por vía oral intraperitoneal o intravenosa.

Las formas inyectables estériles de las composiciones de la presente invención pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Estas suspensiones pueden formularse de acuerdo con técnicas conocidas en este campo usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico y aceptable por vía parenteral, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico. Además, convencionalmente se emplean aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo insípido incluyendo mono- o di-glicéridos sintéticos. Son útiles en la preparación de inyectables ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados de glicérido, como lo son aceites farmacéuticamente aceptables naturales tales como aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Estas soluciones o suspensiones de aceite también pueden contener un diluyente o dispersante de alcohol de cadena larga, tal como carboximetilcelulosa o agentes dispersantes similares que se usan comúnmente en la formulación de formas de dosificación farmacéuticamente aceptables incluyendo emulsiones y suspensiones. Otros tensioactivos usados comúnmente, tales como Tweens, Spans y otros agentes emulsionantes o potenciadores de biodisponibilidad que se usan comúnmente en la fabricación de formas de dosificación sólidas o líquidas farmacéuticamente aceptables, o de otra forma, también pueden usarse para los fines de formulación.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse por vía oral en cualquier forma de dosificación aceptable para la vía oral incluyendo, pero sin limitación, cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los vehículos usados comúnmente incluyen, pero sin limitación, lactosa y almidón de maíz. Típicamente también se añaden agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. Para administración oral en forma de una cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se requieren suspensiones acuosas para uso oral, el ingrediente activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también pueden añadirse ciertos agentes edulcorantes, aromatizantes o colorantes.

Como alternativa, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse en forma de supositorios para administración rectal. Éstas pueden prepararse mezclando el agente con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Estos materiales incluyen, pero sin limitación, manteca de cacao, cera de abejas y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden administrarse tópicamente, especialmente cuando la diana de tratamiento incluye áreas u órganos fácilmente accesibles por aplicación tópica, incluyendo enfermedades del ojo, la piel o el tracto intestinal inferior. Las formulaciones tópicas adecuadas se preparan fácilmente para cada una de estas áreas u órganos.

La aplicación tópica para el tracto intestinal inferior puede efectuarse en una formulación rectal de supositorio (véase anteriormente) o en una formulación de enema adecuada. También pueden usarse parches transdérmicos tópicos.

Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una pomada adecuada que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más vehículos. Los vehículos para administración tópica de los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Como alternativa, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una loción o crema adecuada que contiene los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, monoestearato de sorbitano, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

Para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticas pueden formularse como suspensiones micronizadas en solución salina isotónica estéril con el pH ajustado o, preferentemente, como soluciones en solución salina estéril con el pH ajustado, isotónica, con o sin un conservante tal como cloruro de bencilalconio. Como alternativa, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una pomada tal como vaselina.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden administrarse por aerosol o inhalación nasal. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con técnicas bien conocidas en el campo de la formulación farmacéutica y pueden prepararse como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para mejorar la biodisponibilidad, fluorocarburos y/u otros

agentes solubilizantes o dispersantes convencionales.

5 La cantidad inhibidor de proteína quinasa que puede combinarse con los materiales de vehículo para producir una sola forma de dosificación variará dependiendo del huésped tratado y el modo particular de administración. Preferentemente, las composiciones deben formularse de forma que pueda administrarse una dosificación comprendida entre 0,01 y 100 mg/kg de peso corporal/día del inhibidor a un paciente que recibe estas composiciones.

10 También debe entenderse que un régimen de dosificación y tratamiento específico para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, momento de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos y el criterio del médico a cargo del caso y la gravedad de la enfermedad particular a tratar. La cantidad de inhibidor también dependerá del compuesto particular en la composición.

15 También se proporcionan procedimientos para tratar o prevenir una afección mediada por proteína quinasa (en algunas realizaciones, una afección mediada por PLK) que comprenden la etapa de administrar a un paciente una de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. El término "paciente", como se usa en el presente documento, significa un animal, preferentemente un ser humano.

20 Preferentemente, este procedimiento se usa para tratar o prevenir una afección seleccionada entre cánceres tales como cánceres de mama, colon, próstata, piel, páncreas, cerebro, tracto genitourinario, sistema linfático, estómago, laringe y pulmón, incluyendo adenocarcinoma de pulmón y cáncer pulmonar de células pequeñas; ictus, diabetes, mieloma, hepatomegalia, cardiomegalia, enfermedad de Alzheimer, fibrosis quística y enfermedad viral, o cualquier enfermedad específica descrita anteriormente.

Otro aspecto se refiere a la inhibición de la actividad proteína quinasa en un paciente, comprendiendo dicho procedimiento administrar al paciente un compuesto de fórmula I o una composición que comprende dicho compuesto.

25 Dependiendo de las afecciones mediadas por proteína quinasa particulares a tratar o prevenir, pueden administrarse fármacos adicionales, que normalmente se administran para tratar o prevenir dicha afección, junto con los inhibidores de la presente invención. Por ejemplo, pueden combinarse agentes quimioterapéuticos u otros agentes antiproliferativos con los inhibidores de proteína quinasa de la presente invención para tratar enfermedades proliferativas.

30 Esos agentes adicionales pueden administrarse por separado, como parte de un régimen de dosificación múltiple, del compuesto o composición que contiene inhibidor de quinasa. Como alternativa, esos agentes pueden ser parte de una sola forma de dosificación, mezclados junto con el inhibidor de proteína quinasa en una sola composición.

En algunas realizaciones, dicho inhibidor de proteína quinasa es un inhibidor de quinasa PLK. En otras realizaciones, dicho inhibidor de proteína quinasa es un inhibidor de quinasa PLK1.

35 La presente invención también puede usarse en procedimientos distintos de los que implican la administración a un paciente.

40 Un aspecto se refiere a la inhibición de la actividad proteína quinasa en una muestra biológica, comprendiendo dicho procedimiento poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de fórmula I o una composición que comprende dicho compuesto. La expresión "muestra biológica", como se usa en el presente documento, significa una muestra *in vitro* o *ex vivo*, incluyendo, sin limitación, cultivos celulares o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido a partir de un mamífero o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas u otros fluidos corporales o extractos de los mismos.

