

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 371 832**

51 Int. Cl.:  
**C07D 471/18** (2006.01)  
**C07D 487/04** (2006.01)  
**C07D 487/18** (2006.01)  
**A61K 31/551** (2006.01)  
**A61K 31/5517** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08717594 .9**  
96 Fecha de presentación: **11.03.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2139892**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.01.2010**

54 Título: **PIRIMODIAZEPINAS SUSTITUIDAS ÚTILES COMO INHIBIDORES DE PLK1.**

30 Prioridad:  
**22.03.2007 US 919358 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**10.01.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**10.01.2012**

73 Titular/es:  
**TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED**  
**1-1, DOSHOMACHI 4-CHOME**  
**CHUO-KU OSAKA SHI OSAKA 541-0005, JP**

72 Inventor/es:  
**CAI, Jianping;**  
**CHEN, Shaoqing;**  
**CHU, Xin-Jie;**  
**LE, Kang;**  
**LUK, Kin-Chun Thomas y**  
**WOVKULICH, Peter Michael**

74 Agente: **Curell Aguilá, Mireya**

**ES 2 371 832 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

Pirimidodiazepinas sustituidas útiles como inhibidores de PLK1.

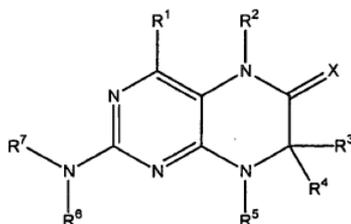
5 La PLK1 es un miembro de la familia de cinasas similares a Polo. Las cinasas similares a Polo están muy conservadas desde las levaduras hasta los seres humanos y ejercen varias funciones en la transición de la fase G2/M y en el paso a través de la fase mitótica del ciclo celular. Cuatro cinasas similares a Polo, PLK1, PLK2 (Snk), PLK3 (Fnk) y PLK4 se han identificado en los seres humanos. Estas proteínas comparten homologías extensas a lo largo de sus dominios cinasa, en cajas "Polo" C-terminales. utilizando anticuerpos neutralizantes, oligos antisentido y proteína dominante negativa, se mostró que PLK1 es esencial para la mitosis en células cultivadas in vitro. Además, parece que la regulación a la baja de PLK1 tiene efectos diferenciales en las células tumorales frente a las "normales" porque la ablación de PLK1 indujo la catástrofe mitótica y muerte celular eventual en las células tumorales y, sin embargo, la parada en G2 en las células "normales". Una posible explicación es que las células tumorales son defectuosas en controles de puntos de control y no pueden funcionar y así experimentan la catástrofe mitótica. Las funciones de PLK2, PLK3 y PLK4 permanecen sin dilucidar.

15 La expresión de PLK1 está restringida a los tejidos proliferativos. La sobreexpresión de PLK1 se detectó en tumores sólidos de varios orígenes (mama, pulmón, colon, estómago, ovario, músculo liso y esófago) y en linfomas no Hodgkin. Además, PLK1 tienen actividad transformante; la expresión constitutiva de PLK1 en células NIH3T3 causa la formación de focos oncogénicos, las células transformadas crecen en agar blando y forman tumores en ratones desnudos. Por lo tanto, el bloqueo de la actividad cinasa de PLK1 por una pequeña molécula inhibidora representa una nueva estrategia para establecer como diana la mitosis y puede diferenciarse claramente de otros agentes que establecen como diana la mitosis en el mercado tales como los que se unen a la tubulina.

Otras terapias que implican la alteración de la formación y la degradación de microtúbulos mediante la utilización de taxanos y alcaloides de vinca se han convertido en vías exitosas para tratar el cáncer. Algunas células cancerosas pueden eludir el efecto de parada del ciclo celular en G2/M de los taxanos y los alcaloides de vinca. La inhibición de PLK1 proporciona unos medios para tomar como diana las células que pueden eludir el efecto de parada del ciclo celular en G2/M de los taxanos y los alcaloides de vinca.

