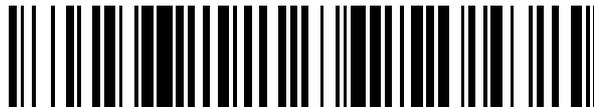


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 432 414**

51 Int. Cl.:

A01N 43/90 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.08.2009** **E 09807206 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2013** **EP 2330909**

54 Título: **Compuestos químicos**

30 Prioridad:

12.08.2008 US 88113 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

03.12.2013

73 Titular/es:

GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)
One Franklin Plaza 200 North 16th Street
Philadelphia, PA 19102, US

72 Inventor/es:

ATKINSON, FRANCIS LOUIS;
AXTEN, JEFFREY MICHAEL;
CICHY-KNIGHT, MARIA;
MOORE, MICHAEL LEE;
PATEI, VIPULKUMAR KANTIBHAI;
TIAN, XINRONG;
WELLAWAY, CHRISTOPHER ROLAND y
DUNN, ALLISON K.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 432 414 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 químicos

La presente invención se refiere a derivados de pirido[4,3-d]pirimidin-5-(6H)-ona que son inhibidores de la actividad de la serina / treonina quinasa, PDK1. La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos y al uso de tales compuestos en el tratamiento del cáncer.

Antecedentes de la invención

La activación de la vía de fosfoinositida-3-quinasa (PI-3K) constituye uno de los mecanismos más importantes que regulan importantes funciones celulares, tales como la expresión génica, progresión del ciclo celular, crecimiento y diferenciación celular (Dygas and Baranska, Acta Biochim. Pol. 48:541-549 (2001)). La modificación de AKT y otras quinasas corriente abajo PI-3K en el citosol está mediada por quinasa 1 dependiente de 3-fosfoinositida (PDK1), una serina / treonina quinasa originalmente identificada como una quinasa crítica para fosforilación y activación del bucle de activación de AKT (Cohen et al., FEBS Lett., 410:3-10 (1997)).

Los sustratos de PDK1 incluyen muchos de la familia de proteínas quinasas de AGC (dependiente de AMPc, dependiente de GMPc, y proteína quinasa C), que incluyen AKT / PKB, p70S6K, AMP cíclico dependiente de proteína quinasa, proteína quinasa C, quinasa inducible por suero y glucocorticoides (SGK), proteína quinasa ribosómica p90 (RSK), quinasa 1 activada por p21 (PAK1) PRK1 / 2, y otras (Wick and Liu, Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord. 1:209-221 (2001); Mora et al., Semin. Cell Dev. Biol. 15:161-170 (2004)). Sin embargo, recientes estudios in vivo con ratones PDK1 (-/-) y PDK1 (-/ + mostraron que los sustratos más fisiológicamente relevantes de PDK1 son AKT, p70S6K y RSK (Lawlor et al. EMBO J. 21:3728-3738 (2002); Williams et al, Curr Biol. 10:439-448 (2000)). La activación de estos sustratos críticos PDK1 lleva a un aumento en la captación de glucosa, síntesis de proteínas e inhibición de las proteínas proapoptóticas.

La regulación de AKT es uno de los ejemplos más estudiados de la actividad de PDK1 dependiente de PI3K. Inhibidores específicos de mutantes de PI3K o AKT negativos dominantes anulan las actividades promotoras de la supervivencia de los factores de crecimiento o citoquinas. Se ha descrito previamente que los inhibidores de PI3K (LY294002 o wortmanina) bloquearon la activación de AKT mediante las quinasas corriente arriba. Además, la introducción de mutantes PI3K o AKT constitutivamente activas promueve la supervivencia celular en condiciones en las que las células normalmente experimentan la muerte celular apoptótica (Kulik et al, Mol Cell Biol. 17 (3):1595-1606 (1997); Dudek et al, Science 275(5300):661-665 (1997)).

El análisis de los niveles de AKT en tumores humanos reveló que AKT se sobreexpresa en un número significativo de cánceres de ovario (Cheung et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:9267-9271 (1992)) y pancreáticos (Cheung et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93:3636-3641 (1996)). También, se halló que AKT se sobreexpresa en líneas celulares de cáncer de mama y próstata (Nakatani et al. J. Biol. Chem. 274:21528-21532 (1999)).

Un número significativo de cánceres poseen mutaciones en los genes que producen la elevación de los niveles celulares de fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3), un producto de PI3K. Una de las mutaciones más comunes que dan origen a niveles más altos de PIP3 es en el gen de PTEN de 3-fosfatasa PIP3 (Leslie y Downes, Cell Signal 14:285-295 (2002); Cantley, Science 296:1655-1657 (2002)). El aumento de los niveles de PIP3 produce la sobreactivación de las quinasas AKT y p70S6K, que se considera que actúan como las principales fuerzas impulsoras de la promoción de la proliferación descontrolada y aumento de la supervivencia de estas células. Las mutaciones de línea germinal de PTEN son responsables de síndromes de cáncer humanos tales como la enfermedad de Cowden (Liaw et al., Nature Genetics, 16:64-67 (1997)). PTEN está eliminado en un gran porcentaje de tumores humanos y las líneas celulares tumorales sin PTEN funcional muestran niveles elevados de AKT activado (Li et al. Supra, Guldberg y col., Cancer Research 57:3660-3663 (1997), Risinger et al, Cancer Research 57:4736-4738 (1997)).

Se han identificado tres miembros de la subfamilia AKT / PKB de serina / treonina proteína quinasas reguladas por segundo mensajero y denominado AKT1, AKT2 y AKT3. Las isoformas son homólogas, particularmente en las regiones que codifican los dominios catalíticos. Las AKT son activadas por eventos de fosforilación que se producen en respuesta a la señalización de PI3K. PI3K fosforila los fosfolípidos de inositol de membrana, lo que generan los segundos mensajeros fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3) y 3,4-difosfato de fosfatidilinositol, que han sido mostrados para unirse al dominio PH de AKT. El modelo actual de la activación de AKT propone el reclutamiento de la enzima en la membrana por PIP3. PDK1 también posee el dominio PH y se postula que la colocalización de AKT y PDK1 en la membrana permite la modificación y activación de de AKT por PDK1 y, posiblemente, otras quinasas (Hemmings, Science 275:628-630 (1997); Hemmings, Science 276:534 (1997); Downward, Science 279:673-674(1998)).

La fosforilación de AKT1 se produce en dos sitios reguladores, Thr308 por PDK1 en el bucle de activación del dominio catalítico y Ser473 (más probablemente por complejo mTOR TORC₂) cerca del extremo carboxi terminal (Alessi et al, EMBO J. 15:6541-6551 (1996); Meier et al., J. Biol. Chem. 272:30491-30497 (1997)).

5 Los sustratos fisiológicas importantes no dependiente de PI3K importantes de PDK1, proteína S6 quinasas ribosómicas p90 (RSKs) han sido implicados recientemente en la promoción de la transformación hematopoyética inducida por el receptor de tirosina (Kang et al., Cancer Cell 12:201-214 (2007)). PDK1 activa RSK por fosforilación de su dominio quinasas amino terminal de manera dependiente de ERK (Cohen et al., Nature Chem. Biol. 3(3):156-160 (2007)).

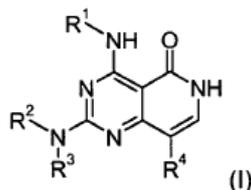
10 Además, estudios recientes revelaron funciones adicionales de PDK1 que podrían ser importantes durante la tumorigénesis y metástasis, tales como motilidad y migración celular (Primo et al, J. Cell Biol. 176 (7) :1035-1047 (2007); Pinner y Sahai, Nature Cell Biology. 10(2) :127-137 (2008)).

Tomados en conjunto, estas observaciones sugieren que un inhibidor de PDK1 podría ser beneficioso para el tratamiento de las células cancerosas que posee (pero sin limitación) AGC quinasas activadas constitutivamente.

15 En el documento WO 2008/079988, se describen los compuestos de quinazolina que inhiben la quinasas PDK1, junto con composiciones farmacéuticas que incluyen los compuestos, y métodos de tratamiento de enfermedades proliferativas, tales como cánceres, con los compuestos o composiciones.

Síntesis de la invención

La invención se refiere a derivados de pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona. Específicamente, la invención se refiere a compuestos de acuerdo con la fórmula I:



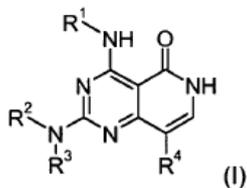
20 donde R¹, R², R³ y R⁴ se definen más abajo.

Los compuestos de la invención son inhibidores de PDK1 y pueden ser de utilidad en el tratamiento de trastornos caracterizados por ACG quinasas constitutivamente activadas como cáncer y más específicamente, cánceres de mama, de colon y de pulmón. Conforme a ello, la invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención. La invención también se refiere a un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención para usar en el tratamiento del cáncer.

25

Descripción detallada de la invención

La invención se refiere a compuestos de acuerdo con la fórmula I:



en donde:

30 R¹ es arilo, -CH₂-arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno a tres R⁵;

R² es H, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con uno o dos R⁶, cicloalquilo C₃-C₆ opcionalmente sustituido con uno a tres R⁷ o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁷; y R³ es H, alquilo C₁-C₆ o fenilo;

o

R² y R³ se unen junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un heterocicloalquilo saturado de 4-7 miembros que puede contener un átomo de N, S u O adicional y que está opcionalmente sustituido con uno a tres grupos alquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituidos con un OH, oxo, arilo o -NR^aR^b;

5 R⁴ es H, halo, alquilo C₁-C₃, haloalquilo C₁-C₃, ciano, alcoxi C₁-C₃, NR^aR^b, arilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁵ o heteroarilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁶;

cada R⁵ está seleccionado, de modo independiente, del grupo que consiste en halo, CN, alcoxi C₁-C₃, heteroarilo, -S(O)₂R^a, -S(O)₂NR^aR^b, -NR^aS(O)₂R^a, -NR^bC(O)R^a, -C(O)NR^aR^b, -NR^bC(O)NR^aR^b y alquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido con -NR^aR^b;

10 cada R⁶ está seleccionado, de modo independiente, del grupo que consiste en OH, -NR^aR^b, -NR^bC(O)R^a 1,1-ciclopropanodicarboxamida, heteroarilo, heterocicloalquilo y arilo opcionalmente sustituido con -S(O)₂NH₂;

cada R⁷ está seleccionado, de modo independiente, del grupo que consiste en OH, alcoxi C₁-C₃, -NR^aR^b y alquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido con -NR^aR^b;

cada R^a está seleccionado, de modo independiente, del grupo que consiste en H, heterocicloalquilo y alquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido con un -NH₂ o NHCH₃; y

15 cada R^b es independientemente H o alquilo C₁-C₆.

En una forma de realización de la presente invención, R¹ es arilo opcionalmente sustituido, apropiadamente fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres grupos R⁵. Específicamente, R¹ es fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁵, en donde R⁵ es fluoro, CN, -S(O)₂R^a, S(O)₂NR^aR^b, -NR^bC(O)R^a y alquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido con -NR^aR^b. Apropiadamente, R¹ es -CH₂-fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁵. Apropiadamente, R¹ es pirazolilo o indazolilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁵.

En otra forma de realización de la presente invención, R² es H, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con uno o dos R⁶, cicloalquilo C₃-C₆ opcionalmente sustituido con uno a tres R⁷ o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁷; y R³ es H, alquilo C₁-C₆ o fenilo. Apropiadamente, R² es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con uno o dos R⁶.

25 En otra forma de realización, R² es pirrolidinilo, piperidinilo, ciclohexilo o ciclopropilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno a tres R⁷; y R³ es H, alquilo C₁-C₆ o fenilo.

En otra forma de realización de la presente invención, R⁴ es H, metilo o bromo.

Los ejemplos de la presente invención incluyen:

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(fenilmetil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

30 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(fenilmetil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(2-fluorofenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

2-[(3-aminopropil)amino]-8-metil-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[[4-(metilsulfonyl)fenil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[[3-(metilsulfonyl)fenil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

35 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[[3-(3-aminopropil)fenil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

4-[[3-(2-aminoetil)fenil]amino]-2-[(3-aminopropil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

4-[[4-(2-aminoetil)fenil]amino]-2-[(3-aminopropil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

2-[(3-aminopropil)amino]-8-metil-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

4-(1H-pirazol-4-ilamino)-2-[(3R)-3-pirrolidinil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

40 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(2-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(2,2-dioxido-1,3-dihidro-2-benzotien-5-il)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

- N-[3-({2-[(3-aminopropil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)fenil]-1-pirrolidincarboxamida;
- N-[3-({2-[(2-(1H-imidazol-4-il)etil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)fenil]-1-pirrolidincarboxamida;
- N-[3-({5-oxo-2-[(3R)-3-pirrolidinil]amino}-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)fenil]-1-pirrolidincarboxamida;
- N-[4-({2-[(3-aminopropil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)fenil]-1-pirrolidincarboxamida;
- 5 3-({2-[(3-aminopropil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)-N-etilbencensulfonamida;
- 2-((3-aminopropil)amino)-4-(1H-indazol-6-ilamino)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-4-(1H-indazol-5-ilamino)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-({2-[(3-aminopropil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)benzotrilo;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-8-bromo-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 10 2-[(3-(dimetilamino)propil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-(dimetilamino)propil)(metil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-(metilamino)propil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3-(4-morfolinil)propil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[[2-(4-piridinil)etil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 15 4-[(3-metilfenil)amino]-2-((1-metil-4-piperidinil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[2-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)etil]bencensulfonamida;
- 2-[[2-(1H-imidazol-2-il)etil]amino]-4-((3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(4-aminociclohexil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminociclohexil)amino]-4-((3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 20 2-[(3-amino-2,2-dimetilpropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3-(2-oxo-1-pirrolidinil)propil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(2-amino-2-metilpropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-(metilamino)-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-amino-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 25 2-[(3-amino-2-hidroxi)propil]amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-(ciclopropilamino)-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(4-piperidinilamino)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[[2-(1-piperazinil)etil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(4-piperidinilmetil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 30 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3S)-3-pirrolidinilamino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3R)-3-piperidinilamino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[4-(aminometil)-1-piperidinil]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3R)-3-amino-1-pirrolidinil]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3S)-3-amino-1-pirrolidinil]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3R)-3-pirrolidinilamino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3R)-3-piperidinilamino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

N¹-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]-1,1-ciclopropandicarboxamida;

5 (4R)-N-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]-2-oxo-1,3-tiazolidin-4-carboxamida;

N²-metil-N¹-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]glicinamida; y

N-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido(4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]-L-prolinamida.