La inhibición de la actividad proteína quinasa en una muestra biológica es útil para una diversidad de fines que se conocen por un experto en la materia. Los ejemplos de dichos fines incluyen, pero sin limitación, transfusión de sangre, trasplante de órganos y almacenamiento de muestras biológicas.

45 Otro aspecto de la presente invención se refiere al estudio de proteína quinasas en fenómenos biológicos y patológicos; el estudio de rutas de transducción de señales intracelulares mediadas por dichas proteína quinasas; y la evaluación comparativa de nuevos inhibidores de proteína quinasas. Los ejemplos de dichos usos incluyen, pero sin limitación, ensayos biológicos tales como ensayos enzimáticos y ensayos basados en células.

50 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse, en general, por procedimientos conocidos por los expertos en la materia. Estos compuestos pueden analizarse por procedimientos conocidos, incluyendo pero sin limitación, CLEM (cromatografía líquida-espectrometría de masas) y RMN (resonancia magnética nuclear). Los compuestos de la presente invención también pueden ensayarse de acuerdo con estos ejemplos. Debe entenderse que las condiciones específicas mostradas más adelante sólo son ejemplos, y no pretenden limitar el alcance de las

condiciones que pueden usarse para fabricar, analizar o ensayar los compuestos de la presente invención. En su lugar, la presente invención también incluye condiciones conocidas por los expertos en la materia para fabricar, analizar y ensayar los compuestos de la presente invención.

Ejemplos

- 5 Como se usa en el presente documento, el término "Rt(min)" se refiere al tiempo de retención de HPLC, en minutos, asociado con el compuesto. A menos que se indique otra cosa, el procedimiento de HPLC utilizado para obtener el tiempo de retención indicado es como se indica a continuación:

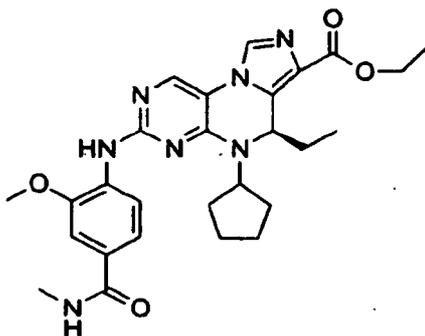
10 Columna: columna ACE C8, 4,6 x 150 mm
 Gradiente: 0-100% de 60:40 de acetonitrilo+metanol (Tris fosfato 20 mM)
 Caudal: 1,5 ml/minuto
 Detección: 225, nm.

Las muestras de espectrometría de masas se analizaron en un espectrómetro de masas MicroMass Quattro Micro que funcionaba en modo MS sencillo con ionización por electronebulización. Las muestras se introdujeron en el espectrómetro de masas usando cromatografía.

- 15 Los espectros de ^1H RMN se registraron a 400 MHz usando un instrumento Bruker DPX 400. Los siguientes compuestos de fórmula I se prepararon y se analizaron como se indica a continuación.

Ejemplo 1:

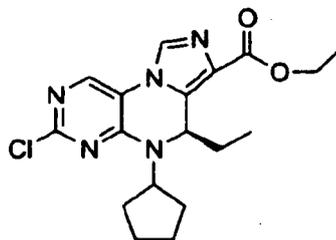
3-(Metilcarbamoil)-2-metoxifenilamino-5-ciclopentil-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxilato de (R)-etilo (I-1)



I - I

20

Procedimiento A: 3-Cloro-5-ciclopentil-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxilato de (R)-Etilo



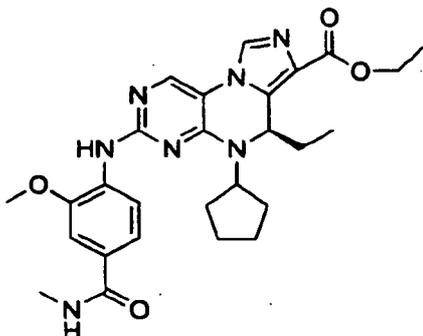
25

Se agitó (R)-2-cloro-8-ciclopentil-7-etil-7,8-dihidropteridin-6(5H)-ona (200 mg, 0,714 mmol) (preparada de acuerdo con el documento US20040176380) en oxocloruro de fósforo (6 ml) a 110°C durante 3 horas y se concentró a presión reducida. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno anhidro x 3, dando una goma de color pardo de cloruro de imino; LC/MS M+1 (obs.) 299,6, 300,7, 301,6; LC/MS M-1 (obs.) 297,8, 299,8, 301,8. Se enfrió clorhidrato del éster etílico de glicina (377 mg, 2,7 mmol) en diclorometano (4 ml) a 0°C y se trató con trietilamina (0,415 ml, 2,97 mmol) y dimetil formamida dimetil acetal (0,36 ml, 2,7 mmol). La mezcla se calentó a TA durante 2 horas y se concentró, dando un sólido pegajoso (0,69 g). El residuo se recogió en THF (5 ml) y a -40°C se trató con LHMDS 1 M (4,8 ml, 4,8 mmol). La mezcla se agitó a -40°C durante 30 min y después se trató a esta temperatura con una solución de del cloruro de imino (9) en diclorometano (1,0 ml). La mezcla se calentó a TA durante una noche y se

30

acidificó a pH 6 con ácido acético. La mezcla se calentó a reflujo durante 90 min, se recogió en acetato de etilo y se lavó con carbonato ácido sódico acuoso. La purificación por cromatografía ultrarrápida eluyendo con 40-100% de acetato de etilo/petróleo dio 3-cloro-5-ciclopentil-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxilato de (*R*)-etilo en forma de una espuma de color pardo claro; LC/MS M+1 (obs.) 376,3, 377,3, 378,3.