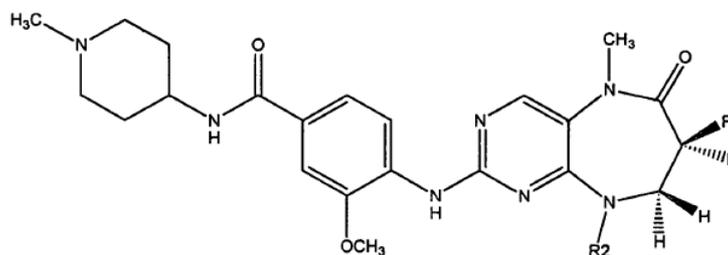
El documento WO 01/19828 describe los compuestos bicíclicos y su utilización como inhibidores de cinasa.

El documento WO 03/020722 describe las dihidropteridinonas de fórmula:



30 y su utilización como medicamentos.

Según un primer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto inhibidor de PLK1 de fórmula I:



en la que

R2 se selecciona de entre el grupo constituido por ciclopentilo y ciclohexilo,

35 y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otro aspecto, la invención se refiere a los compuestos de Fórmula I en la que R2 es ciclopentilo.

"Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales de adición de ácido o sales de adición de base convencionales que retienen la eficacia y propiedades biológicas de los compuestos de la presente invención y se forman a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos o bases orgánicas o inorgánicas no tóxicos adecuados. Las sales de adición de ácido de muestra incluyen las obtenidas a partir de ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido sulfámico, ácido fosfórico y ácido nítrico y las obtenidas a partir de ácidos orgánicos tales como ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido málico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido trifluoroacético y semejantes. Las sales de adición de base de muestra incluyen las obtenidas a partir de amonio, potasio, sodio e hidróxidos de amonio cuaternario, tales como por ejemplo, hidróxido de tetrametilamonio. La modificación química de un compuesto farmacéutico (es decir, fármaco) en una sal es una técnica muy conocida para los químicos farmacéuticos para obtener estabilidad física y química, higroscopicidad, fluidez y solubilidad mejoradas de los compuestos.

"Farmacéuticamente aceptable", tal como vehículo, excipiente, etc., farmacéuticamente aceptable, significa farmacológicamente aceptable y sustancialmente no tóxico para el sujeto al que se le administra el compuesto particular.

"Sustituido", como en arilo o heteroarilo sustituido, significa que la sustitución puede ocurrir en una o más posiciones y, a no ser que se indique de otra manera, que los sustituyentes en cada sitio de sustitución se seleccionan independientemente de las opciones especificadas.

"Cantidad terapéuticamente eficaz o cantidad eficaz" significa una cantidad de por lo menos un compuesto designado que inhibe significativamente la proliferación y/o evita la diferenciación de una célula tumoral humana, incluyendo las líneas celulares tumorales humanas.

Los compuestos de la presente invención son útiles en el tratamiento o control de los trastornos proliferativos celulares, particularmente trastornos oncológicos. Estos compuestos y formulaciones que contienen dichos compuestos pueden ser útiles en el tratamiento o control de tumores sólidos, tal como, por ejemplo, tumores de mama, colon, pulmón y próstata y otras enfermedades oncológicas tales como linfomas no Hodgkin.

Los compuestos de fórmula I así como sus sales tienen por lo menos un átomo de carbono asimétrico y, por lo tanto, pueden estar presentes como mezclas de diferentes estereoisómeros. Los diferentes isómeros pueden aislarse por métodos de separación conocidos, por ejemplo, cromatografía.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la presente invención significa una cantidad de compuesto que es eficaz para prevenir, paliar o mejorar los síntomas de la enfermedad o prolongar la supervivencia del sujeto que se está tratando. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz resultará evidente para el experto en la materia.