10 El experto en la técnica comprenderá que es posible preparar sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la fórmula I. De hecho, en determinadas formas de realización de la invención, las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la fórmula I pueden ser preferibles con respecto a la respectiva base libre por cuanto dichas sales confieren una mayor estabilidad o solubilidad a la molécula, con lo que facilitan la formulación en una forma de dosificación. Por lo tanto, la invención se refiere también a sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la fórmula I.

15 Los compuestos de acuerdo con la fórmula I pueden contener uno o más centros asimétricos (que también llevan la designación de centro quiral) por lo que pueden existir como enantiómeros, diastereómeros, u otras formas estereoisoméricas, individuales, o como mezclas de ellos. Los centros quirales, tales como los átomos de carbono quirales, también pueden estar presentes en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Cuando la estereoquímica de un centro quiral presente en la fórmula I, o en cualquier estructura química ilustrada en la presente, no está especificada, la estructura tiene por objeto comprender la totalidad de los estereoisómeros individuales y todas sus mezclas. Por lo tanto, 20 los compuestos de acuerdo con la fórmula I que contienen uno o más centros quirales pueden ser utilizados como mezclas racémicas, mezclas enriquecidas enantioméricamente, o como estereoisómeros individuales enantioméricamente puros.

25 Los estereoisómeros individuales de un compuesto de acuerdo con la fórmula I que contienen uno o más centros asimétricos pueden ser resueltos mediante métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, dicha resolución puede ser llevada a cabo (1) mediante la formación de sales diastereoméricas, complejos u otros derivados; (2) mediante la reacción selectiva con un reactivo específico para un estereoisómero, por ejemplo mediante oxidación o reducción enzimáticas; o (3) mediante cromatografía de gas-líquido o de líquido en un entorno químico, por ejemplo, sobre un soporte quiral tal como sílice con un ligando quiral unido en la presente de un solvente quiral. La persona experta en el arte comprenderá que cuando el estereoisómero deseado es convertido en otra entidad química mediante uno de los 30 procedimientos de separación arriba descritos, se requiere un paso adicional para liberar la forma deseada. Como alternativa, es posible sintetizar estereoisómeros específicos mediante síntesis asimétrica, para lo cual se utilizan reactivos ópticamente activos, sustratos, catalizadores o solventes, o mediante la conversión de un enantiómero en otro mediante transformación asimétrica.

35 Los compuestos de acuerdo con la fórmula I también pueden contener enlaces dobles u otros centros de asimetría geométrica. Cuando la estereoquímica de un centro de asimetría geométrica presente en la fórmula I o en cualquier estructura química ilustrada en la presente no se especifica, la estructura pretende comprender el isómero geométrico trans (E), el isómero geométrico cis (Z) y todas las mezclas de ellos. Del mismo modo, todas las formas tautoméricas también están incluidas en la fórmula I si estos tautómeros existen en equilibrio o predominantemente en una forma.

40 Los compuestos de la fórmula I o sus sales farmacéuticamente aceptables pueden existir en forma sólida o líquida. En el estado sólido, los compuestos de la invención pueden existir en forma cristalina o no cristalina, o como una de sus mezclas. Para los compuestos de la invención que se hallan en forma cristalina, la persona experta en el arte comprenderá que es posible formar solvatos farmacéuticamente aceptables en los que las moléculas de solvente se incorporan en la red cristalina durante la cristalización. Los solvatos pueden incluir solventes no acuosos tales como etanol, isopropanol, DMSO, ácido acético, etanolamina, y acetato de etilo, o pueden implicar agua a título de solvente 45 que se incorpora en la red cristalina. Los solvatos en los que el agua es el solvente que se incorpora en la red cristalina llevan típicamente la designación de "hidratos". Los hidratos incluyen los hidratos estequiométricos como también composiciones que contienen cantidades variables de agua. La invención incluye la totalidad de dichos solvatos.

50 La persona experta en el arte comprenderá, además, que determinados compuestos de la fórmula I o sus sales farmacéuticamente aceptables que existen en forma cristalina, inclusive los diversos solvatos de los mismos, pueden presentar polimorfismo (es decir, la capacidad de presentarse en diferentes estructuras cristalinas). Estas diferentes formas cristalinas se conocen típicamente como "polimorfos". La invención incluye la totalidad de tales polimorfos. Los polimorfos tienen la misma composición química pero difieren en empaque, disposición geométrica, y otras propiedades

- descriptivas del estado cristalino sólido. Por ello los polimorfos pueden tener diferentes propiedades físicas tales como forma, densidad, dureza, deformabilidad, y propiedades de disolución. Típicamente los polimorfos presentan diferentes puntos de fusión, espectros de IR, y patrones de difracción en polvo de rayos X, que pueden utilizarse para fines de identificación. La persona experta en el arte comprenderá que es posible producir diferentes polimorfos, por ejemplo, mediante el cambio o ajuste en las condiciones de los reactivos utilizados para preparar el compuesto. Por ejemplo, los cambios en temperatura, presión o solvente, pueden tener como resultado la formación de polimorfos. Además, un polimorfo puede convertirse espontáneamente en otro polimorfo bajo determinadas condiciones.
- La expresión "alquilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada saturada que tiene la cantidad especificada de átomos miembros. Por ejemplo, alquilo C₁-C₆ se refiere a un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos miembros. Los grupos alquilo pueden estar sustituidos con uno o más sustituyentes definidos en la presente. Los grupos alquilo pueden ser lineales o ramificados. Los grupos alquilo ramificados representativos tienen una, dos o tres ramas. Alquilo incluye metilo, etilo, propilo (n-propilo e isopropilo), butilo (n-butilo, isobutilo, y t-butilo), pentilo (n-pentilo, isopentilo, y neopentilo), y hexilo.
- "Alcoxi" se refiere a un grupo -O-alquilo C₁-C₆ en el que alquilo C₁-C₆ es como se define en la presente. Los ejemplos de tales grupos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, pentoxi y hexoxi.
- "Ariilo" y "Ar" se refieren a un anillo hidrocarbonado aromático. Los grupos ariilo son sistemas de anillo monocíclicos o sistemas de anillo bicíclicos. El anillo ariilo monocíclico se refiere a fenilo. Los anillos ariilo bicíclicos se refieren a naftilo y anillos en los que fenilo está fusionado a anillo cicloalquilo o cicloalquenilo que tiene 5, 6 ó 7 átomos de carbono. Los grupos ariilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno más sustituyentes definidos en la presente.
- "Cicloalquilo" se refiere a un anillo hidrocarbonado saturado que tiene la cantidad especificada de átomos miembros. Los grupos cicloalquilo son sistemas de anillo monocíclicos. Por ejemplo, cicloalquilo C₃-C₆ se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene de 3 a 6 átomos miembros. Los grupos cicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes definidos en la presente, Cicloalquilo incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, y ciclohexilo.
- "Halo" se refiere a los radicales halogenados flúor, cloro, bromo y yodo
- "Haloalquilo" se refiere a un grupo alquilo, en donde al menos un átomo de hidrógeno unido a un átomo miembro dentro del grupo alquilo está reemplazado por halo. Haloalquilo incluye monofluorometilo, difluoroetilo y trifluorometilo.
- "Heteroarilo" se refiere a un anillo aromático que contiene de 1 a 4 heteroátomos como átomos miembros en el anillo. Los grupos heteroarilo que contienen más de un heteroátomo pueden contener diferentes heteroátomos. Los grupos heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o varios sustituyentes tal como se define en la presente. Los grupos heteroarilo son sistemas de anillos monocíclicos o son sistemas de anillos bicíclicos fusionados, espiro o en puente. Los anillos heteroarilo monocíclicos tienen 5 ó 6 átomos miembros. Los anillos heteroarilo bicíclicos tienen de 7 a 11 átomos miembros. Los anillos heteroarilo bicíclicos incluyen aquellos anillos en los que fenilo y un anillo heterocicloalquilo monocíclico se unen para formar un sistema de anillos bicíclicos fusionados, espiro o en puente y aquellos anillos en los que un anillo heteroarilo monocíclico y un anillo cicloalquilo, cicloalquenilo, heterocicloalquilo o heteroarilo monocíclico se unen para formar un sistema de anillos bicíclicos fusionados, espiro o en puente. El heteroarilo incluye pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, furanilo, furazanilo, tienilo, triazolilo, piridinilo, pirimidinilo, piridazinilo, pirazinilo, triazinilo, tetrazinilo, indolilo, isoindolilo, indolizínilo, indazolilo, purinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, pteridinilo, cinolinilo, bencimidazolilo, benzopirano, benzoxazolilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, benzotiazolilo, benzotienilo, furopiridinilo y naptiridinilo.
- "Heteroátomo" se refiere a un átomo de nitrógeno, azufre u oxígeno.
- "Heterocicloalquilo" se refiere a un anillo saturado o insaturado que contiene de 1 a 4 heteroátomos como átomos miembros en el anillo. Sin embargo, los anillos heterocicloalquilo no son aromáticos. Los grupos heterocicloalquilo que contienen más de un heteroátomo pueden contener diferentes heteroátomos. Los grupos heterocicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o varios sustituyentes como se define en la presente. Los grupos heterocicloalquilo son sistemas de anillos monocíclicos con 4 a 7 átomos miembros. En ciertas formas de realización, el heterocicloalquilo está saturado. En otras formas de realización, el heterocicloalquilo es insaturado pero no aromático. El heterocicloalquilo incluye pirrolidinilo, tetrahidrofuranilo, dihidrofuranilo, piranilo, tetrahidropiranilo, dihidropiranilo, tetrahidrotienilo, pirazolidinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, piperidinilo, homopiperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tiamorfolinilo, 1,3-dioxalanilo, 1,3-dioxanilo, 1,4-dioxanilo, 1,3-oxatilanilo, 1,3-oxatianilo, 1,3-ditianilo y azetidínilo.
- La expresión "opcionalmente sustituido" indica que un grupo, tal como alquilo, alquenilo, alquinilo, ariilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, heterocicloalquilo o heteroarilo, puede estar sin sustituir o estar sustituido con uno o más sustituyentes definidos en la presente. La expresión "sustituido" referido a un grupo indica que un átomo de hidrógeno fijado a un átomo miembros dentro de un grupo ha sido reemplazado. Debe entenderse que la expresión "sustituido" incluye la

provisión implícita que dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente y que la sustitución tiene como resultado un compuesto estable (es decir, uno que no experimente establemente una transformación tal como mediante reordenamiento, ciclación o eliminación). En determinadas formas de realización, un átomo individual puede ser remplazado con más de un sustituyente siempre y cuando dicha sustitución esté de acuerdo con la valencia permitida del átomo. En la presente se definen sustituyentes equivalentes para cada grupo sustituido u opcionalmente sustituido.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y formas de dosificación que dentro de los alcances del sano criterio médico son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin una toxicidad o irritación excesivas u otro problema o complicación, compatible con una razonable relación entre beneficio y riesgo.