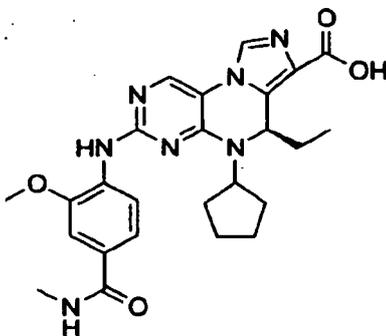
5 **Procedimiento B: 3-(Metilcarbamoil)-2-metoxifenilamino-5-ciclopentil-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxilato de (*R*)-etilo (I-1)**



10 Se trataron 3-cloro-5-ciclopentil-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxilato de (*R*)-etilo (70 mg, 0,1866 mmol), ácido 4-amino-3-metoxibenzoico y 4-amino-3-metoxi-N-metilbenzamida (50 mg, 0,28 mmol) en etanol (0,7 ml) y agua (2,8 ml) con HCl conc. (0,03 ml) y se agitaron a 90°C durante 24 horas. La mezcla se concentró y se purificó por cromatografía, dando el producto del título en forma de una goma incolora (50 mg); LC/MS M+1 (obs.) 520,4; LC/MS M-1 (obs.) 518,5.

Ejemplo 2:

15 **Procedimiento C: Ácido (*R*)-3-(4-(metilcarbamoil)-2-metoxifenilamina)-5-ciclopentil-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxílico (I-2)**

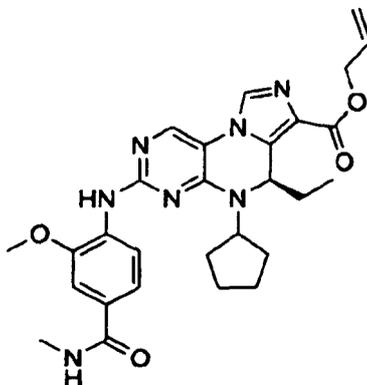


I-2

20 Se trató 3-cloro-5-ciclopentil-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxilato de (*R*)-etilo I-1 (50 mg, 0,096 mmol) en THF (0,5 ml) y etanol (0,5 ml) con LiOH hidrato (26 mg, 0,58 mmol) y se agitó a reflujo durante 24 horas. La mezcla se neutralizó con HCl 1 M y se extrajo con acetato de etilo/isopropanol, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró, dando el ácido carboxílico en forma de un sólido incoloro (30 mg); RMN ¹H (DMSO D6) 0,70 (3H, t), 1,58-2,20 (10H, m), 2,85 (3H, d), 3,99 (3H, s), 4,40-9,52 (1H, m), 5,95-5,52 (1H, m), 7,50-7,58 (2H, m), 8,02 (1H, s a), 8,34 (1H, d), 8,40-8,46 (1H, m), 8,55 (1H, s), 8,73 (1H, s); LC/MS M+1 (obs.) 492,34, LC/MS M-1 (obs.) 490,45.

Ejemplo 3:

Procedimiento D: 5-Ciclopentil-6-etil-3-(2-metoxi-4-(metilcarbamoil)fenilamino)-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxilato de (R)-alilo (I-3)

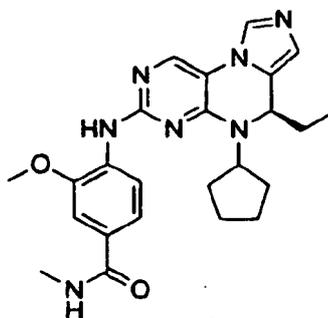


I-3

- 5 Se trató ácido (R)-5-ciclopentil-6-etil-3-(2-metoxi-4-(metilcarbamoil)fenilamino)-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxílico I-2 (44 mg, 0,09 mmol) en DMF (0,5 ml) con carbonildiimidazol (19 mg, 0,12 mmol) y se agitaron a 40-45°C durante 40 minutos. Después, se añadió alil alcohol (1 ml, 14,7 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 18 horas. La mezcla se repartió entre una solución acuosa de carbonato sódico y acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para dar el compuesto deseado en forma de un sólido de color pardo pálido (37 mg, rendimiento del 77%); LC/MS M+1 (obs.) 532,68, LC/MS M-1 (obs.) 530,81.

Ejemplo 4:

Procedimiento E: (R)-4-(5-Ciclopentil-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-3-ilamino)-3-metoxi-N-metilbenzamida (I-4)

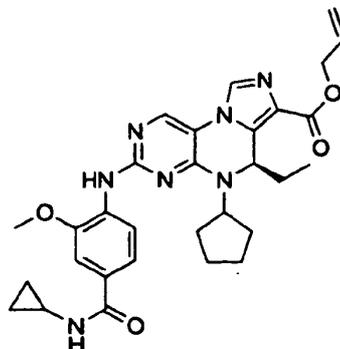


I-4

- 15 Una mezcla de (5-ciclopentil-6-etil-3-(2-metoxi-4-(metilcarbamoil)fenilamino)-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxilato de R)-alilo I-3 (37 mg, 0,07 mmol) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (7 mg) en benzonitrilo (0,5 ml) y tolueno saturado con agua (0,5 ml) se calentó con radiación por microondas a 155°C durante 1 hora. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó a sequedad. El residuo se purificó por HPLC preparativa de fase inversa [Waters Sunfire C18, 10 µM, columna de 100 Å, gradiente del 10%-95% de B (disolvente A: TFA al 0,05% en agua; disolvente B: CH₃CN) durante 16 minutos a 25 ml/min]. Las fracciones se recogieron, se concentraron al vacío y se repartieron entre acetato de etilo y una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (3,7 mg, rendimiento del 12%); RMN ¹H (CDCl₃) 0,73-0,85 (3H, m), 1,50-2,20 (10H, m), 3,00,3,02 (3H, s x 2), 3,95, 3,96 (3H, s x 2), 4,50-4,65 (1H, m), 4,66-4,75 (1H, m), 6,10-6,24 (1H, m), 6,85-6,94 (1H, m), 7,21-7,30 (1H, m), 7,40-7,49 (1H, m), 7,68-7,75 (1H, m), 7,89-7,97 (1H, m), 8,20-8,28 (1H, m), 8,48-8,55 (1H, m); LC/MS M+1 (obs.) 448,61, LC/MS M-1 (obs.) 446,72.