La cantidad o dosificación terapéuticamente eficaz de un compuesto según la presente invención puede variar dentro de límites amplios y puede determinarse de una manera conocida en la técnica. Dicha dosificación se ajustará a los requerimientos individuales en cada caso particular incluyendo el o los compuestos específicos que se están administrando, la ruta de administración, la afección que se está tratando, así como el paciente que se está tratando. En general, en el caso de administración oral o parenteral a seres humanos adultos que pesan aproximadamente 70 Kg, sería apropiada una dosificación diaria de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 10.000 mg, preferentemente de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 1.000 mg, aunque el límite superior puede excederse cuando se indique. La dosificación diaria puede administrarse como una dosis única o en dosis divididas, o para administración parenteral, puede proporcionarse como una o más inyecciones en bolo o como una infusión continua.

Las preparaciones farmacéuticas útiles en la práctica de la invención, es decir, que comprenden los compuestos de la invención, pueden administrarse internamente, tal como oralmente (por ejemplo, en forma de comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas de gelatina duras y blandas, disoluciones, emulsiones o suspensiones), nasalmente (por ejemplo, en forma de pulverizadores nasales) o rectalmente (por ejemplo, en forma de supositorios). Sin embargo, la administración también puede efectuarse parenteralmente, tal como intramuscularmente o intravenosamente (por ejemplo, en forma de disoluciones de inyección). Además, la administración puede efectuarse tópicamente (por ejemplo, en forma de pomadas, cremas o aceites).

Los compuestos de fórmula (I) y sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables pueden procesarse con adyuvantes inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente inertes, para la producción de comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas y cápsulas de gelatina dura. Como dichos adyuvantes para comprimidos, grageas y cápsulas de gelatina dura pueden usarse, por ejemplo, lactosa, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, celulosa microcristalina, almidón de maíz o derivados de éstos, talco, ácido esteárico o sus sales etc.

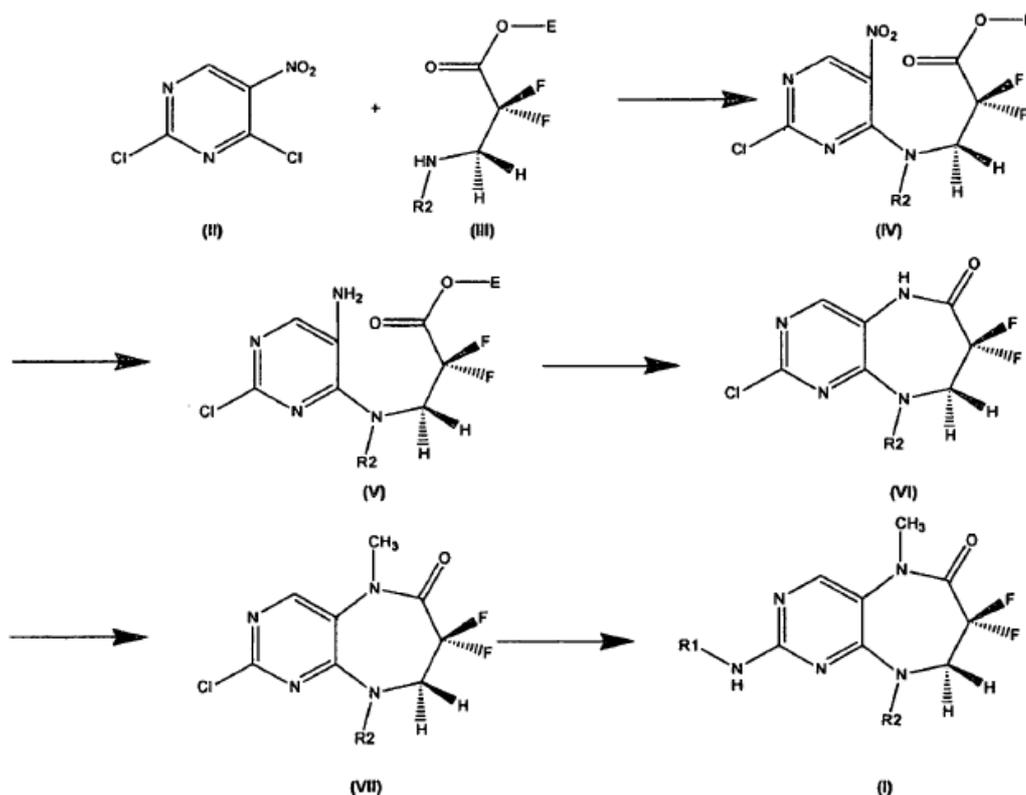
Los adyuvantes adecuados para cápsulas de gelatina blanda son, por ejemplo, aceites vegetales, ceras, grasas, sustancias semisólidas y polioles líquidos, etc. Los adyuvantes adecuados para la producción de disoluciones y jarabes son, por ejemplo, agua, polioles, sacarosa, azúcar invertido, glucosa, etc. Los adyuvantes adecuados para