Tal como se utilizan en la presente, los símbolos y las convenciones utilizados en estos procesos, esquemas y ejemplos son compatibles con los utilizados en la bibliografía científica contemporánea, por ejemplo, Journal of the American Chemical Society o Journal of Biological Chemistry. Por lo general, se utilizan abreviaturas en forma de una sola letra o de tres letras para designar residuos de aminoácidos, de los que se supone que se hallan en la configuración L a menos que se indique otra cosa. A menos que se indique otra cosa, todos los materiales de partida se han obtenido de proveedores comerciales y se utilizan sin mayor purificación. Específicamente, pueden utilizarse las siguientes abreviaturas en los ejemplos y a lo largo de la memoria descriptiva:

Ac (acetilo);

ATP (adenosina trifosfato);

BBDM (ter-butoxi bis(dimetilamino)metano);

BOC (ter-butiloxicarbonilo);

BSA (albúmina de suero bovino);

CH₃CN (acetonitrilo);

DMC (diclorometano);

DIEA (N,N-diisopropiletilamina);

DIPEA (diisopropiletilamina);

DMA (dimetilacetamida),

DMF (N,N-dimetilformamida);

DMSO (dimetilsulfóxido);

EDC (clorhidrato de 1-[3-dimetilamino]propil]-3-etilcarbodimida);

EDTA (ácido etilendiaminatetraacético);

EtOAc (acetato de etilo);

HATU (hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio);

HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetansulfónico);

HOAc (ácido acético);

HOBT (1-hidroxibenzotriazol);

HPLC (cromatografía de líquido de alta presión);

LHMDS (hexametildisilazida de litio);

mCPBA (ácido meta-cloroperbenzoico);

MeOH (metanol);

NBS (N-bromosuccinimida);

TFA (ácido trifluoroacético); y

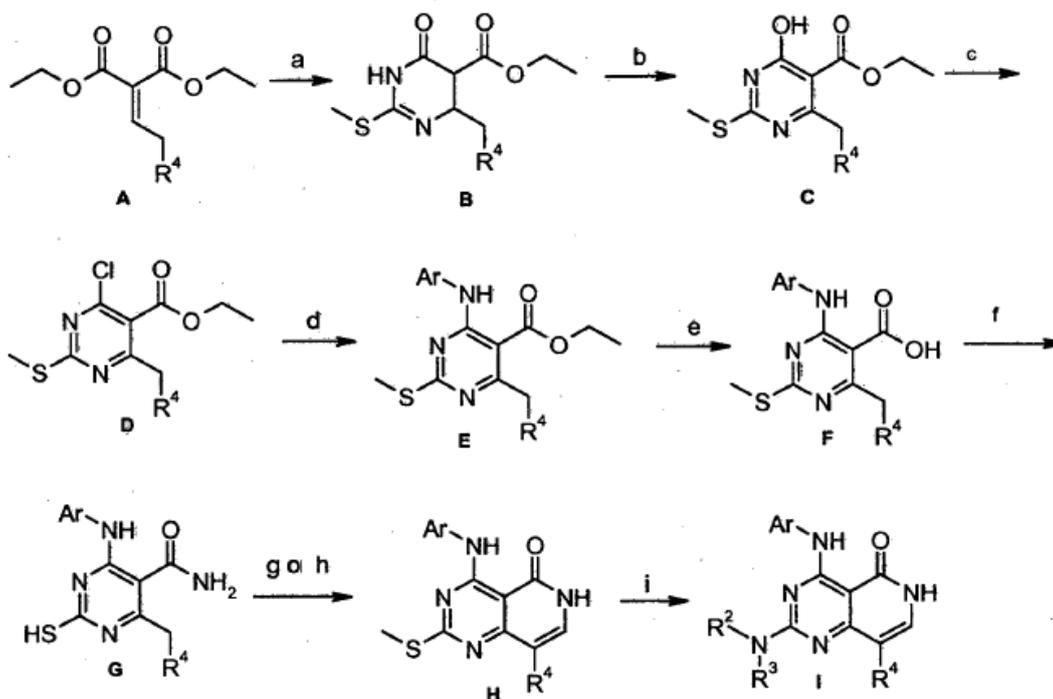
THF (tetrahidrofurano).

Preparación de compuestos

- 5 Los compuestos de la fórmula I se preparan mediante síntesis orgánicas convencionales. A continuación, se ilustra una vía sintética adecuada en los siguientes esquemas reactivos generales.

El experto en el arte comprenderá que si un sustituyente descrito en la presente no es compatible con los métodos sintéticos descritos en la presente, el sustituyente puede ser protegido mediante un grupo protector adecuado que es estable en las condiciones de reacción. El grupo protector puede ser removido en un lugar adecuado en la secuencia de reacción de manera de proveer un compuesto intermediario u objeto deseado. Los grupos protectores adecuados y los métodos para proteger y desproteger diferentes sustituyentes mediante dichos grupos protectores adecuados son bien conocidos por los expertos en el arte; ejemplos de ellos pueden encontrarse en T. Greene y P. Wuts, Protecting Groups in Chemical Synthesis (tercera edición), John Wiley & Sons, NY (1999). En algunos casos, es posible seleccionar un sustituyente específicamente de manera que sea reactivo en las condiciones utilizadas. En estas circunstancias, las condiciones de reacción convierten el sustituyente seleccionado en otro sustituyente que es útil como un compuesto intermedio o es un sustituyente seleccionado en un compuesto objetivo.

Esquema 1

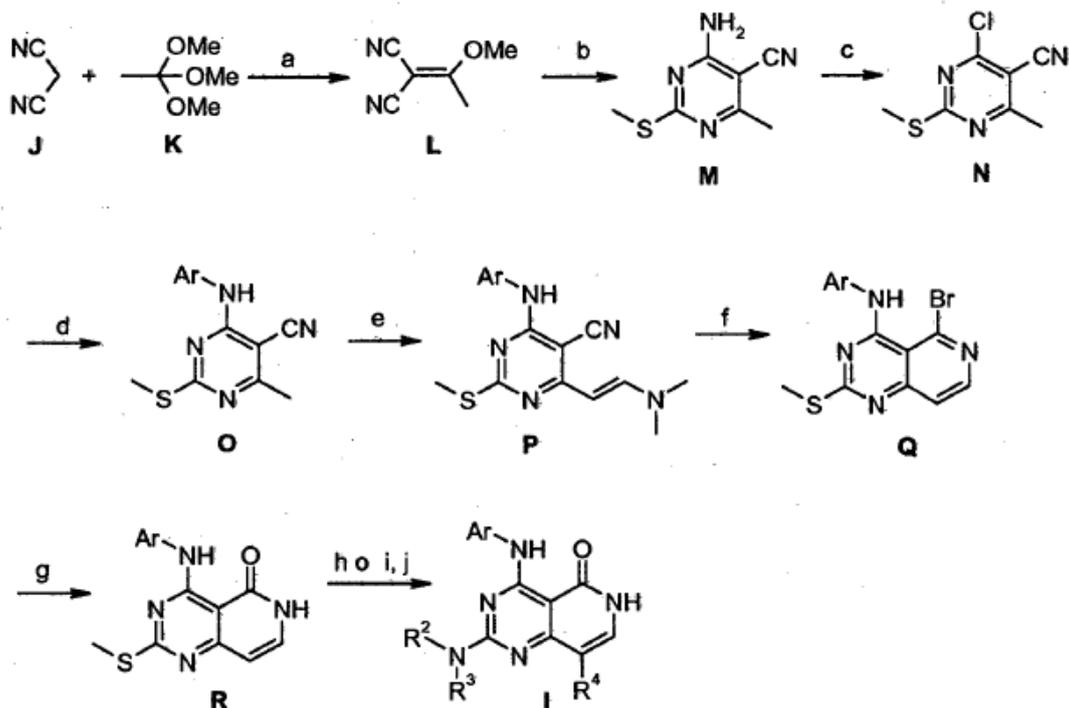


- 20 Condiciones: a) sulfato de S-metilisotiuronio, Et₃N, EtOH, reflujo; b) NBS, peróxido de benzoílo, K₂CO₃, CCl₄; e) POCl₃; d) ArNH₂, DIEA, DMF, 70 °C; e) NaOH, EtOH/H₂O; f) HATU, DIEA, NH₄OH; g) LHMDS, DMF, 125 °C; h) DMF-DMA, 110 °C; luego HOAc, reflujo; i) mCPBA; amina (R²NH₂ o R²R³NH)

- 25 El dialquilmetilenmalonato de dialquilo sustituido de la fórmula general A se puede hacer reaccionar con sulfato de S-metilisotiuronio en presencia de bases apropiadas en etanol a reflujo para dar B. Los compuestos B se pueden convertir en fenoles C por reacción con peróxido de benzoílo en presencia de bases apropiadas en tetracloruro de carbono a reflujo u otros disolventes (por ejemplo, dioxano). El tratamiento de los compuestos C con POCl₃ a reflujo produce cloropirimidinas D que se acoplan con anilinas apropiadas en presencia de bases en DMF a una temperatura de entre 50 °C y 120 °C. Los pirimidinésteres E se convierten en amidas usando una secuencia de dos etapas (hidrólisis y

5 formación de amida). La reacción de las amidas G con hexametildisilazano de litio en DMF a una temperatura de entre 100 °C y 140 °C da derivados de pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona H. Alternativamente, los compuestos H se pueden preparar por reacción de los compuestos G con DMF-DMA en DMF a una temperatura de entre 80 °C y 120 °C seguido por calentamiento a reflujo de la enamina resultante en ácido acético. La oxidación del sulfuro de los compuestos H con reactivos de oxidación (es decir, mCPBA, H₂O₂-TFA) seguido por desplazamiento de la sulfona con aminas apropiadas y desprotección producen análogos de pirimidopiridona deseados I.

Esquema 2



10 Condiciones: a) ácido acético, 90 °C a 140 °C; b) sulfato de S-metilisotiuronio, NaOMe, CH₃OH; e) CuCl₂, ter-butilnitrito, MgSO₄, acetónitrilo, 80 °C; d) ArNH₂, DIEA, DMF, 75 °C; o ArNH₂, HCl conc., isopropanol, reflujo; o TsOH, 1,4-dioxano, 90 °C; e) DMF-DMA o ter-butoxibis(dimetilamino)metano (BDDM), DMF, 110 °C; f) 33% de HBr/HOAc; g) HCl 6 N (ac.)/HOAc, 80 °C; h) mCPBA, DMF; luego amina (R²R³NH); i) mCPBA, DMF, amina Boc-prottegida; j) TFA, CH₂Cl₂.

15 Como se muestra en el Esquema 2, se puede preparar 4-amino-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo (M) por condensación de malononitrilo (J) y ortoacetato de trietilo (K) y reacción del (1-etoxietiliden)malononitrilo resultante (L) y sal de s-metilisotiurea hemisulfato en metanol.

20 Los compuestos M se pueden halogenar por reacción del grupo amino funcional en presencia de un reactivo de diazotación y un haluro cúprico, por ejemplo, ter-butilnitrito y cloruro cúprico, para dar N. Los compuestos N se pueden hacer reaccionar con anilinas o heteroarylaminas para proporcionar el compuesto O ya sea en presencia de bases apropiadas (por ejemplo, N,N-diisopropiletilamina), en DMF a una temperatura de entre 65 °C y 120 °C o en presencia de ácido clorhídrico concentrado en isopropanol a reflujo o en presencia de TsOH en 1,4-dioxano a 90 °C. El tratamiento de compuestos O con DMF-DMA o ter-butoxibis(dimetilamino)metano (BDDM) en DMF a una temperatura de entre 90 °C y 120 °C da las enaminas P. La reacción de P con una solución de HBr al 33% en ácido acético produce los compuestos bromados Q, que se hidrolizan en R usando solución acuosa de HCl 6 N en ácido acético a una temperatura de entre 60 °C y 100 °C. La oxidación de los sulfuros R con un reactivo apropiado, por ejemplo, mCPBA o H₂O₂/TFA y desplazamiento de la sulfona resultante con aminas apropiadas y desprotección (de ser necesario) da los derivados deseados de pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona I, donde R⁴ = H.

25

Métodos de uso

- Los compuestos de acuerdo con la fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables son inhibidores de PDK1. Estos compuestos son potencialmente útiles en el tratamiento de afecciones en el que la patología subyacente es atribuible a (pero sin limitación) ACG quinasas constitutivamente activadas, por ejemplo, cáncer y más específicamente cánceres de mama, colon y pulmón. Lo que se entiende por quinasas ACG activadas constitutivamente es que una o más quinasas ACG se producen a una velocidad constante independientemente de la demanda o concentración fisiológica. En consecuencia, en otro aspecto, la invención está dirigida a un compuesto de la fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para uso en el tratamiento del cáncer.
- 5 De modo apropiado, la presente invención se refiere a tratar o disminuir la gravedad de cáncer de mama, que incluye el cáncer de mama inflamatorio, carcinoma ductal, y carcinoma lobular.
- 10 De modo apropiado, la presente invención se refiere a tratar o disminuir la gravedad de cáncer de colon.
- De modo apropiado, la presente invención se refiere a tratar o disminuir la gravedad de cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, y carcinoma de células grandes
- 15 De modo apropiado, la presente invención se refiere a tratar o disminuir la gravedad de los cánceres seleccionados del grupo que consiste en cerebro (gliomas), glioblastomas, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, cabeza y cuello, riñón, hígado, melanoma, ovárico, pancreático, próstata, sarcoma, osteosarcoma, tumor de células gigantes del hueso, tiroides, leucemia linfoblástica de células T, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células pilosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrofilica crónica, leucemia linfoblástica aguda de células T, plasmocitoma, leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia de células del manto, mieloma múltiple, leucemia megacarioblástica, mieloma múltiple,
- 20 leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica, eritroleucemia, linfoma maligno, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células T linfoblástico, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer vulvar, cáncer cervical, cáncer de endometrio, cáncer renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de glándulas salivales, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer bucal, cáncer de la boca, GIST (tumor del estroma gastrointestinal) y cáncer testicular.
- 25 La invención también proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en la terapia médica, y en particular en la terapia del cáncer. Por lo tanto, en un aspecto adicional, la invención se dirige al uso de un compuesto de acuerdo con la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.
- 30 Como se usa en la presente, "tratar", en referencia a una afección significa: (1) mejorar o prevenir la afección o una o más de las manifestaciones biológicas de la afección, (2) interferir en (a) uno o más puntos de la cascada biológica que conduce a o es responsable de la afección o (b) uno o más de las manifestaciones biológicas de la afección, (3) aliviar uno o más de los síntomas o efectos asociados con la afección, o (4) retardar la progresión de la afección o una o más de las manifestaciones biológicas de la afección.
- 35 Como se indicó anteriormente, "tratamiento" de una afección incluye la prevención de la afección. Los expertos en la técnica apreciarán que la "prevención" no es un término absoluto. En la medicina, "prevención" se entiende que se refiere a la administración profiláctica de un fármaco para disminuir sustancialmente la probabilidad o gravedad de una afección o manifestación biológica de esta o para retrasar la aparición de tal afección o manifestación biológica de esta.
- Como se usa en la presente, "paciente" se refiere a un humano u otro animal.
- 40 Los compuestos de la fórmula I o sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden administrar por cualquier vía de administración adecuada, que incluye la administración sistémica. La administración sistémica incluye la administración oral, y administración parenteral. La administración parenteral se refiere a vías de administración distintas de administración entérica, transdérmica o por inhalación, y es típicamente por inyección o infusión. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intramuscular, y subcutánea.
- 45 Los compuestos de la fórmula I o sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden administrar una vez o de acuerdo con un régimen de dosificación en el que varias dosis se administran en diferentes intervalos de tiempo durante un período de tiempo determinado. Por ejemplo, las dosis se puede administrar una, dos, tres, o cuatro veces por día. Las dosis se pueden administrar hasta obtener el efecto terapéutico deseado o indefinidamente para mantener el efecto terapéutico deseado. Los regímenes de dosis adecuados para un compuesto de la invención dependen de las propiedades farmacocinéticas de ese compuesto, tales como absorción, distribución, y vida media, que pueden ser
- 50 determinadas por los profesionales expertos. Además, los regímenes de dosis adecuados, que incluyen tiempo en que

se administran tales regímenes, para un compuesto de la invención dependerá de la afección que se está tratando, la gravedad de la afección para tratar, la edad y la condición física del paciente que se trata, la historia médica del paciente por tratar, la naturaleza de la terapia concurrente, el efecto terapéutico deseado, y factores similares dentro del conocimiento y experiencia de los profesionales expertos. Los profesionales expertos entenderán adicionalmente que los regímenes de dosis adecuados pueden requerir un ajuste determinado en la respuesta de un paciente individual para el régimen de dosis o durante el tiempo que el paciente individual necesita cambio.