Ejemplo 5:

5-Ciclopentil-3-(4-(ciclopropilcarbamoil)-2-metoxifenilamino)-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxilato de (R)-alilo (I-5)

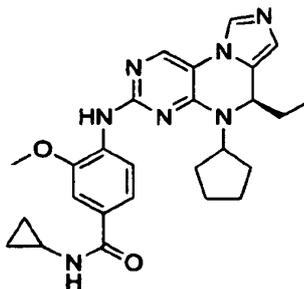


I-5

- 5 El compuesto I-5 se preparó por el procedimiento D; LC/MS M+1 (obs.) 558,71, LC/MS M-1 (obs.) 556,80.

Ejemplo 6:

(R)-4-(5-Ciclopentil-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-3-ilamino)-N-ciclopropil-3-metoxibenzamida (I-6)

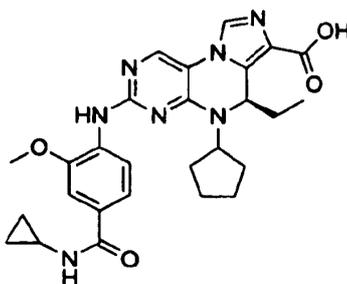


I-6

- 10 El compuesto I-6 se preparó por el procedimiento E; RMN ¹H (DMSO D6) 0,54-0,60 (2H, m), 0,67-0,75 (5H, m), 1,48-2,10 (10H, m), 2,78-2,86 (1H, m), 3,93 (3H, s), 4,39-4,50 (1H, m), 4,93-4,97 (1H, m), 6,88 (1H, s), 7,44-7,50 (2H, m), 7,80 (1H, s), 8,30 (3H, m), 8,62 (1H, s); LC/MS M+1 (obs.) 474,70, LC/MS M-1 (obs.) 472,80.

Ejemplo 7:

Ácido (R)-5-ciclopentil-3-(4-(ciclopropilcarbamoil)-2-metoxifenilamino)-6-etil-5,6-dihidroimidazo[1,5-f]pteridin-7-carboxílico (I-7)



I-7

El compuesto I-7 se preparó por el procedimiento C; RMN ¹H (DMSO D6) 0,57-0,74 (7H, m), 1,50-2,10 (10H, m), 2,83 (1H, m), 3,94 (3H, s), 4,37 (1H, quint.), 5,44 (1H, m), 7,43-7,62 (2H, m), 8,13-8,40 (2H, m), 8,51 (1H, s), 8,69 (1H, m); LC/MS M+1 (obs.) 518,67, LC/MS M-1 (obs.) 516,81.

Ejemplo 8

5 ENSAYOS DE PLK

Los compuestos de la presente invención se evaluaron como inhibidores de PLK humana usando los siguientes ensayos.

Ensayo 1 de Inhibición de PLK1:

10 Los compuestos se exploraron con respecto a su capacidad para inhibir PLK1 usando un ensayo de incorporación de fosfato radiactivo. Los ensayos se realizaron en una mezcla de HEPES 25 mM (pH 7,5), MgCl₂ 10 mM, BSA al 0,1% y DTT 2 mM. Las concentraciones finales de sustrato fueron [γ -³³P]ATP 150 μ M (350 μ M para determinar valores <1 nM) (115 mCi de ³³P ATP/mmol de ATP, Amersham Pharmacia Biotech/Sigma Chemicals) y péptido (KKKISDELMDATFADQEAK) [SEC ID: 1] 300 μ M (450 μ M para determinar valores < 1 nM). Los ensayos se
15 realizaron a 25°C en presencia de PLK1 4 nM (1 nM para determinar los valores < 1 nM). Se preparó una solución madre de tampón de ensayo que contenía todos los reactivos indicados anteriormente, con la excepción de ATP y el compuesto de ensayo de interés. Se pusieron 30 μ l de la solución madre en una placa de 96 pocillos seguido de la adición de 2 μ l de solución madre en DMSO que contenía diluciones en serie del compuesto de ensayo (típicamente, partiendo de una concentración final de 10 μ M con diluciones seriadas de 2 veces) por duplicado (concentración final de DMSO del 5%). La placa se pre-incubó durante 10 minutos a 25°C y la reacción se inició por la adición de 8 μ l de
20 [γ -³³P]ATP (concentración final 150 μ M (350 μ M para determinar los valores < 1 nM)).

La reacción se detuvo después de 90 minutos (240 minutos para determinar los valores < 1 nM) mediante la adición de 100 μ l de ácido fosfórico 0,14 M. Una placa de 96 pocillos de filtro de fosfocelulosa Multiscreen (Millipore, n° de Cat. MAPHN0B50) se pretrató con 100 μ l de ácido fosfórico 0,2 M antes de la adición de 125 μ l de la mezcla de ensayo inactivada. La placa se lavó con 4 x 200 μ l de ácido fosfórico 0,2 M. Después del secado, se añadieron 100
25 μ l de cóctel de centelleo líquido Optiphase "SuperMix" (Perkin Elmer) al pocillo antes del recuento de centelleo (1450 Microbeta Liquid Scintillation Counter, Wallac).

Después de retirar los valores medio de fondo para todos los puntos de datos, se calcularon los datos de Ki(ap) a partir del análisis de regresión no lineal de los datos de velocidad inicial usando el paquete de software Prism (GraphPad Prism versión 3.0cx para Macintosh, GraphPad Software, San Diego California, USA).

30 En general, los compuestos de la invención son eficaces para la inhibición de PLK1, los Compuestos I-2, I-4 e I-6 mostraron un valor de Ki menor de 1 nM en el ensayo de incorporación radiactiva. Se prevé que todos los demás compuestos de esta solicitud tengan un valor menor de 10 nM en el ensayo de incorporación radiactiva.