5 las disoluciones de inyección son, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales, etc. Los adyuvantes adecuados para los supositorios son, por ejemplo, aceites naturales o endurecidos, ceras, grasas, polioles semisólidos o líquidos, etc. Los adyuvantes adecuados para las preparaciones tópicas son glicéridos, glicéridos semisintéticos y sintéticos, aceites hidrogenados, ceras líquidas, parafinas líquidas, alcoholes grasos líquidos, esteroides, polietilén glicoles y derivados de celulosa.

Además, las preparaciones farmacéuticas pueden contener conservantes, solubilizadores, sustancias que incrementan la viscosidad, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, saporíferos, sales para variar la presión osmótica, tampones, agentes de enmascaramiento o antioxidantes. También pueden contener otras sustancias terapéuticas.

Los métodos generales para la preparación de los compuestos de Fórmula I se proporcionan en el esquema 1. Brevemente, el proceso implica la formación de 2-cloro-5-nitropirimidina sustituida en 4 (IV) por el acoplamiento de un éster de beta aminoácido sustituido (III) con 2,4-dicloro-5-nitropirimidina, que se reduce al derivado amino correspondiente (V) utilizando condiciones de reducción estándar para la conversión de un grupo nitro en una amina, tal como polvo de hierro en ácido acético, cloruro de estaño (II) en ácido acético o hidrógeno sobre un catalizador en soporte, tal como paladio o níquel de Raney y se cicla a la pirimidodiazepinona (VI) en presencia o ausencia de catalizadores ácidos tal como ácido acético o ácidos minerales, tal como ácido clorhídrico o sulfúrico. La pirimidodiazepinona (VI) se alquila con reactivos alquilantes estándar tal como haluros de alquilo en presencia de una base, para formar la pirimidodiazepinona (VII). La reacción de las aminas sustituidas con pirimidodiazepinona (VII) proporciona los compuestos de fórmula I. Pueden realizarse modificaciones adicionales del grupo R1 en I para proporcionar derivados adicionales de fórmula I.

10 A) Preparación de pirimidodiazepinonas



esquema 1

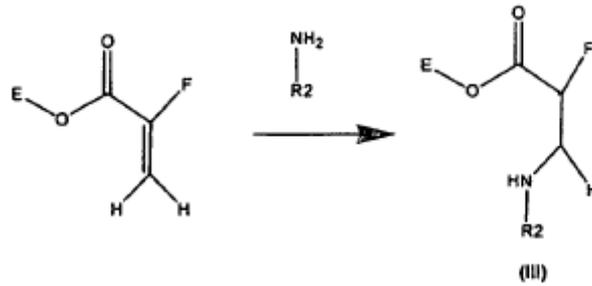
En el esquema 1, R1 es 4-carboxi-2-metoxifenil o su 1-metilpiperidin-4-ilamida.