Adicionalmente, los compuestos de la fórmula I o sus sales farmacéuticamente aceptables pueden administrarse como profármacos. Como se usa en la presente, un "profármaco" de un compuesto de la invención es un derivado funcional del compuesto que, tras la administración a un paciente, finalmente libera el compuesto de la invención in vivo. La administración de un compuesto de la invención como un profármaco puede permitir a los expertos en la técnica realizar uno o más de los siguientes: (a) modificar el comienzo del compuesto in vivo; (b) modificar la duración de acción del compuesto in vivo; (c) modificar el transporte o la distribución del compuesto in vivo; (d) modificar la solubilidad del compuesto in vivo, y (e) superar o superar un efecto secundario u otra dificultad encontrada con el compuesto. Los derivados funcionales típicos usados para preparar profármacos incluyen las modificaciones del compuesto que se escinden química o enzimáticamente in vivo. Tales modificaciones, que incluyen la preparación de fosfatos, amidas, ésteres, tioésteres, carbonatos y carbamatos, son bien conocidas por los expertos en la técnica.

Los compuestos de la fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden coadministrar con al menos otro ingrediente activo conocido por ser útil en el tratamiento del cáncer.

Por el término "coadministración" tal como se usa en la presente, se entiende la administración simultánea o cualquier manera de administración secuencial separada de un compuesto inhibidor de PDK1, tal como se describe en la presente, y un ingrediente o ingredientes activos adicionales, conocidos por ser útiles en el tratamiento del cáncer, que incluye quimioterapia y radioterapia. El término ingrediente o ingredientes activos adicionales, tal como se usa en la presente, incluye cualquier compuesto o agente terapéutico conocido o que demuestra propiedades ventajosas cuando se administra a un paciente que necesita tratamiento para el cáncer. Con preferencia, si la administración no es simultánea, los compuestos se administran en estrecha proximidad de tiempo entre sí. Además, no importa si los compuestos se administran en la misma forma de dosis, por ejemplo, un compuesto se puede administrar por inyección y otro compuesto se puede administrar por vía oral.

Normalmente, cualquier agente antineoplásico que tiene actividad frente a un tumor susceptible de tratarse se puede coadministrar en el tratamiento del cáncer en la presente invención. Los ejemplos de tales agentes se pueden hallar Cancer Principles and Practice of Oncology by V.T. Devita and S. Hellman (editores), 6ta. edición (15 de febrero de 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Los expertos en la técnica podrían discernir cuáles combinaciones de agentes serían útiles sobre la base de las características particulares de los fármacos y el cáncer implicado. Los agentes antineoplásicos típicos útiles en la presente invención incluyen, pero sin limitación, agentes antimicrotúbulos tales como diterpenoides y alcaloides de la vinca; complejos de coordinación de platino; agentes alquilantes tales como mostazas nitrogenadas, oxazafosforinas, alquilsulfonatos, nitrosoureas, y triazenos; agentes antibióticos tales como antraciclinas, actinomicinas y bleomicinas; inhibidores de la topoisomerasa II, tales como epipodofilotoxinas; antimetabolitos tales como análogos de purina y pirimidina y compuestos antifolato; inhibidores de la topoisomerasa I tales como camptotecinas; hormonas y análogos hormonales; inhibidores de la vía de transducción de señales; inhibidores de la angiogénesis de la tirosina quinasa no receptor; agentes inmunoterapéuticos; agentes proapoptóticos e inhibidores de la señalización del ciclo celular.

Los ejemplos de un ingrediente o ingredientes activos adicionales (agente antineoplásico) para su uso en combinación o coadministrados con los compuestos inhibidores de PDK1 inventados actuales son agentes quimioterapéuticos.

Los agentes antimicrotúbulos o antimitóticos son agentes específicos de la fase activos contra los microtúbulos de las células tumorales durante la fase M o de mitosis del ciclo celular. Los ejemplos de agentes antimicrotúbulos incluyen, pero sin limitación, diterpenoides y alcaloides de la vinca. Los diterpenoides, que se derivan de fuentes naturales, son agentes anticancerígenos específicos de fase que actúan en las fases G2/M del ciclo celular. Se considera que los diterpenoides estabilizan la subunidad β -tubulina de los microtúbulos, mediante la unión con esta proteína. El desensamblaje de la proteína entonces parece inhibirse con la mitosis que se está deteniendo y siguiente muerte celular. Los ejemplos de diterpenoides incluyen, pero sin limitación, paclitaxel y su análogo docetaxel.

Paclitaxel, 5 β ,20epoxi-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexa-hidroxitax-11-en-9-ona 4,10-diacetato 2-benzoato 13-éster con (2R,3S)-N-benzoil-3-fenilisoserina; es un producto diterpeno natural aislado del tejo del Pacífico *Taxus brevifolia* y está disponible en el comercio como una disolución inyectable TAXOL®. Es un miembro de la familia taxano de terpenos. Fue aislado por primera vez en 1971 por Wani et al. J. Am. Chem., Soc., 93:2325. 1971), que caracterizó su estructura por métodos químicos y cristalográficos de rayos X. Un mecanismo para su actividad se refiere a la capacidad de paclitaxel para unirse a tubulina, de este modo inhibe el crecimiento celular del cáncer. Schiff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:1561-

1565 (1980); Schiff et al., *Nature*, 277:665-667 (1979); Kumar, *J. Biol. Chem.*, 256: 10435-10441 (1981). Para una revisión de la síntesis y actividad anticancerígena de algunos derivados de paclitaxel ver: D. G. I. Kingston et al., *Studies in Organic Chemistry* vol. 26, titulado: "New trends in Natural Products Chemistry 1986", Attaur-Rahman, P.W. Le Quesne, Eds. (Elsevier, Ámsterdam, 186) pp 219-235.

5 Paclitaxel ha sido aprobado para uso clínico en el tratamiento de cáncer de ovario refractario en los Estados Unidos Markman et al., *Yale Journal of Biology and Medicine*, 64:583, 1991; McGuire et al., *Ann. Intern. Med.*, 111:273,1989) y para el tratamiento de cáncer de mama Holmes et al., *J. Nat. Cancer Inst.*, 83:1797,1991.) Es un candidato potencial para el tratamiento de neoplasmas en la piel (Einzig et. Al., *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 20:46) y los carcinomas de cabeza y cuello (Forastire et. al., *Sem. Oncol.*, 20:56, 1990). El compuesto también muestra potencial para el tratamiento de la enfermedad renal poliquística Woo et. al., *Nature*, 368:750. 1994), cáncer de pulmón y malaria. El tratamiento de los pacientes con paclitaxel produce la supresión de la médula ósea (múltiples linajes celulares, Ignoff, RJ et. al, *Cancer Chemotherapy Pocket Guide*, 1998) relacionado con la duración de la dosificación por encima de una concentración umbral (50 nM) (Kearns, C.M. et. al., *Seminars in Oncology*, 3(6) p. 16-23, 1995).

15 El docetaxel, (2R, 3S)-N-carboxi-3-fenilisoserina, N-ter-butil éster, 13-éster con 4-acetato de 2-benzoato de 5β-20-epoxi-1,2α,4,7β,10β,13α-hexahidroxitax-11-en-9-ona, trihidrato; está disponible en el comercio como una solución inyectable como TAXOTERE®. El docetaxel está indicado para el tratamiento de cáncer de mama. El docetaxel es un derivado semisintético de paclitaxel q.v, preparado usando un precursor natural, 10-desacetil-bacatina III, extraído de la aguja del árbol del tejo europeo. La toxicidad limitante de dosis de docetaxel es la neutropenia.

20 Los alcaloides de la vinca son agentes antineoplásicos con especificidad de fase derivados de la planta vinca. Los alcaloides de la vinca actúan en la fase M (mitosis) del ciclo celular mediante la unión específica a la tubulina. Por consiguiente, la molécula de tubulina unida no puede polimerizarse en los microtúbulos. Se considera que la mitosis se detiene en la metafase con la consecuente muerte celular. Los ejemplos de alcaloides de la vinca incluyen, pero sin limitación, vinblastina, vincristina, y vinorelbina.

25 La vinblastina, sulfato de vincalécoblastina, está disponible en el comercio como Velban® como un solución inyectable. Si bien, tiene una posible indicación como terapia de segunda línea de diversos tumores sólidos, está indicada principalmente para el tratamiento de cáncer testicular y diversos linfomas que incluyen enfermedad de Hodgkin y linfomas linfocíticos e histiocíticos. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de la dosis de vinblastina.

30 La vincristina, vincalécoblastina, 22-oxo-, sulfato, está disponible en el mercado como ONCOVIN® como una solución inyectable. La vincristina está indicada para el tratamiento de leucemias agudas y también ha hallado uso en los regímenes de tratamiento para la enfermedad de Hodgkin y linfomas malignos no Hodgkin. Alopecia y efectos neurológicos son los efectos secundarios más comunes de vincristina y en un grado menor se pueden producir mielosupresión y mucositis gastrointestinal.

35 La vinorelbina 3',4'-dideshidro-4'-desoxi-C'-norvincalécoblastina [R-(R*,R*)-2,3-dihidroibutanodioato (1:2) (sal)], disponible en el comercio como una solución inyectable de tartrato de vinorelbina (NAVELBINE®), es un alcaloide de la vinca semisintético. La vinorelbina está indicada como agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos, tales como cisplatino, en el tratamiento de diversos tumores sólidos, en particularmente cáncer pulmonar de pulmón de células no pequeñas, mamario avanzado y prostático refractario a hormonas. La mielosupresión es el efecto secundario limitante de dosis más común de la vinorelbina.

40 Los complejos de coordinación de platino son agentes anti-cáncer no específicos de fase, que son interactivos con el ADN. Los complejos de platino entran en las células tumorales, incorporan agua y forman entrecruzamientos intra e intercatenarios con el ADN lo que causa efectos biológicos adversos para el tumor. Los ejemplos de complejos de coordinación de platino incluyen, pero sin limitación, cisplatino y carboplatino.

45 El cisplatino, cis-diaminodicloroplatino, está disponible en el comercio como Platinol® como una solución inyectable. El cisplatino está indicado principalmente para el tratamiento de cáncer testicular y ovárico metastásico y cáncer de vejiga avanzado. La los efectos secundarios de la dosis limitante del cisplatino son la nefrotoxicidad, que se puede controlar por hidratación y diuresis, y ototoxicidad.

50 El carboplatino, platino, diamina [1,1-ciclobutano-dicarboxilato de dimetilo (2-)-O,O], está disponible en el comercio como PARAPLATIN® como una solución inyectable. El carboplatino se indica principalmente en la primera y segunda línea de tratamiento del carcinoma de ovario avanzado. La supresión de la médula ósea es la toxicidad limitante de dosis de carboplatino.

Los agentes alquilantes son fármacos anticáncer no específicos de fase y electrófilos fuertes. Típicamente, los agentes alquilantes forman enlaces covalentes, por alquilación, al ADN a través de restos nucleófilos de la molécula de ADN tales como grupos fosfato, amino, sulfhidrilo, hidroxilo, carboxilo, e imidazol. Dicha alquilación altera la función del ácido

nucleico, lo que conduce a la muerte celular. Los ejemplos de agentes alquilantes incluyen, pero sin limitación, mostazas nitrogenadas tales como ciclofosfamida, melfalán y, clorambucilo; sulfonatos de alquilo tales como busulfán; nitrosoureas tales como carmustina, y triazenos tales como dacarbazina.

5 La ciclofosfamida, monohidrato de 2-óxido de 2-[bis(2-cloroetil)amino]tetrahydro-2H-1,3,2-oxazafosforina, se encuentra disponible en el comercio como una solución o comprimidos inyectables como a CYTOXAN®. La ciclofosfamida está indicada como un agente único o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos, en el tratamiento de linfomas malignos, mieloma múltiple y leucemias. La alopecia, náuseas, vómitos y leucopenia son los efectos secundarios de la dosis limitante de la ciclofosfamida.