Ensayo 2 de Inhibición de PLK1:

35 Los compuestos se exploraron con respecto a su capacidad de inhibir PLK1 usando un ensayo de incorporación de fosfato radiactivo. Los ensayos se realizaron en una mezcla de HEPES 25 mM (pH 7,5), MgCl₂ 10 mM y DTT 1 mM. Las concentraciones finales de sustrato fueron [γ -³³P]ATP 50 μ M (136 mCi de ³³P ATP/mmol de ATP, Amersham Pharmacia-Biotech/Sigma Chemicals) y péptido 10 μ M (proteína SAM68 Δ 332-443). Los ensayos se realizaron a 25°C en presencia de PLK1 (A20-K338) 15 nM. Se preparó una solución madre tampón de ensayo que contenía todos los reactivos indicados anteriormente, con la excepción de ATP y el compuesto de ensayo de interés. Se
40 pusieron 30 μ l de la solución madre en una placa de 96 pocillos seguido de la adición de 2 μ l de solución madre en DMSO que contenía diluciones en serie del compuesto de ensayo (típicamente, partiendo de una concentración final de 10 μ M con diluciones en serie de 2 veces) por duplicado (concentración final de DMSO del 5%). La placa se pre-incubó durante 10 minutos a 25°C y la reacción se inició por la adición de 8 μ l de [γ -³³P]ATP (concentración final 50 μ M).

45 La reacción se detuvo después de 60 minutos por la adición de 100 μ l de ácido fosfórico 0,14 M. Una placa de 96 pocillos de filtro de fosfocelulosa Multiscreen (Millipore, n° de Cat. MAPHN0B50) se pretrató con 100 μ l de ácido fosfórico 0,2 M antes de la adición de 125 μ l de la mezcla de ensayo inactivada. La placa se lavó con 4 x 200 μ l de ácido fosfórico 0,2 M. Después del secado, se añadieron 100 μ l de cóctel de centelleo líquido Optiphase "SuperMix" (Perkin Elmer) al pocillo antes del recuento de centelleo (1450 Microbeta Liquid Scintillation Counter, Wallac).

50 Después de retirar los valores de fondo medios para todos los puntos de datos, los datos de Ki(ap) se calcularon a partir del análisis de regresión no lineal de los datos de velocidad inicial usando el paquete de software Prism (GraphPad Prism versión 3.0cx para Macintosh, GraphPad Software, San Diego California, USA).

Ensayo de Inhibición de PLK2:

Los compuestos se exploraron con respecto a su capacidad de inhibir PLK2 usando un ensayo de incorporación de fosfato radiactivo. Los ensayos se realizaron en una mezcla de HEPES 25 mM (pH 7,5), MgCl₂ 10 mM, BSA al 0,1% y DTT 2 mM. Las concentraciones finales de sustrato fueron [γ -33P]ATP 200 μ M (57 mCi de 33P ATP/mmol de ATP, Amersham Pharmacia Biotech/Sigma Chemicals) y péptido (KKKISDELMDATFADQEAK) [SEC ID: 1] 300 μ M. Los ensayos se realizaron a 25°C en presencia de PLK2 25 nM. Se preparó una solución madre de tampón de ensayo que contenía todos los reactivos indicados anteriormente con la excepción de ATP y el compuesto de ensayo de interés. Se pusieron 30 μ l de la solución madre en una placa de 96 pocillos seguido de la adición de 2 μ l de solución madre en DMSO que contenía diluciones en serie del compuesto de ensayo (partiendo típicamente de una concentración final de 10 μ M con diluciones en serie de 2 veces) por duplicado (concentración final de DMSO del 5%). La placa se pre-incubó durante 10 minutos a 25°C y la reacción se inició por la adición de 8 μ l de [γ -33P]ATP (concentración final 200 μ M).

La reacción se detuvo después de 90 minutos por la adición de 100 μ l de ácido fosfórico 0,14 M. Una placa de 96 pocillos de filtro de fosfocelulosa Multiscreen (Millipore, n° de Cat. MAPHN0B50) se pretrató con 100 μ l de ácido fosfórico 0,2 M antes de la adición de 125 μ l de la mezcla de ensayo inactivada. La placa se lavó con 4 x 200 μ l de ácido fosfórico 0,2 M. Después del secado, se añadieron 100 μ l de cóctel de centelleo líquido Optiphase "SuperMix" (Perkin Elmer) al pocillo antes del recuento de centelleo (1450 Microbeta Liquid Scintillation Counter, Wallac).

Después de retirar los valores medios de fondo para todos los puntos de datos, se calcularon los datos de Ki(app) a partir del análisis de regresión no lineal de los datos de partida iniciales usando el paquete de software Prism (GraphPad Prism versión 3.0cx para Macintosh, GraphPad Software, San Diego California, USA).

Ensayo de Inhibición de PLK3:

Los compuestos se exploraron con respecto a su capacidad de inhibir PLK2 usando un ensayo de incorporación de fosfato radiactivo. Los ensayos se realizaron en una mezcla de HEPES 25 mM (pH 7,5), MgCl₂ 10 mM, BSA al 0,1% y DTT 2 mM. Las concentraciones finales de sustrato fueron [γ -33P]ATP 75 μ M (60 mCi de 33P ATP/mmol de ATP, Amersham Pharmacia Biotech/Sigma Chemicals) y péptido (proteína SAM68 Δ 332-443) 10 μ M. Los ensayos se realizaron a 25°C en presencia de PLK3 (S38-A340) 5 nM. Se preparó una solución madre de tampón de ensayo que contenía todos los reactivos indicados anteriormente con la excepción de ATP y el compuesto de ensayo de interés. Se pusieron 30 μ l de la solución madre en una placa de 96 pocillos seguido de la adición de 2 μ l de solución madre en DMSO que contenía diluciones en serie del compuesto de ensayo (partiendo típicamente de una concentración final de 10 μ M con diluciones en serie de 2 veces) por duplicado (concentración final de DMSO del 5%). La placa se pre-incubó durante 10 minutos a 25°C y la reacción se inició por la adición de 8 μ l de [γ -33P]ATP (concentración final 75 μ M).