B) Preparación de productos intermedios éster de beta aminoácidos

15 Los productos intermedios éster de beta aminoácidos (III) que no están disponibles comercialmente o que no se han descrito anteriormente en la bibliografía se prepararon por métodos descritos anteriormente que se presentan a continuación.

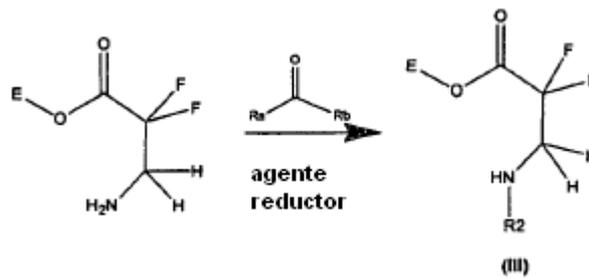
Método 1: adición de amina a derivados de acrilato.

Adaptado del método de Biggs et al.



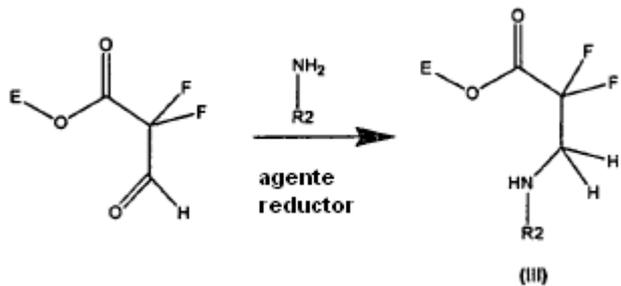
esquema 2

5 Método 2: aminación reductora de ésteres de beta aminoácidos.



esquema 3

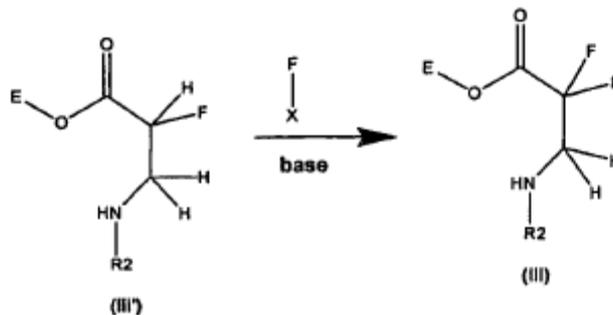
Método 3: aminación reductora de beta-ceto ésteres.



esquema 4

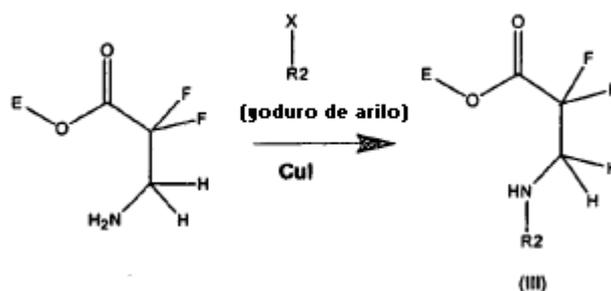
10

Método 4: alfa alquilación de ésteres de beta aminoácidos.



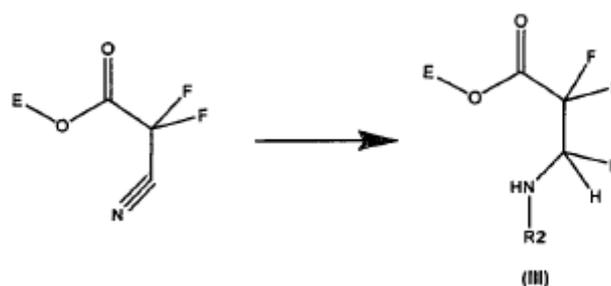
esquema 5

Método 5: arilación de ésteres de beta aminoácidos utilizando yoduros de arilo en presencia de cobre.