10 El melfalán, 4-[bis(2-cloroetil)amino]-L-fenilalanina, está disponible en el comercio como una solución inyectable o comprimidos como ALKERAN®. El melfalán está indicado para el tratamiento paliativo del mieloma múltiple y carcinoma epitelial no resecable del ovario. La supresión de la médula ósea es efecto secundario de la dosis limitante de melfalán.

15 El clorambucilo, ácido 4[bis(2-cloroetil)]aminobencenbutanoico está disponible en el comercio en forma de comprimidos LEUKERAN® El clorambucilo está indicado para el tratamiento paliativo de leucemia linfática crónica y linfomas malignos tales como linfosarcoma, linfoma folicular gigante, y enfermedad de Hodgkin. La supresión de la médula ósea es el efecto secundario de la dosis limitante de clorambucilo.

El busulfano, dimetanosulfonato de 1,4-butanodiol, está disponible en el comercio como MYLERAN® comprimidos. El busulfano está indicado para el tratamiento paliativo de la leucemia mielógena crónica. La supresión de la médula ósea es efecto secundario más común de la dosis limitante de de busulfano.

20 La carmustina, 1,3-[bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, está disponible en el comercio como viales individuales de material liofilizado como BiCNU®. La carmustina está indicada para el tratamiento paliativo como agente único o en combinación con otros agentes para tumores cerebrales, mieloma múltiple, enfermedad de Hodgkin, y linfoma no Hodgkin. La mielosupresión retardada es el efecto secundario más común de la dosis limitante de de la carmustina.

25 La dacarbazina, 5-(3,3- dimetil-1-triazeno)-imidazol-4-carboxamida, está disponible en el comercio como viales individuales de material como DTIC-Dome®. La dacarbazina está indicada para el tratamiento del melanoma maligno metastásico y en combinación con otros agentes para la segunda línea de tratamiento de la enfermedad de Hodgkin. Náuseas, vómitos y anorexia son los efectos secundarios más comunes de la dosis limitante de dacarbazina.

30 Los antibióticos antineoplásicos son agentes no específicos de fase, que se unen o se intercalan con el ADN. Típicamente, tal acción produce complejos de ADN estables o ruptura de cadenas, que alteran la función ordinaria de los ácidos nucleicos, lo que lleva a la muerte celular. Los ejemplos de agentes antineoplásicos antibióticos incluyen, pero sin limitación, actinomicinas tales como dactinomicina, antrociclinas tales como daunorrubicina y doxorubicina, y bleomicinas.

La dactinomicina, también conocido como actinomicina D, está disponible en el comercio en forma inyectable como COSMEGEN®. La dactinomicina está indicada para el tratamiento del tumor de Wilms y rabdomiosarcoma. Náuseas, vómitos y anorexia son la los efectos secundarios más comunes de la dosis limitante de de dactinomicina.

35 La daunorrubicina, clorhidrato de (8S-cis-)-8-acetil-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5, 12 naftacendiona, está disponible en el comercio como una forma inyectable liposómico como DAUNOXOME® o como un inyectable como CERUBIDINE®. La daunorrubicina está indicada para la inducción de la remisión en el tratamiento de la leucemia no linfocítica aguda y el sarcoma de Kaposi asociado a VIH avanzada. La mielosupresión es el efecto secundario de la dosis limitante de la daunorrubicina.

40 La doxorubicina, clorhidrato de (8S,10S)-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-8-glicolilo, 7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12- naftacendiona, está disponible en el comercio como una forma inyectable como RUBEX® o ADRIAMICINA RDF®. La doxorubicina se indica principalmente para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda y la leucemia mieloblástica aguda, pero también es un componente útil en el tratamiento de algunos tumores sólidos y linfomas. La mielosupresión es el efecto secundario más común de la dosis limitante de la doxorubicina.

45 La bleomicina, una mezcla de antibióticos glucopeptídicos citotóxicos aislados de una cepa de *Streptomyces verticillus*, está disponible en el comercio como Blenoxane®. La bleomicina está indicada como un tratamiento paliativo, como agente único o en combinación con otros agentes, del carcinoma de células escamosas, linfomas, y carcinomas testiculares. La toxicidad pulmonar y cutánea es el efecto secundario más común de la dosis limitante de de la bleomicina.

50 Los inhibidores de la topoisomerasa II incluyen, pero sin limitación, epipodofilotoxinas.

La epipodofilotoxinas son agentes antineoplásicos con especificidad de fase derivados de la planta mandrágora. Las epipodofilotoxinas normalmente afectan a las células en las fases S y G2 del ciclo celular formando un complejo ternario con la topoisomerasa II y el ADN, lo que provoca las rupturas de la cadena de ADN. Las rupturas de la cadena se acumulan y sigue la muerte celular. Los ejemplos de epipodofilotoxinas incluyen, pero sin limitación, etopósido y tenipósido.

El etopósido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-O-(R)-etiliden-13-D-glucopiranosido], está disponible en el comercio como una solución inyectable o cápsulas como VePESID® y se conoce comúnmente como VP-16. El etopósido está indicado como agente único o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de los cánceres testiculares y pulmonares de células no pequeñas. La mielosupresión es el efecto secundario más común del etopósido. La incidencia de leucopenia tiende a ser más grave que la trombocitopenia.

El tenipósido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-O-(R)-etilideno-β-D-glucopiranosido] está disponible en el comercio como una solución inyectable como VUMON® y se conoce comúnmente como VM-26. El tenipósido está indicado como un agente único o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de la leucemia aguda en niños. La mielosupresión es efecto secundario más común de la dosis limitante de tenipósido. El tenipósido puede inducir leucopenia y trombocitopenia.

Los agentes neoplásicos antimetabolitos son agentes antineoplásicos con especificidad de fase que actúan en la fase S (síntesis de ADN) del ciclo celular por la inhibición de la síntesis de ADN o mediante la inhibición de la síntesis de bases purínicas y pirimidínicas y de este modo limita la síntesis de ADN. Por consiguiente, la fase S no avanza y prosigue la muerte celular. Los ejemplos de agentes antineoplásicos antimetabolitos incluyen, pero sin limitación, fluorouracilo, metotrexato, citarabina, mercaptopurina, tioguanina, y gemcitabina.

5-fluorouracilo, 5-fluoro-2,4-(1H,3H) pirimidindiona, está disponible en el comercio como fluorouracilo. La administración de 5-fluorouracilo lleva a la inhibición de la síntesis de timidilato y también se incorpora en ARN y ADN. El resultado típicamente es la muerte celular. 5-fluorouracilo está indicado como un agente único o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de los carcinomas de mama, colon, recto, estómago y páncreas. La mielosupresión y la mucositis son los efectos secundarios limitantes de la dosis de 5-fluorouracilo. Otros análogos de fluoropirimidina incluyen 5-fluoro desoxiuridina (floxuridina) y monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina.

La citarabina, 4-amino-1-β-D-arabinofuranosil-2(1H)-pirimidinona, está disponible en el mercado como CYTOSAR-U® y se conoce comúnmente como Ara-C. Se cree que la citarabina presenta especificidad de fase celular en la fase S mediante la inhibición de elongación de la cadena de ADN por incorporación de terminal de citarabina en la cadena de ADN en crecimiento. La citarabina está indicada como agente único o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de la leucemia aguda. Otros análogos de citidina incluyen 5-azacitidina y 2',2'-difluorodesoxicitidina (gemcitabina). La citarabina induce leucopenia, trombocitopenia y mucositis.

La mercaptopurina, monohidrato de 1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona, está disponible en el mercado como PURINETHOL®. La mercaptopurina exhibe especificidad de fase celular en la fase S mediante inhibición de la síntesis de ADN por un mecanismo hasta el momento no especificado. La mercaptopurina está indicada como agente único o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de la leucemia aguda. La mielosupresión y la mucositis gastrointestinal son efectos secundarios esperados de la mercaptopurina a altas dosis. Un análogo de mercaptopurina útil es azatioprina.

La tioguanina, 2-amino-1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona, está disponible en el comercio como TABLOID®. La tioguanina presenta especificidad de fase celular en la fase S mediante la inhibición de la síntesis de ADN por un mecanismo hasta el momento no especificado. La tioguanina está indicada como agente único o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento de la leucemia aguda. La mielosupresión, que incluye leucopenia, trombocitopenia y anemia, es el efecto secundario más común de la dosis limitante de la administración de tioguanina. Sin embargo, se producen efectos secundarios gastrointestinales y pueden ser limitantes de la dosis. Otros análogos de purina incluyen pentostatina, eritrohidroxiniladenina, fosfato de fludarabina y cladribina.

La gemcitabina, 2'-desoxi,2'-difluorocitidina monohidrato (isómero β), está disponible en el comercio como GEMZAR®. La gemcitabina presenta especificidad de fase celular en la fase S y mediante el bloqueo de la progresión de las células a través del límite G1/S. La gemcitabina está indicada en combinación con cisplatino en el tratamiento del cáncer pulmonar de células no pequeñas localmente avanzado y sola en el tratamiento de cáncer de páncreas localmente avanzado. La mielosupresión, que incluye leucopenia, trombocitopenia y anemia, es el efecto secundario más común de la dosis limitante de la administración de gemcitabina.

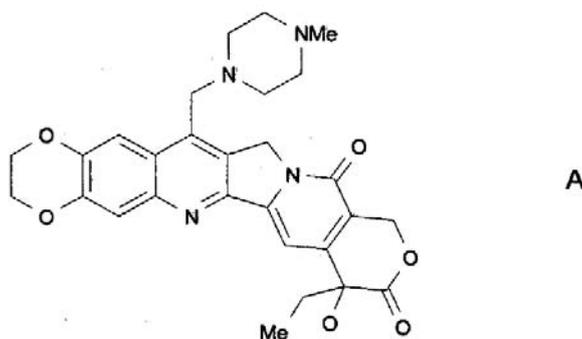
El metotrexato, ácido N-4[[{(2,4-diamino-6-pteridinil) metil]metilamino]benzoil]-L-glutámico, está disponible en el comercio como metotrexato sódico. El metotrexato presenta efectos de fase de células específicamente en la fase S mediante la inhibición de la síntesis, reparación y/o replicación de ADN a través de la inhibición de la ácido dihidrofólico reductasa

que se requiere para la síntesis de los nucleótidos de purina y timidilato. El metotrexato está indicado como un agente único o en combinación con otros agentes de quimioterapia en el tratamiento del coriocarcinoma, leucemia meníngea, linfoma no Hodgkin y carcinomas de la mama, cabeza, cuello, ovario y vejiga. La mielosupresión (leucopenia, trombocitopenia y anemia) y la mucositis son efectos secundarios esperados de la administración de metotrexato.

- 5 Las camptotecinas, que incluyen camptotecina y derivados de la camptotecina están disponibles o en desarrollo como inhibidores de topoisomerasa I. Se cree que la actividad citotóxica de las camptotecinas está relacionada con su actividad inhibidora de la topoisomerasa I. Los ejemplos de camptotecinas incluyen, pero sin limitación, irinotecano, topotecano, y las diversas formas ópticas de 7-(4-metil-piperazino-metilen)-10,11-etilendioxi-20-camptotecina descritas a continuación.
- 10 El irinotecano HCl, (4S)-4,11-dietil-4-hidroxi-9-[(4-piperidinopiperidino)carbonilo]oxi-1H-pirano[3',4',6,7] indolizino[1,2-b]quinolina-3,14(4H,12H)-diona, está disponible en el comercio como la solución inyectable CAMPTOSAR®. El irinotecano es un derivado de camptotecina que se une, junto con su metabolito activo SN-38, al complejo de topoisomerasa I-ADN. Se considera que la citotoxicidad se produce como resultado de rupturas irreparables en la doble cadena causadas por la interacción del complejo ternario de topoisomerasa I : ADN : irinotecano o SN-38 con las
- 15 enzimas de replicación. El irinotecano está indicado para el tratamiento del cáncer metastásico de colon o recto. Los efectos secundarios limitantes de la dosis de irinotecano HCl son mielosupresión, que incluye neutropenia, y efectos GI, que incluyen diarrea.

20 El topotecano HCl, monohidrato de (8)-10-[[dimetilamino]metil]-4-etil-4,9-dihidroxi-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14-(4H, 12H)-diona, está disponible en el comercio como solución inyectable HYCAMTIN®. El topotecano es un derivado de camptotecina que se une al complejo de topoisomerasa I-ADN y evita el religamiento de las rupturas de cadenas individuales causadas por la topoisomerasa I en respuesta a la tensión de torsión de la molécula de ADN. El topotecano está indicado para tratamiento de segunda línea del carcinoma metastásico de ovario y cáncer de pulmón de células pequeñas. El efecto secundario limitante de la dosis de topotecano HCl es mielosupresión, principalmente neutropenia.

25 También de interés, es el siguiente derivado de camptotecina de fórmula A, actualmente en desarrollo, que incluye la mezcla racémica (R, S), así como los enantiómeros R y S:



30 conocido por el nombre químico "7-(4-metil-piperazino-metilen)-10,11-etilendioxi-20(R,S)-camptotecina (mezcla racémica) o "7-(4-metil-piperazino-metilen)-10,11-etilendioxi-20(R)-camptotecina (enantiómero R) o "7-(4-metil-piperazino-metilen)-10,11-etilendioxi-20(S)-camptotecina (enantiómero S). Tal compuesto así como los compuestos relacionados se describen, incluyendo los métodos de fabricación, en la Patente de U.S. N.º 6.063.923; 5.342.947; 5.559.235; 5.491.237 y solicitud de patente de U.S. N.º 08/977.217 presentada el 24 de noviembre de 1997.