La reacción se detuvo después de 90 minutos por la adición de 100 μ l de ácido fosfórico 0,14 M. Una placa de 96 pocillos de filtro de fosfocelulosa Multiscreen (Millipore, n° de Cat. MAPHN0B50) se pretrató con 100 μ l de ácido fosfórico 0,2 M antes de la adición de 125 μ l de la mezcla de ensayo inactivada. La placa se lavó con 4 x 200 μ l de ácido fosfórico 0,2 M. Después del secado, se añadieron 100 μ l de cóctel de centelleo líquido Optiphase "SuperMix" (Perkin Elmer) al pocillo antes del recuento de centelleo (1450 Microbeta Liquid Scintillation Counter, Wallac).

Después de retirar los valores medios de fondo para todos los puntos de datos, se calcularon los datos de Ki(ap) a partir del análisis de regresión no lineal de los datos de partida iniciales usando el paquete de software Prism (GraphPad Prism versión 3.0cx para Macintosh, GraphPad Software, San Diego California, USA).

Ensayo de Inhibición de PLK4:

Los compuestos se exploraron con respecto a su capacidad de inhibir PLK2 usando un ensayo de incorporación de fosfato radiactivo. Los ensayos se realizaron en una mezcla de MOPS 8 mM (pH 7,5), MgCl₂ 10 mM, BSA al 0,1% y DTT 2 mM. Las concentraciones finales de sustrato fueron [γ -33P]ATP 15 μ M (227 mCi de 33P ATP/mmol de ATP, Amersham Pharmacia Biotech/Sigma Chemicals) y péptido (KKKMDATFADQ) [SEC ID: 2] 10 μ M. Los ensayos se realizaron a 25°C en presencia de PLK4 25 nM. Se preparó una solución madre de tampón de ensayo que contenía todos los reactivos indicados anteriormente con la excepción de ATP y el compuesto de ensayo de interés. Se pusieron 30 μ l de la solución madre en una placa de 96 pocillos seguido de la adición de 2 μ l de solución madre en DMSO que contenía diluciones en serie del compuesto de ensayo (partiendo típicamente de una concentración final de 10 μ M con diluciones en serie de 2 veces) por duplicado (concentración final de DMSO del 5%). La placa se pre-incubó durante 10 minutos a 25°C y la reacción se inició por la adición de 8 μ l de [γ -33P]ATP (concentración final 15 μ M).

La reacción se detuvo después de 180 minutos por la adición de 100 μ l de ácido fosfórico 0,14 M. Una placa de 96 pocillos de filtro de fosfocelulosa Multiscreen (Millipore, n° de Cat. MAPHN0B50) se pretrató con 100 μ l de ácido

fosfórico 0,2 M antes de la adición de 125 µl de la mezcla de ensayo inactivada. La placa se lavó con 4 x 200 µl de ácido fosfórico 0,2 M. Después del secado, se añadieron 100 µl de cóctel de centelleo líquido Optiphase "SuperMix" (Perkin Elmer) al pocillo antes del recuento de centelleo (1450 Microbeta Liquid Scintillation Counter, Wallac).

5 Después de retirar los valores medios de fondo para todos los puntos de datos, se calcularon los datos de $K_i(\text{app})$ a partir del análisis de regresión no lineal de los datos de partida iniciales usando el paquete de software Prism (GraphPad Prism versión 3.0cx para Macintosh, GraphPad Software, San Diego California, USA).

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> vertex Pharmaceuticals Incorporated

10 <120> Compuestos útiles como Inhibidores de Proteína Quinasas

<130> 125805/00395

- <160> 2

15

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 19

20

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido generado sintéticamente

25

<400> 1

Lys Lys Lys Ile Ser Asp Glu Leu Met Asp Ala Thr Phe Ala Asp Gln
1 5 10 15

Glu Ala Lys

<210> 2

<211> 11

30

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido generado sintéticamente

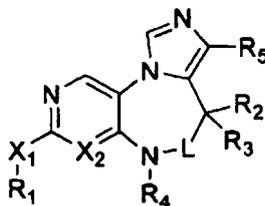
35

<400> 2

Lys Lys Lys Met Asp Ala Thr Phe Ala Asp Gln
1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:

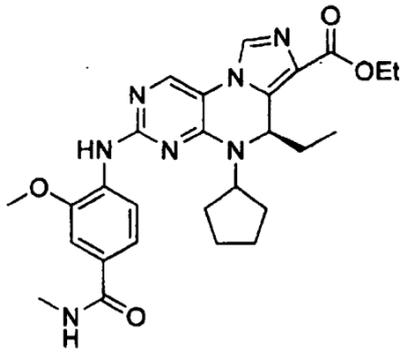


I

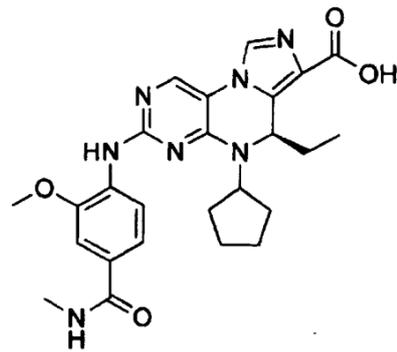
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en la que:

- 5 X^1 es un enlace, O, NR^8 , S, SO o SO_2 ;
 X^2 es N o CH;
 R^1 es H, alifático C_{1-10} , cicloalifático C_{3-10} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros; en la que dicho R^1 está opcionalmente sustituido con 0-5 J^1 ;
 10 cada R^2 y R^3 es independientemente H, alifático C_{1-10} o cicloalifático C_{3-10} ; en la que cada R^2 y R^3 está sustituido opcional e independientemente con 0-5 J^2 y J^3 respectivamente; y
 R^2 y R^3 , junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N, y S; dicho anillo monocíclico formado por R^2 y R^3 está opcionalmente sustituido con 0-4 J^{23} ;
- 15 R^4 es H, $C(O)R$, $C(O)OR$ o $C(O)NRR'$, alifático C_{1-10} , cicloalifático C_{3-10} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, -(alifático C_{1-6})-(cicloalifático C_{3-10}), -(alifático C_{1-6})-(arilo C_{6-10}) o -(alifático C_{1-6})-(heteroarilo de 5 a 10 miembros); y R^4 está opcionalmente sustituido con 0-5 J^4 ; o
 R^2 y R^4 , junto con los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S; dicho anillo monocíclico formado por R^2 y R^4 está opcionalmente sustituido con 0-4 J^{24} ;
- 20 R^5 es H, CO_2R , CH_2OR , $CONR_2$, CN, F o CF_3 ;
 L es un enlace o $-C(R^6)(R^7)-$;
 cada R^6 y R^7 es independientemente H, alifático C_{1-10} o cicloalifático C_{3-10} ; en el que cada R^6 y R^7 está sustituido opcional e independientemente con 0-5 J^6 y J^7 respectivamente; o
 R^6 y R^7 , junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S; dicho anillo monocíclico formado por R^6 y R^7 está opcionalmente sustituido con 0-4 J^{67} ; o
- 30 R^2 y R^6 , junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S; dicho anillo monocíclico formado por R^2 y R^6 está opcionalmente sustituido con 0-4 J^{26} ; o
 R^4 y R^6 , junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados cada uno de ellos independientemente entre O, N y S; dicho anillo monocíclico formado por R^4 y R^6 está opcionalmente sustituido con 0-4 J^{46} ;
- 35 R^8 es H, alifático C_{1-6} , cicloalifático C_{3-8} , $C(O)R$, $C(O)OR$ o $C(O)NRR'$; o cada J^1 es independientemente haloalquilo C_{1-6} , halo, NO_2 , CN, Q o -Z- Q; o dos J^1 tomados juntos pueden formar opcionalmente =O;
 Z es alifático C_{1-6} opcionalmente reemplazado con 0-3 apariciones de -NR-, -O-, -S-, -C(O)-, -C(=NR)-, -C(=NOR)-, -SO- o - SO_2 -; cada Z está opcionalmente sustituido con 0-2 J^z ;
- 40 Q es H; alifático C_{1-6} ; un anillo monocíclico aromático o no aromático de 3 a 8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente entre O, N y S; o un sistema de anillos bicíclico aromático o no aromático de 8-12 miembros, teniendo cada uno 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente entre O, N y S; cada Q está opcionalmente sustituido con 0-5 J^Q ; cada J^2 , J^3 , J^6 y J^7 es independientemente alifático C_{1-6} , cicloalifático C_{3-6} o -(alquil C_{1-4}) $_n$ - V^1 ; en el que n es 0 ó 1; V^1 es halo (alifático C_{1-4}), -O(haloalifático C_{1-4}), halo, NO_2 , CN, OH, OR", SH, SR", NH_2 , $NHR"$, $N(R")_2$, COH, COR", CO_2H , $CO_2R"$, $CONH_2$, $CONHR"$, $CONR"2$, $OCOR"$, $OCONH_2$, $OCONHR"$, $OCON(R")_2$, $NHCOR"$, $NR"COR"$, $NHCO_2R"$, $NR"CO_2R"$, $NHCO_2H$, $NR"CO_2H$, $NHCONH_2$, $NHCONHR"$, $NHCON(R")_2$, SO_2NH_2 , $SO_2NHR"$, $SO_2N(R")_2$, $NHSO_2R"$ o $NR"SO_2R"$; o V^1 es un grupo cíclico seleccionado entre cicloalifático C_{3-6} , fenilo, heteroarilo de 5 a 6 miembros o heterociclilo de 3 a 6 miembros; en el que dicho grupo cíclico está opcionalmente sustituido con 0-3 J^V ; $R"$ es alifático C_{1-4} sin