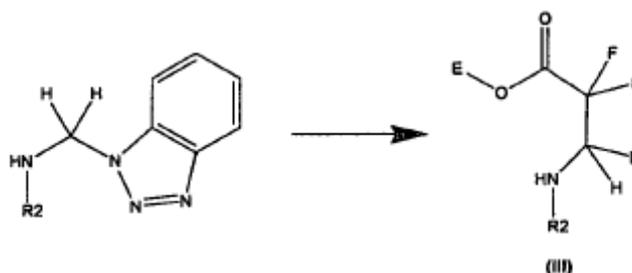
esquema 6

Método 6: reducción de ésteres de alfa-ciano aminoácidos.



esquema 7

Método 7: reacción de benzotriazol-1-metanaminas con nucleófilos.



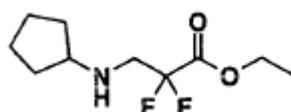
esquema 8

- 10 En los ejemplos descritos, las temperaturas se indican en grados C. Para los datos espectrales de masas, los valores se proporcionan como el ion  $MH^+/Z$  obtenido en el modo positivo, midiéndose la electropulverización en un espectrómetro de masas Micromass Platform II. A no ser que se indique de otra manera, las reacciones se realizaron generalmente bajo una atmósfera inerte (argón o nitrógeno). A no ser que se indique de otra manera, las separaciones cromatográficas se realizaron utilizando gel de sílice, las mezclas de disolventes, cuando se indican, se proporcionan como proporción de volúmenes. Las separaciones quirales se realizaron utilizando cromatografía de fluido supercrítico (Instrumento Multigram II de Berger) utilizando una columna Chiralpak Daicel OD de 3,0 x 25 cm, eluyendo con dióxido de carbono más disolvente modificador (indicado en paréntesis).
- 15

**Preparación de productos intermedios:**

**Método 7**

- 20 **Éster etílico del ácido 3-ciclopentilamino-2,2-difluoro-propanoico**



etapa a

5 A una mezcla de 2,4 g (0,02 moles) de benzotriazol y 1,98 mL (0,02 moles) de ciclopentilamina en 100 mL de éter se le añadieron gota a gota 1,5 mL (0,02 moles) de formaldehído acuoso al 37%. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. La disolución se secó sobre cloruro de calcio, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El sólido se lavó con hexano y se secó para proporcionar benzotriazol-1-ilmetil-ciclopentil-amina como un sólido blanco.

etapa b

10 A una suspensión de 4,3 g (0,066 g-átomo) de polvo de cinc en 40 mL de tetrahidrofurano se le añadieron 4,1 mL (0,032 moles) de clorotrimetilsilano. Después de agitar durante 10 minutos, se añadieron gota a gota 6,6 g (0,032 moles) de bromodifluoroacetato de etilo a temperatura ambiente. Después de 10 minutos, se añadió gota a gota una disolución de 7,0 g (0,032 moles) de benzotriazol-1-ilmetil-ciclopentil-amina en tetrahidrofurano. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y se interrumpió por la adición de carbonato de sodio acuoso saturado. La mezcla se filtró a través de Celite. El filtrado se extrajo dos veces con éter. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se destiló en vacío para proporcionar 2,77 g de éster etílico del ácido 3-ciclopentilamino-2,2-difluoro-propanoico como un aceite incoloro.

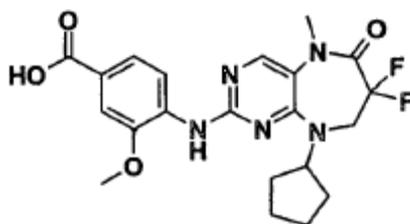
pe 75-82 grados a 10 mm Hg.

20 Los ejemplos siguientes son proporcionados a título ilustrativo de la presente invención con mayor detalle. Sin embargo, no se pretende que limiten su alcance de ninguna manera. Cuando se utiliza el número romano I en combinación con un número árabe, por ejemplo, I-1, se refiere a los compuestos presentados en la tabla 1. Los números romanos mayores de I en combinación con un número árabe indican los compuestos intermedios y se remiten a las fórmulas generales de productos intermedios en los esquemas presentados anteriormente. Por ejemplo, el compuesto indicado como IV-1 en el ejemplo 1 es el primer caso de un compuesto intermedio correspondiente a la fórmula general IV en el esquema 1 anterior.