35 Las hormonas y los análogos hormonales son compuestos útiles para el tratamiento de cánceres en los que existe una relación entre las hormonas y el crecimiento y/o ausencia de crecimiento del cáncer. Los ejemplos de hormonas y análogos hormonales útiles en el tratamiento del cáncer incluyen, pero sin limitación, adrenocorticoesteroides tales como prednisona y prednisolona que son útiles en el tratamiento de linfoma maligno y leucemia aguda en niños; aminoglutetimida y otros inhibidores de la aromataza tales como anastrozol, letrozol, vorazol, y exemestano útiles en el tratamiento del carcinoma adrenocortical y carcinoma de mama dependiente de hormonas que contiene receptores de estrógenos; progestinas tales como acetato de megestrol útiles en el tratamiento de cáncer de mama dependiente de

40 hormonas y carcinoma de endometrio; estrógenos, andrógenos, y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, acetato de ciproterona y 5 α -reductasas tales como finasterida y dutasterida, útiles en el tratamiento de carcinoma prostático y la hipertrofia benigna de próstata, anti-estrógenos tales como tamoxifeno, torremifeno, raloxifeno,

droloxifeno, yodoxifeno, así como moduladores selectivos de los receptores estrogénicos (SERM) como los descritos en las Patentes de U.S. Nros. 5.681.835, 5.877.219, y 6.207.716, útiles en el tratamiento del carcinoma de mama dependiente de hormonas y otros cánceres susceptibles, y la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y sus análogos que estimulan la liberación de la hormona luteinizante (LH) y/o la hormona foliculo estimulante (FSH) para el tratamiento de carcinoma prostático, por ejemplo, agonistas y antagonistas de LHRH tales como acetato de goserelina y luprolida.

Los inhibidores de la vía de transducción de señales son los inhibidores que bloquean o inhiben un proceso químico que provoca un cambio intracelular. Como se usa en la presente, este cambio es la proliferación o diferenciación celular. Los inhibidores de la transducción de señales útiles en la presente invención incluyen inhibidores del receptor de tirosina quinasa, tirosina quinasa no receptor, bloqueadores del dominio SH2/SH3, serina/treonina quinasa, fosfatidilinositol-3-quinasa, señalización de mioinositol y oncogenes Ras.

Varias proteínas tirosina quinasa catalizan la fosforilación de residuos específicos de tirosilo en diversas proteínas implicadas en la regulación del crecimiento celular. Tales proteínas tirosina quinasa se pueden clasificar generalmente como receptor o no receptor de quinasa.

Los receptores de tirosina quinasa son proteínas de transmembrana que tienen un dominio de unión al ligando extracelular, un dominio de transmembrana, y un dominio tirosina quinasa. Los receptores de tirosina quinasa están involucrados en la regulación del crecimiento celular y en general se denominan receptores del factor de crecimiento. Se ha demostrado que la activación inapropiada o descontrolada de muchas de estas quinasa, es decir, actividad del receptor del factor de crecimiento quinasa aberrante, por ejemplo, por sobreexpresión o mutación, produce un crecimiento celular descontrolado. En consecuencia, la actividad aberrante de tales quinasa se ha vinculado con el crecimiento de tejido maligno. Por consiguiente, los inhibidores de estas quinasa podrían proporcionar métodos de tratamiento del cáncer. Los receptores del factor de crecimiento incluyen, por ejemplo, receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR), erbB2, erbB4, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), tirosina quinasa con dominios de homología de factores de crecimiento tipo inmunoglobulina y epidérmico (TIE-2), receptor del factor de crecimiento de insulina-I (IGF-I), factor estimulante de colonias de macrófagos (cfms), BTK, ckit, cmet, receptores de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), receptores Trk (TrkA, TrkB, y TrkC), receptores de efrina (EFE) y el protooncogén RET. Varios inhibidores de receptores de crecimiento están en desarrollo e incluyen antagonistas de ligandos, anticuerpos, inhibidores de tirosina quinasa y oligonucleótidos anti-sentido. Los receptores del factor de crecimiento y agentes que inhiben la función del receptor del factor de crecimiento se describen, por ejemplo, Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6):803-818; Shawver et al DDT Vol 2, No. 2 February 1997; and Lofts, F. J. et al, "Growth factor receptors as targets", New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, ed. Workman, Paul and Kerr, David, CRC press 1994, Londres.

Las tirosina quinasa, que no son quinasa del receptor del factor de crecimiento se denominan tirosina quinasa no receptor. Las tirosina quinasa no receptor para usar en la presente invención, que son blancos o blancos potenciales de fármacos anticáncer, incluyen cSrc, Lek, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (quinasa de adhesión focal), tirosina quinasa de Brutons y Bcr-Abl. Tales quinasa no receptoras y agentes que inhiben la función de tirosina quinasa no receptor se describen en Sinh, S. and Corey, S.J., (1999) Journal of Hematology and Stem Cell Research 8 (5): 465 — 80; and Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) Annual review of Immunology. 15: 371- 404.

Los bloqueadores de dominio SH2/SH3 son agentes que alteran el dominio de unión de SH2 o SH3 en una variedad de enzimas o proteínas adaptadoras que incluyen, subunidad p85 de PI3-K, quinasa de la familia Src, moléculas adaptadoras (Shc, Crk, Nck, Grb2) y Ras-GAP. Los dominios SH2/SH3 como blancos para los fármacos anticáncer se discuten en Smithgall, T.E. (1995), Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 34(3) 125-32.

Los inhibidores de la serina/treonina quinasa que incluyen bloqueadores de la cascada de MAP quinasa, que incluyen bloqueadores de Raf quinasa (rafk), quinasa regulada por mitógenos o en forma extracelular (MEK), y quinasa reguladas en forma extracelular (ERK), y bloqueadores de los miembros de la familia de proteína quinasa C que incluye bloqueadores de PKC (alfa, beta, gamma, épsilon, mu, lambda, iota, zeta), familia de las quinasa Ikb (IKKa, IKKb), quinasa de la familia PKB, miembros de la familia quinasa akt, y quinasa del receptor de TGF beta. Tales serina/treonina quinasa y sus inhibidores se describen en Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), Journal of Biochemistry. 126 (5) 799-803; Brodt, P., Samani, A., and Navab, R. (2000), Biochemical Pharmacology, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-García, F. (1996) Cancer Surveys. 27:41-64; Philip, P.A., and Harris, A.L. (1995), Cancer Treatment and Research. 78: 3-27, Lackey, K. et al Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, (10), 2000, 223-226; U.S. Patent No. 6.268.391; and Martínez-Illacaci, L., et al, Int. J. Cancer (2000), 88(1), 44-52.

Los inhibidores de los miembros de la familia de fosfatidilinositol-3 quinasa que incluyen bloqueadores de PI3-quinasa, ATM, ADN-PK, y Ku también pueden ser útiles en la presente invención. Tales quinasa se analizan en Abraham, R.T. (1996), Current Opinion in Immunology. 8 (3) 412-8; Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), Oncogene 17 (25) 3301-3308;

Jackson, S.P. (1997), *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 29 (7):935-8; and Zhong, H. et al, *Cancer Res*, (2000) 60(6), 1541-1545.

También de interés en la presente invención son los inhibidores de la señalización Mio-inositol tales como bloqueadores de la fosfolipasa C y análogos mioinositol. Dichos inhibidores de señal se describen en Powis, G., and Kozikowski A., (1994) *New Molecular Targets for Cancer*. Chemotherapy ed., Paul Workman and David Kerr, CRC press 1994, Londres.

Otro grupo de inhibidores de la vía de transducción de señales son los inhibidores del oncogén Ras. Tales inhibidores incluyen los inhibidores de farnesiltransferasa, geranio-geranil transferasa, y CAAX proteasas así como oligonucleótidos antisentido, ribozimas e inmunoterapia. Se ha demostrado que tales inhibidores bloquean la activación de ras en células que contienen ras mutante tipo salvaje, de este modo actúan como agentes antiproliferación. La inhibición del oncogén Ras se analiza en Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Motor, P. (2000), *Journal of Biomedical Science*. 7(4) 292-8; Ashby, M.N. (1998), *Current Opinion in Lipidology*. 9 (2) 99-102; and *BioChim. Biophys. Acta*, (19899) 1423(3):19-30.

Como se mencionó anteriormente, los antagonistas de anticuerpos para la unión del ligando del receptor de quinasa también pueden servir como inhibidores de la transducción de señales. Este grupo de vía de transducción de señal inhibidores incluyen el uso de anticuerpos humanizados para el dominio de unión a ligando extracelular de, receptor de tirosina quinasa. Por ejemplo anticuerpos específico EGFR Imclone C₂25 (ver, Green, M.G. et al, *Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors*, *Cancer Treat. Rev.*, (2000), 26(4), 269-286); anticuerpo erbB2 Herceptin® (ver Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, *Breast cancer Res.*, 30 2000, 2(3), 176-183); y anticuerpos específico 2CB VEGFR² (ver Brekken, R.A. et al, *Selective Inhibition of VEGFR² Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice*, *Cancer Res*. (2000) 60, 5117-5124).

Los inhibidores de la angiogénesis de la quinasa no receptor también pueden ser útiles en la presente invención. Los inhibidores de la angiogénesis relacionados con VEGFR y TIE2 se describieron anteriormente con respecto a inhibidores de la transducción de señales (tirosina quinasas receptor y no receptor). La angiogénesis en general está vinculada a la señalización de erbB2/EGFR ya que se ha demostrado que los inhibidores de EGFR y erbB2 inhiben la angiogénesis, principalmente la expresión de VEGF. En consecuencia, los inhibidores no receptor de tirosina quinasa se pueden utilizar en combinación con los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, se ha comprobado que los anticuerpos anti-VEGF, que no reconocen VEGFR (el receptor de tirosina quinasa), pero se unen al ligando; inhibidores de molécula pequeña de la integrina (alfa, beta 3) que inhibirá la angiogénesis; endostatina y angiostatina (no RTK) también pueden ser útiles en combinación con los compuestos descritos. (Ver Bruns CJ et al (2000), *Cancer Res.*, 60: 2926-2935; Schreiber AB, Winkler ME, and Derynck R. (1986), *Science*, 232: 1250-1253; Yen L et al. (2000), *Oncogene* 19: 3460-3469).

Los agentes usados en regímenes inmunoterapéuticos también pueden ser útiles en combinación con los compuestos de fórmula (I). Existen numerosas estrategias inmunológicas para generar una respuesta inmune. Estas estrategias generalmente están en el campo de las vacunas tumorales. La eficacia de las estrategias inmunológicas se puede mejorar en gran medida a través de la inhibición combinada de las vías de señalización mediante el uso de un inhibidor de molécula pequeña. La discusión de la estrategia inmunológica/vacuna contra el tumor contra erbB2/EGFR se encuentran en Reilly RT et al. (2000), *Cancer Res*. 60: 3569-3576; and Chen Y, Hu D, Eling DJ, Robbins J, and Kipps TJ. (1998), *Cancer Res*. 58: 1965-1971.

Los agentes usados en regímenes proapoptóticos (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido bcl-2) también se pueden utilizar en la combinación de la presente invención. Los miembros de la familia de proteínas Bcl-2 bloquean la apoptosis. Por lo tanto, la regulación por aumento de bcl-2 se ha relacionado con la quimiorresistencia. Los estudios han demostrado que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimula a los miembros antiapoptóticos de la familia Bcl-2 (es decir, mcl-1). Por lo tanto, las estrategias diseñadas para regular por disminución de la expresión de bcl-2 en tumores han demostrado beneficio clínico y ahora están en ensayos de Fase II/III, a saber oligonucleótidos antisentido G3139 bcl-2 de Genta. Tales estrategias proapoptóticas que usan la estrategia de oligonucleótidos antisentido para bcl-2 se analizan en Water JS et al. (2000), *J. Clin. Oncol*. 18: 1812-1823; and Kitada S et al. (1994), *Antisense Res. Dev*. 4: 71-79.

Los inhibidores de la señalización del ciclo celular inhiben las moléculas involucradas en el control del ciclo celular. Una familia de proteínas quinasas llamadas quinasas dependientes de ciclina (CDK) y su interacción con una familia de proteínas denominadas ciclinas controlan la progresión a través del ciclo celular eucariota. La activación e inactivación coordinada de diferentes complejos de ciclina/CDK es necesaria para la progresión normal a través del ciclo celular. Varios inhibidores de la señalización del ciclo celular están en fase de desarrollo. Por ejemplo, ejemplos de quinasas dependientes de ciclina, que incluye CD1 < 2, CDK4, y CDK6 e inhibidores de estos se describen, por ejemplo, Rosania et al, *Exp. Opin. Ther. Patents* (2000) 10(2):215-230.