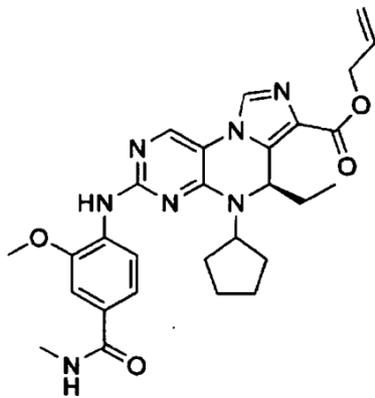
- sustituir; o dos de J^2 , J^3 , J^6 y J^7 iguales, unidos al mismo átomo, juntos pueden formar opcionalmente =O; cada J^2 y J^3 es independientemente halo, alifático C_{1-6} , cicloalifático C_{3-6} , NO_2 , CN, $-NH_2$, $-NH$ (alifático C_{1-4}), $-N$ (alifático C_{1-4})₂, $-OH$, $-O$ (alifático C_{1-4}), $-CO_2H$, $-CO_2$ (alifático C_{1-4}), $-O$ (haloalifático C_{1-4}) o halo(alifático C_{1-4}); cada J^4 , J^5 , J^{23} , J^{24} , J^{67} , J^{26} y J^{46} es independientemente M o $-Y-M$;
- 5 cada Y es independientemente un alifático C_{1-6} opcionalmente reemplazado con 0-3 apariciones de $-NR-$, $-O-$, $-S-$, $-C(O)-$, $-SO-$ o $-SO_2-$;
- cada M es independientemente H, alifático C_{1-6} , cicloalifático C_{3-6} , halo(alifático C_{1-4}), $-O$ (haloalifático C_{1-4}), heterociclilo de 3 a 6- miembros, halo, NO_2 , CN, OH, OR', SH, SR', NH_2 , NHR', $N(R')_2$, COH, COR', CO_2H , CO_2R' , CONH₂, CONHR', CONR'₂, OCOR', OCONH₂, OCONHR', OCON(R')₂, NHCOR', NR'COR',
- 10 R NHCO₂R', NR' CO₂R', NHCO₂H, NR'CO₂H, NHCONH₂, NHCONHR', NHCON(R')₂, SO₂NH₂, SO₂NHR', SO₂N(R')₂, NHSO₂R' o NR'SO₂R'; es H o alifático C_{1-6} sin sustituir; y R' es alifático C_{1-6} sin sustituir; o dos grupos R', junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 miembros que tiene 0-1 cada uno seleccionado independientemente entre O, N y S.
- 15 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que X^1 es O, NR⁸, o S.
3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que X^1 es NR⁸.
4. El compuesto una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que X^2 es N.
5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que R¹ es arilo C_{6-10} opcionalmente sustituido arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido de 5 a 10 miembros.
- 20 6. El compuesto de la reivindicación 5, en el que cada R¹ es arilo C_{6-10} opcionalmente sustituido.
7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que R⁴ es cicloalifático C_{3-10} .
8. El compuesto de las reivindicaciones 1-7, en el que R⁵ es H o CO₂R.
9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que uno de R² y R³ es H y el otro es alifático C_{1-6} opcionalmente sustituido o cicloalifático C_{3-8} opcionalmente sustituido.
- 25 10. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que R⁸ es H.
11. El compuesto de la reivindicación 1, en el que:
- L es un enlace;
 X^2 es N;
R¹ es arilo C_{6-10} opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido de 5-10 miembros; y
- 30 cada R² y R³ es independientemente H, alifático C_{1-10} o cicloalifático C_{3-10} ; en los que cada R² y R³ está opcionalmente sustituido con 0-5 J^2 y J^3 respectivamente; o R² y R³, junto con el átomo de carbono al que están unidos, pueden formar un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 6 miembros.
12. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que:
- 35 cada J^2 y J^3 es independientemente alifático C_{1-6} , cicloalifático C_{3-6} o $-(alquil\ C_{1-4})_n-V^1$; en el que n es 0 ó 1; V¹ es halo (alifático C_{1-4}), $-O$ (haloalifático C_{1-4}), halo, NO_2 , CN, OH, OR", SH, SR", NH_2 , NHR", $N(R")_2$, COH, COR", CO_2H , $CO_2R"$, CONH₂, CONHR", CONR"₂, OCOR", OCONH₂, OCONHR", OCON(R")₂, NHCOR", NR"COR", NHCO₂R", NR"CO₂R", NHCO₂H, NR"CO₂H, NHCONH₂, NHCONHR", NHCON(R")₂, SO₂NH₂, SO₂NHR", SO₂N(R")₂, NHSO₂R", o NR"SO₂R"; R" es alifático C_{1-4} sin sustituir;
- 40 o dos de J^3 , J^4 , J^5 o J^6 iguales, unidos al mismo átomo, pueden formar juntos opcionalmente =O.
13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado entre los siguientes:



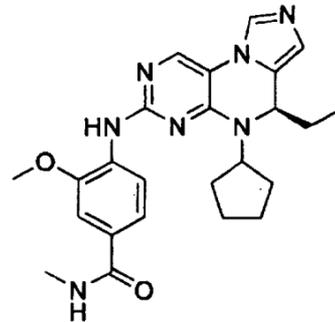
(I-1),



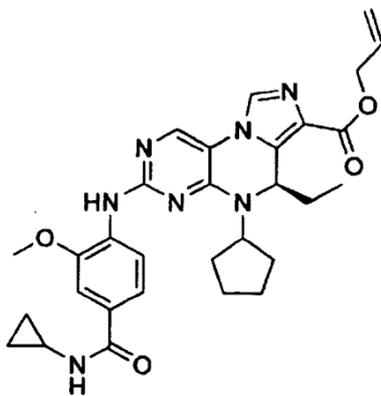
(I-2),



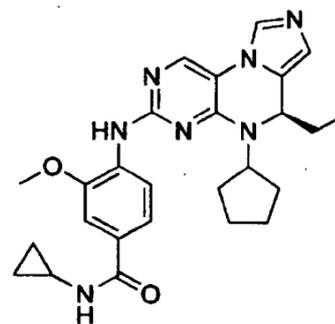
(I-3),



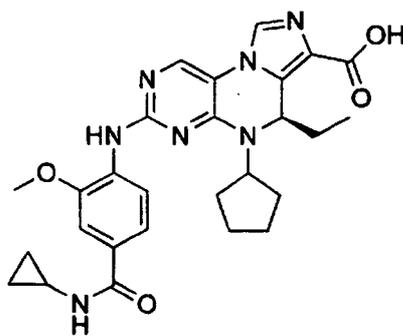
(I-4),



(I-5),



(I-6),



(I-7),

o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

14. Una composición que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13 y un transportador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.
15. El uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13 en la fabricación de un medicamento para inhibir la actividad proteína quinasa en un paciente.
- 5 16. Un procedimiento para inhibir la actividad proteína quinasa en una muestra biológica *in vitro*, que comprende poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13.
17. El uso de la reivindicación 15 o el procedimiento de la reivindicación 16, en el que dicha proteína quinasa es PLK1.
- 10 18. El uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13 en la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno proliferativo, un trastorno neurodegenerativo, un trastorno autoinmune, un trastorno inflamatorio o un trastorno mediado inmunológicamente en un paciente.
- 15 19. El uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13 en la fabricación de un medicamento para tratar melanoma, mieloma, leucemia, linfoma, neuroblastoma o un cáncer seleccionado de cáncer de colon, mama, gástrico, ovárico, cervical, pulmonar, del sistema nervioso central (SNC), renal, de próstata, de vejiga o pancreático, en un paciente que lo necesita.
20. El uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13 en la fabricación de un medicamento para tratar cáncer en un paciente que lo necesita.