25

#### Ejemplo de Referencia 1

**Ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-benzoico (I-100)**



etapa a

30 Una disolución de 3,6 g (0,016 moles) de éster etílico del ácido 3-ciclopentilamino-2,2-difluoro-propanoico en 3 mL de acetato de etilo se añadió durante 5 minutos a una mezcla enfriada (0 grados) de 3,2 g (0,016 moles) de 2,4-dicloro-5-nitro-pirimidina, 5,47 g (0,064 moles) de bicarbonato de sodio y 36 mL de acetato de etilo. El baño de enfriamiento se retiró y la mezcla se agitó durante 17 horas a temperatura ambiente. Se añadió carbón activado y después de agitar brevemente, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite, lavando la almohadilla del filtro con acetato de etilo. El filtrado se concentró bajo presión reducida para proporcionar 6,29 g de éster etílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-2,2-difluoro-propanoico (IV-100) como un aceite amarillo espeso, que contenía una pequeña parte de un regioisómero. Este material se usó directamente en la siguiente etapa sin más purificación.

etapa b

40 A una disolución de 6,16 g (0,016 moles) de éster metílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-2,2-difluoro-propanoico (IV-100) en 120 mL de ácido acético se le añadieron 6,0 g (0,11 g-átomo) de polvo de hierro. La mezcla se calentó hasta 80 grados durante 2 horas y se filtró en caliente. Se añadieron agua y acetato de etilo al filtrado y la mezcla se agitó durante 10 minutos y se filtró. Las capas se separaron. La capa orgánica se lavó sucesivamente con hidróxido de amonio y agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró bajo presión reducida. La recrystalización del residuo con acetato de etilo y hexano proporcionó 2,94 g de 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-difluoro-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (VI-100).

45

etapa c

5 A una disolución de 1,4 g (0,0046 moles) de 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-difluoro-5,7,8,9-tetrahidro-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (**VI-100**) en 30 mL de dimetilformamida se le añadieron 2,27 g (0,0069 moles) de carbonato de cesio, seguido de 0,87 mL (0,014 moles) de yodometano. Después de agitar cuatro horas, la mezcla se filtró y se concentró bajo presión reducida. Se añadió agua helada al residuo para proporcionar un precipitado. El sólido se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó en vacío para proporcionar 1,37 g de 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (**VII-100**) como un sólido blanco.

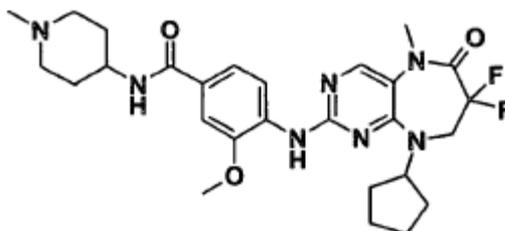
etapa d

10 Una mezcla de 1,0 g (0,0032 moles) de 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (**VII-100**) y 0,63 g (0,0038 moles) de ácido 4-amino-3-metoxi-benzoico en 76 mL de etanol-agua-ácido clorhídrico (20:80:1) se calentó a reflujo durante 18 horas, se enfrió y se concentró parcialmente bajo presión reducida. El sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó para proporcionar 0,92 g de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-benzoico (**I-100**) que se usó sin más purificación en las etapas posteriores.