Composiciones

- Los compuestos de la fórmula I o sus sales farmacéuticamente aceptables serán normalmente, si bien no necesariamente, formulados en composiciones farmacéuticas antes de su administración a un paciente. Por lo tanto, en otro aspecto la invención está orientada a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser preparadas y envasadas a granel en donde una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula o una de sus sales farmacéuticamente aceptables puede ser extraída y seguidamente suministrada al paciente tal como por ejemplo en forma de polvos o jarabes. Como alternativa, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser preparados y envasados en formas de dosis unitarias en donde cada unidad físicamente discreta contiene una cantidad segura y efectiva de un compuesto de la fórmula o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Cuando se lo prepara en forma de dosis unitaria, las composiciones farmacéuticas de la invención típicamente pueden contener, por ejemplo, de 0,5 mg a 1 mg, o de 1 mg a 700 mg, o de 5 mg a 100 mg de un compuesto de la invención.
- Las composiciones farmacéuticas de la invención típicamente contienen un compuesto de la fórmula I o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Sin embargo, en determinadas formas de realización, las composiciones farmacéuticas de la invención contienen más de un compuesto de la fórmula I. Además, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden opcionalmente comprender también uno o más compuestos farmacéuticamente activos.
- Tal como se utiliza en la presente, la expresión “excipiente farmacéuticamente aceptable” se refiere a un material, composición o vehículo, farmacéuticamente aceptables que interviene cuando se da forma o consistencia a la composición farmacéutica. Cada excipiente ha de ser compatible con los otros ingredientes de la composición farmacéutica cuando se mezclan conjuntamente de manera tal que las interacciones que reducirían sustancialmente la eficacia del compuesto de la invención cuando se lo administra a un paciente y se evitarían interacciones que tendrían como resultado composiciones farmacéuticas que no son farmacéuticamente aceptables. Además, cada excipiente ha de tener por supuesto una pureza suficientemente elevada para hacerlo farmacéuticamente aceptable.
- El compuesto de la fórmula o su sal farmacéuticamente aceptable y el o los excipientes farmacéuticamente aceptables típicamente se formularán en una forma de dosis adaptada para su administración al paciente por la vía de administración deseada. Por ejemplo, las formas de dosis incluyen las adaptadas para (1) administración oral tal como comprimidos, cápsulas, minicápsulas, píldoras, obleas, polvos, jarabes, elixires, suspensiones, soluciones, emulsiones, sachets y pastillas; y (2) administración parenteral tal como soluciones o suspensiones estériles, y polvos reconstituibles.
- Los excipientes farmacéuticamente aceptables variarán en función de la forma de dosis elegida. Además, es posible elegir excipientes farmacéuticamente aceptables para una función particular que puedan desempeñar en la composición. Por ejemplo, determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser elegidos por su capacidad de facilitar la producción de formas de dosis unitarias. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser elegidos por su capacidad de facilitar la producción de formas de dosis estables. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser elegidos por su capacidad de facilitar el transporte o para transportar el o los compuestos de la invención una vez administrado al paciente desde un órgano, o porción del cuerpo, a otro órgano, o parte del cuerpo. Determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser elegidos por su capacidad de estimular el cumplimiento del paciente.
- Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen los siguientes tipos de excipientes: diluyentes, rellenos, aglutinantes, agentes de desintegración, agentes lubricantes, agentes de deslizamiento, agentes de granulación, agentes de recubrimiento, agentes de humectación, solventes, cosolventes, agentes de suspensión, emulsionantes, endulzantes, agentes saborizantes, agentes enmascaradores del sabor, agentes colorantes, agentes antiaglomerantes, humectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes para aumentar la viscosidad, antioxidantes, agentes de conservación, estabilizantes, tensioactivos, y agentes de tamponamiento. El experto en el arte comprenderá que determinados excipientes farmacéuticamente aceptables pueden desempeñar más de una función y pueden servir para funciones alternativas en función de la cantidad de excipiente presente en la formulación y de qué otros ingredientes se hallen presentes en la formulación.
- Los expertos en el arte tienen el conocimiento y la pericia en la técnica que les permite seleccionar excipientes farmacéuticamente aceptables en cantidades adecuadas para su uso en invención. Además, hay una cantidad de recursos disponibles para los expertos en los que se describen excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden ser útiles para seleccionar excipientes farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos incluyen Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company). The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing

Limited) y The Handbook of Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press).

Las composiciones farmacéuticas se preparan mediante técnicas y métodos conocidos de los expertos. Algunos de los métodos de uso común en la técnica se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company).

En un aspecto, la invención está orientada a una forma de dosificación sólida tal como un comprimido o cápsula que comprende una cantidad segura y efectiva de un compuesto de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un diluyente o relleno. Los diluyentes y rellenos adecuados incluyen lactosa, sacarosa, dextrosa, manitol, sorbitol, almidón (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de papa, y almidón pregelatinizado), celulosa y sus derivados (por ejemplo, celulosa microcristalina), sulfato de calcio, y fosfato de calcio dibásico. La forma de dosificación sólida oral puede además comprender un aglutinante. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de papa, y almidón pregelatinizado), gelatina, acacia, alginato de sodio, ácido algínico, tragacanto, goma guar, povidona y celulosa y sus derivados (por ejemplo, celulosa microcristalina). La forma de la dosificación sólida oral puede además comprender un agente de desintegración. Los agentes de desintegración adecuados incluyen crospovidona, almidón de sodio glicolato, croscarmelosa, ácido algínico, y carboximetilcelulosa sódica. La forma de dosificación sólida oral puede además comprender un agente lubricante. Los agentes lubricantes adecuados incluyen ácido esteárico, estearato de magnesio, estearato de calcio, y talco.

Cuando sea adecuado, las formulaciones para dosis unitarias destinadas a la administración oral pueden ser microencapsuladas. También es posible preparar la composición para prolongar o mantener una liberación como por ejemplo mediante recubrimiento o inhibición de material en forma de partículas en polímeros, cera o similar.

Los compuestos de la invención también pueden ser acoplados con polímeros solubles en calidad de portadores de fármaco dirigibles. Dichos polímeros pueden incluir polivinipirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamida fenol, polihidroxietilaspártamida fenol, o polietilenoóxido polisilano sustituido con residuos palmitoilo. Por otra parte, los compuestos de la invención pueden ser acoplados a una clase de polímeros biodegradables útiles para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo ácido poliláctico, poliepsilón, caprolactona, polihidroxí ácido butírico, poliortoésteres, policetales, polihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque de hidrogeles reticulados o anfipáticos.

En un aspecto, la invención está orientada a una forma de dosificación oral líquida. Los líquidos de uso oral tales como una solución, jarabes y elixires pueden prepararse en forma de dosificación unitaria de manera tal que una cantidad dada contiene una cantidad predeterminado de un compuesto de la invención. Los jarabes pueden prepararse disolviendo compuesto de la invención en una solución acuosa adecuadamente saborizada, mientras que en los elixires se preparan mediante la utilización de un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones pueden ser formuladas dispersando el compuesto de la invención en un vehículo no tóxico. También es posible añadir solubilizantes y emulsionantes tales como los alcoholes isoestearílicos etoxilados y los éteres de polioxietilensorbitol, agentes de conservación, aditivos saborizantes tales como de menta o los endulzantes naturales o sacarina u otros endulzantes artificiales, y similares.

Es posible añadir otros excipientes farmacéuticamente aceptables a la suspensión o solución. El compuesto de la invención puede ser estabilizado mediante la adición de un ácido inorgánico, por ejemplo ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y/o ácido fosfórico; un ácido orgánico por ejemplo ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido acético., y ácido tartárico, etc., un agente complejizante tal como EDTA o ácido cítrico y sus sales; o un agente antioxidante tal como una vitamina E o ácido ascórbico. Los mismos pueden utilizarse solos o conjuntamente para estabilizar el compuesto de la invención. Es posible añadir agentes de conservación tales como cloruro de benzalconio o ácido benzoico y sus sales. Es horrible añadir un tensioactivo particularmente para mejorar la estabilidad física de las suspensiones. Los tensioactivos incluyen lecitina, dioctilsulfosuccinato disódico, ácido oleico y ésteres de sorbitano.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica adaptada para la administración parenteral, que comprende un compuesto de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles, acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, agentes tamponantes, agentes bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en contenedores de dosis unitaria o de múltiples dosis, por ejemplo ampollas y frascos sellados, y se las puede almacenar bajo condición de secado por congelación (liofilización) que requiere solamente la adición de un portador líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de la utilización. Las soluciones y suspensiones para inyecciones extemporáneas pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

Ejemplos

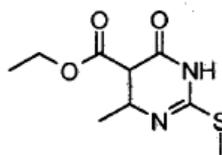
5 Los siguientes ejemplos ilustran la invención. Estos ejemplos no tienen por objeto limitar los alcances de la presente invención sino la de proveer una guía a la persona experta para preparar y utilizar los compuestos, composiciones y métodos de la presente invención. Si bien se describen formas de realización particulares de la presente invención, la persona experta comprenderá que es posible efectuar diversos cambios y modificaciones sin apartarse del espíritu y alcances de la invención.

Instrumentación:

LC-MS:

Instrumentación:

- 10 LC: Shimadzu 10A (controlador, bombas, y detector de UV)
 UV: Shimadzu 10A (214 nm)
 ELS: Sedere Sedex 75C
 MS: PE Sciex Single Quadrupole 100LC, 150EX, o Waters 2Q Polaridad (positiva); Modo (perfil); Scan Time (0,33 s); Etapa (0,2 m/z) Capilaridad V (5500); Cono V (25-45);
- 15 Automuestreador: CTC Leap; bucle 3 uL; volumen de inyección por defecto = 2 µl (por defecto)
 Columna: Termo Hypersil Gold (C18, 20x2,2 mm, 1,9 u diám. de partícula)
 Calentador: Phenomenex 45 °C
 Solvente A: H₂O, TFA al 0,02%
 Solvente B: MeCN, TFA al 0,018%
- 20 Gradiente;
- | Tiempo (min) | Flujo (mL/min) | Sol. B |
|--------------|----------------|--------|
| 0,02 | 1,6 | 4,0 |
| 1,90 | | 92,0 |
| 1,91 | | 4,0 |
| 2,00 | parada | |
- 25 Condiciones de HPLC:
 Solvente A: 0,1 % de TFA/H₂O
 Solvente B: 0,1 % de TFA/CH₂CN
 Columnas:
 Luna 5u C18(2) 100A AXIA 50 x 30 mm 5 micrones columna preparativa
- 30 Luna 5u C18(2) 100A AXIA 50 x 21,20 mm 5 micrones columna preparativa
 Detección de UV a 254 nm.
 Intermediario 1
 4-metil-2-(metiltio)-6-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-5-pirimidincarboxilato de etilo



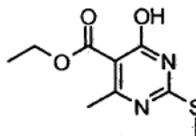
- 5 Un recipiente de base redonda se cargó con sulfato de S-metilisotiuuronio (14,0 g, 100,6 mmol), etilidenmalonato de dietilo (18,7 g, 100,6 mmol), trietilamina (20,4 g, 201,2 mmol) y etanol (200 mL). El recipiente se equipó con un condensador a reflujo y la reacción se calentó a reflujo durante 20 h. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el etanol se eliminó al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (200 mL) y la solución se lavó con agua, salmuera y se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se evaporó para obtener el producto (12,2 g, 87% de rendimiento).

MS: $\text{M}(\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_1) = 230,29$, $(\text{M}+\text{H})^+ = 231,0$.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,07 - 1,36 (m, 6 H), 2,23 - 2,46 (m, 3 H), 2,98 - 3,38 (m, 1 H), 3,90 - 4,45 (m, 3 H) 8,61 (br. s, 1 H).

10 Intermediario 2

4-metil-2-(metiltio)-6-oxo-1,6-dihidro-5-pirimidincarboxilato de etilo



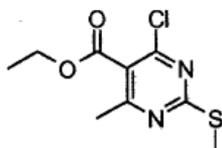
- 15 Un recipiente de base redonda se cargó con 4-metil-2-(metiltio)-6-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-5-pirimidincarboxilato de etilo (11,2 g, 48,7 mmol), N-bromosuccinimida (8,67 g, 48,7 mmol), peróxido de benzoílo (0,65 g, 2,7 mmol), carbonato de potasio (67 g, 487 mmol) y tetracloruro de carbono (700 mL). La reacción se calentó a reflujo durante 45 min y se enfrió hasta temperatura ambiente. La reacción se neutralizó con agua (500 mL) y se lavó con cloruro de metileno. La fase acuosa se acidificó por adición gota a gota de HCl conc. y se extrajo con cloruro de metileno. El extracto se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se evaporó al vacío para obtener el producto (8,2 g, 78% de rendimiento).

MS: $\text{M}(\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_1) = 228,27$, $(\text{M}+\text{H})^* = 228,9$.

- 20 ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,43 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H), 2,58 (s, 3 H), 2,59 (s, 3 H), 4,44 (q, $J = 7,1$ Hz, 2 H) 12,46 (br. s., 1 H)

Intermediario 3

4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo



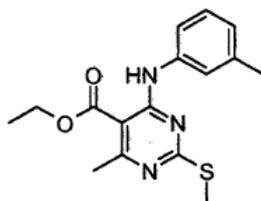
- 25 Un recipiente de base redonda se cargó con 4-metil-2-(metiltio)-6-oxo-1,6-dihidro-5-pirimidincarboxilato de etilo (6 g) y oxicloruro de fósforo (30 ml) y se calentó a reflujo durante 3 h. El oxicloruro de fósforo se eliminó al vacío. El residuo se cromatografió (gel de sílice, eluyendo con cloruro de metileno) para obtener el producto (5,73 g, 87% de rendimiento).

MS: $\text{M}(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_1\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_1) = 246,12$, $(\text{M}+\text{H})^+ = 246,8$.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) ppm 1,41 (t, $J = 7,2$ Hz, 3 H), 2,50 (s, 3 H), 2,57 (s, 3 H), 4,44 (q, $J = 7,2$ Hz, 2 H).

30 Intermediario 4

4-metil-6-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo



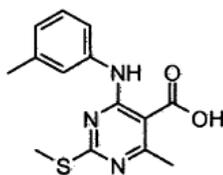
5 Un recipiente de base redonda se cargó con 4-metil-6-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo (2,5 g, 10,13 mmol), diisopropiletilamina (2,88 g, 22,3 mmol), 3-metilaniлина (1,19 g, 11,14 mmol) y dimetilformamida (40 mL). La reacción se calentó a 70 °C con agitación durante la noche. El disolvente se evaporó al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (100 mL) y la solución se lavó con agua, salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó. Este material se cromatografió (gel de sílice, eluyendo con gradiente de hexano a cloruro de metileno) para obtener el producto (2,83 g, 75% de rendimiento).