15

### Ejemplo 1

#### 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida (**I-101**)



20 A una mezcla de 0,10 g (0,00022 moles) de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-benzoico (**I-100**), 0,16 mL (0,00090 moles) de etildisopropil amina y 0,028 g (0,00025 moles) de 4-amino-1-metil-piperidina en 3,0 mL de dimetilformamida se le añadieron 0,11 g (0,00025 moles) de hexafluorofosfato de 1-(di-1-pirrolidinilmetileno)-1H-benzotriazolío-3-óxido. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y se diluyó con 10 mL de agua helada. El sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con carbonato de sodio saturado y agua y se secó en vacío. La purificación por cromatografía en gel de sílice, eluyendo con diclorometano-metanol (100:0-90:10) proporcionó 0,057 g de 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida como un sólido blanco (**I-101**).

25

#### Ensayo de caracterización bioquímica

30 La GST-PLK1 activa de longitud completa se purifica de células de insecto Sf9 y la GST-p53 de longitud completa se purifica de E. coli. El anticuerpo anti-fosfo p53 es de Cell Signaling Technology. El anticuerpo anticonejo conjugado con europio es de PerkinElmer Life y Analytical Sciences. El anticuerpo anti-GST conjugado con APC es de Prozyme.

35 Para ensayar los compuestos de la invención, se añaden dos microlitros del compuesto de ensayo (0,6 nM-4 mM) en DMSO o DMSO solo para los pocillos control, 38 microlitros de 20 mM HEPES pH 7, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 mM TCEP, 0,1 mM ortovanadato de sodio, 0,1 mg/mL BSA y 0,05% Tritón X-100 (tampón del ensayo cinasa). Se añaden ocho microlitros de la disolución del compuesto a una placa de microtitulación negra de 384 pocillos, seguido de seis microlitros de GST-p53 (17 µg/mL) y ATP (333 µM) en tampón del ensayo cinasa. Se añaden seis microlitros de GST-PLK1 (3 µg/mL) en tampón del ensayo cinasa y la disolución se incuba a 37°C durante 35 minutos. Se añaden seis microlitros de disolución que contiene 43 mM EDTA para interrumpir la reacción y una dilución 1:600 de anticuerpo anti-fosfo-p53 en 20 mM HEPES pH 7, 50 mM NaCl y 0,5 mg/mL BSA (tampón de unión de anticuerpo) y la disolución se incuba a 37°C durante 30 minutos. Se añaden seis microlitros de disolución que contiene 9 nM de anticuerpo anticonejo conjugado con europio y 120 nM de anticuerpo anti-GST conjugado con APC en tampón de unión de anticuerpo y la mezcla se incuba a temperatura ambiente durante 1,5 horas. La señal de HTRF se lee en un lector Envision de PerkinElmer Life y Analytical Sciences. La clave para los intervalos de IC<sub>50</sub> es: A <500 nM; B 500-5.000 nM; C >5.000 nM; N.D. no determinado.

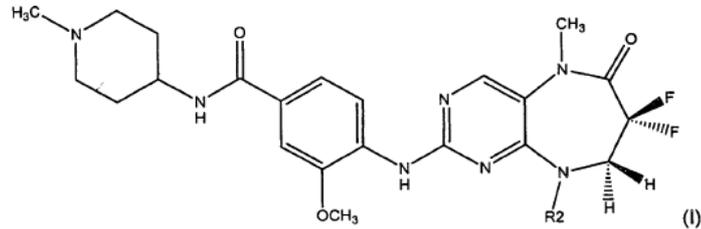
45

TABLA 1

Ref 1	I-100	447,45	448	N.D.	ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-benzoico
1	I-101	543,62	544	A	4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I):



en la que

- 5 R2 se selecciona de entre el grupo constituido por ciclopentilo y ciclohexilo; o su sal farmacéuticamente aceptable.
2. Compuesto según la reivindicación 1, que es 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida.
3. Composición que comprende un compuesto según la reivindicación 1 ó 2 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 10 4. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, para su utilización como un medicamento.
5. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, para su utilización en el tratamiento del cáncer, en particular de tumores sólidos, más particularmente tumores de mama, colon, pulmón y próstata.