MS: M(C₁₆H₁₉N₃O₂S₁) = 317,41, (M+H)⁺ = 318,1

10 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) ppm 1,43 (t, J = 7,2 Hz, 3 H), 2,36 (s, 3 H), 2,52 (s, 3 H), 2,64 (s, 3 H), 4,40 (q, J = 7,07 Hz, 2 H), 6,94 (t, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,19 – 7,32 (m, 1 H), 7,41 - 7,57 (m, 2 H), 10,57 (br. s., 1 H).

Intermediario 5

Ácido 4-metil-6-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxílico



15 A un recipiente de base redonda de 100 ml se añadieron 4-metil-6-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo (2,83 g, 8,92 mmol), hidróxido de sodio (disuelto en 5 mL de agua) (0,53 g, 13,4 mmol), etanol (25 ml) y agua (25 ml). La reacción se agitó a reflujo durante 2 h. Se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se trató con agua (100 ml) y se acidificó por adición gota a gota de ácido acético. Luego se añadió acetato de etilo (500 ml) y la mezcla se agitó durante 10 min. La fase orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2x) y los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con agua, salmuera y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se eliminó al vacío para obtener el producto (2,6 g).

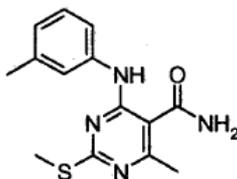
Elaboración alternativa: después de la acidificación de la fase acuosa con ácido acético, el producto precipitado se filtró y se secó en horno de vacío.

MS: M(C₁₄H₁₅N₃O₂S₁) = 289,36, (M+H)⁺ = 289,7

25 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,92 (s, 3 H), 2,31 (s, 3 H), 2,47 (s, 3 H), 6,93 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,24 (t, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,42 (s, 1 H), 7,50 (s, 1 H), 10,69 (s, 1 H), 11,32 - 14,57 (m, 1 H).

Intermediario 6

4-metil-6-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxamida



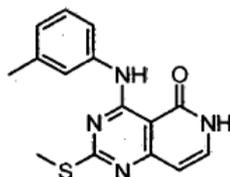
5 A una solución de ácido 4-metil-6-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxílico (1,71 g, 5,90 mmol) en DMF (40 mL) se añadieron hexafluorofosfato de o-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N,N-tetrametiluronio (4,88 g, 12,8 mmol) y diisopropiletilamina (3,83 g, 29,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 10 min antes de añadir hidróxido de amonio (7,2 ml del 28%). La mezcla se agitó durante 20 min más y la DMF se eliminó al vacío. El residuo se dividió en acetato de etilo y agua. El producto insoluble se recolectó por filtración y se secó al vacío (0,54 g). La fase orgánica se separó, se lavó con NaOH 1 N, agua y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se eliminó al vacío para dar producto adicional (1,03 g) que se combinó con el producto precipitado previamente obtenido (1,27 g en total, 74% de rendimiento).

MS: M(C₁₄H₁₆N₄O₁S₁) = 288,37, (M+H)⁺ = 288,7

10 ¹H RMN (400 MHz, DMSD-d₆) δ ppm 2,29 (s, 3 H), 2,39 (s, 3 H), 2,46 (s, 3 H), 6,88 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,21 (t, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,41 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,48 (s, 1 H), 7,88 (br. s, 1 H), 7,99 (br. s, 1 H), 9,16 (s, 1 H).

Intermediario 7

4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



15 Un recipiente de base redonda se cargó con 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona (1,61 g, 5,58 mmol) y DMF (100 mL). Una solución de hexametildisilazano de litio en THF (1 M, 33,4 ml) se añadió y la reacción se agitó a 125 °C durante la noche. Aproximadamente 20 mL de THF se destiló para elevar la temperatura hasta 125 °C. La mezcla de reacción se enfrió en baño de agua helada y se neutralizó por adición gota a gota de solución acuosa saturada de NH₄Cl. La mezcla se concentró al vacío y el material sólido se dividió luego entre acetato de etilo y agua.

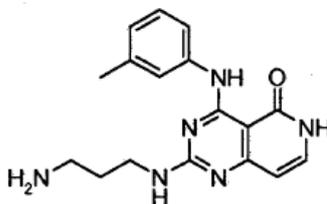
20 Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2x). Los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre MgSO₄. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se sometió a cromatografía en columna (gel de sílice, eluyendo con gradiente de hexano/acetato de etilo) para obtener el producto crudo (1,2 g). Luego se recrystalizó en acetato de etilo para dar el producto puro (0,52 g, 30% de rendimiento).

MS: M(C₁₅H₁₄N₄O₁S₁) = 298,37, (M+H)⁺ = 299,0

25 ¹H RMN (400 MHz, DMSD-d₆) δ ppm 2,33 (s, 3 H), 2,54 (s, 3 H), 6,33 (dd, J = 7,2, 1,1 Hz, 1 H), 6,96 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,28 (t, J = 7,7 Hz, 1 H), 7,55 - 7,66 (m, 3 H), 11,92 - 11,97 (m, 1 H), 11,99 (s, 1 H).

Ejemplo 1

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



30 A una solución de 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona (0,52 g, 1,74 mmol) en DMF (30 ml) se añadió ácido m-cloroperoxibenzoico (0,81 g, 70%-77% de pureza) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. 1,3-diaminopropano (1,29 g, 17,4 mmol) se añadió y la reacción se agitó durante 1 h y luego se eliminó la DMF al vacío. El residuo se disolvió en metanol y se añadió a la parte superior del cartucho SCX (15 gramos de ácido propilsulfónico unido a sílice), se eluyó con metanol hasta sacar todo el ácido clorobenzoico. Luego se eluyó con NH₃ 2 N en metanol

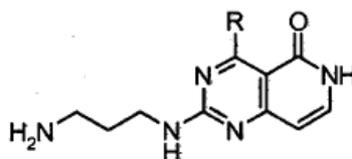
35 para obtener el producto. Las fracciones que contienen producto se concentraron y se purificaron usando HPLC en fase inversa.

MS: M(C₁₇H₂₀N₆O) = 324,39, (M+H)⁺ = 325,0.

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,55 - 1,78 (m, 2 H), 2,32 (s, 3 H), 2,57 - 2,70 (m, 1 H), 2,91 - 3,09 (m, 1 H), 5,85 - 6,26 (m, 1 H), 6,56 - 7,89 (m, 7 H), 11,43 - 12,15 (m, 1 H).

La siguiente 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[amino (sustituido)]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona se preparó a partir de 4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo y las anilinas apropiadas según una ruta de síntesis similar a la descrita para el Ejemplo 1.

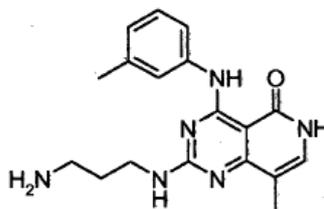
5



Ejemplo N.º	R	MS	(M+H) ⁺ (m/z)	RMN
2		C ₁₇ H ₂₀ N ₆ O ₁ 324,39 ppm	325,2	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1,71 - 1,91 (m, 2 H), 2,77 - 2,95 (m, 2 H), 3,29 - 3,55 (m, 2 H), 4,80 (d, J = 5,8 Hz, 2 H), 6,18 - 6,38 (m, 1 H), 7,17 - 7,47 (m, 6 H), 7,58 - 7,97 (m, 1 H), 8,54 - 9,00 (m, 1 H), 10,24 - 10,87 (m, 1 H), 11,92 - 12,50 (m, 1 H).
3		C ₁₆ H ₁₈ N ₆ O ₁ 310,36	311,0	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,72 - 1,98 (m, 2 H), 2,73 - 2,94 (m, 2 H), 3,24 - 3,56 (m, 2 H), 6,06 - 6,42 (m, 1 H), 6,86 - 8,02 (m, 6 H), 11,53 - 12,51 (m, 2 H)
4		C ₁₆ H ₁₇ F ₁₂ N ₆ O 328,35	329,0	^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,77 - 1,95 (m, 2 H), 2,76 - 2,98 (m, 2 H), 3,35 - 3,55 (m, 2 H), 6,09 - 6,38 (m, 1 H), 7,02 - 7,58 (m, 5 H), 8,38 - 8,92 (m, 2 H), 11,3 - 12,60 (m, 3 H)

Ejemplo 5

2-[(3-aminopropil)amino]-8-metil-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



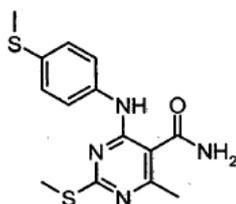
10 Este compuesto se preparó a partir de propilidenpropanodioato de dietilo según una ruta de síntesis similar a la descrita para el Ejemplo 1.

MS: M(C₁₈H₂₂N₆O) = 338,41 (M+1)⁺ = 339,0

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,10 (1H, m), 7,87 (3H, m), 7,75 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,61 (1H, s), 7,55 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,34 (1H, m), 7,08 (1H, d, J = 8,0 Hz), 3,55 (2H, m), 2,90 (2H, m), 2,36 (3H, s), 2,14 (3H, s), 1,94 (2H, m).

15 Intermediario 8

4-metil-2-(metiltio)-6-[[4-(metiltio)fenil]amino]-5-pirimidincarboxamida



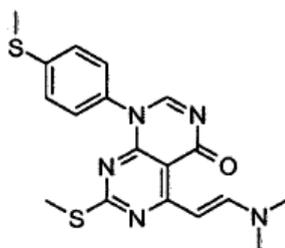
El compuesto se preparó a partir de 4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo y 4-(metiltio)anilina usando un procedimiento similar al descrito para el Intermediario 6.

MS: (C₁₄H₁₆N₄OS₂) = 320,44, (M+H)⁺ = 320,8

- 5 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,38 (s, 3 H), 2,44 (s, 3 H), 2,69 (s, 3 H), 7,09 - 7,33 (m, 2 H), 7,50-7,66 (m, 2 H), 7,85 (br. s, 1 H), 8,00 (br. s, 1 H), 9,15 (br. s, 1 H).

Intermediario 9

5-[(E)-2-(dimetilamino)etenil]-7-(metiltio)-1-[4-(metiltio)fenil]-pirimido[4,5-d]pirimidin-4(1H)-ona



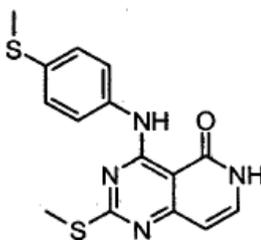
- 10 A una solución de 4-metil-2-(metiltio)-6-[[4-(metiltio)fenil]amino]-5-pirimidincarboxamida benzamida (0,50 g, 1,57 mmol) en DMF (20 ml) se añadió dimetilformamida-dimetilacetil (0,56 g, 4,7 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 1,5 h. Se enfrió hasta temperatura ambiente y la DMF se eliminó al vacío. El residuo se cromatografió (gel de sílice, eluyendo con gradiente de hexano a acetato de etilo seguido por 10% de metanol en cloruro de metileno) para obtener el producto (0,43 g, 72% de rendimiento).

- 15 MS: M(C₁₈H₁₉N₅O₁S₂) = 385,51 (M+H)⁺ = 385,9.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,27 (s, 3 H), 2,53 (s, 3 H), 2,97 (s, 3 H), 3,23 (s, 3 H), 7,04 (d, J = 12,4 Hz, 1 H), 7,39 (m, 2 H), 7,46 (m, 2 H), 8,28 - 8,38 (m, 2 H).

Intermediario 10

2-(metiltio)-4-[[4-(metiltio)fenil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



20

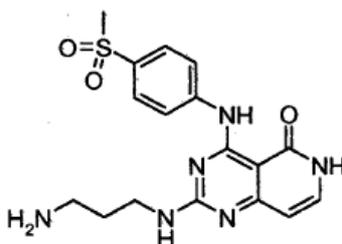
Un recipiente de base redonda se cargó con 5-[(E)-2-(dimetilamino)etenil]-7-(metiltio)-1-[4-(metiltio)fenil]pirimido[4,5-d]pirimidin-4(1H)-ona (0,43 g, 1,30 mmol) y ácido acético (50 ml). La reacción se agitó a reflujo durante 18 h y ácido acético se eliminó al vacío. El cloruro de metileno (20 ml) se añadió al residuo y el producto se recolectó por filtración (0,27 g, 75% de rendimiento).

- 25 MS: M(C₁₅H₁₄N₄O₁S₂) = 330,43, (M+H)⁺ = 330,8.

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,48 (s, 3 H), 2,52 (s, 3 H), 5,99 - 6,47 (m, 1 H), 7,04 - 7,41 (m, 2 H), 7,54 - 7,64 (m, 1 H), 7,69 - 7,79 (m, 2 H), 11,62 - 12,13 (m, 1 H).

Ejemplo 6

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[[4-(metilsulfonil)fenil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



5

A una solución de 2-(metiltilo)-4-[[4-(metiltilo)fenil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona (0,27 g, 0,817 mmol) en DMF (10 ml) se añadió ácido meta-cloroperoxioxibenzoico (0,77 g, 3,43 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. 1,3-diaminopropano (10 eq.) se añadió y la mezcla se agitó durante 2 h. La DMF se eliminó al vacío. El residuo se disolvió en metanol y se cargó en la parte superior del cartucho SCX (15 gramos de ácido propilsulfónico ligado a sílice). Se eluyó con metanol hasta evaporar todo el ácido clorobenzoico y luego con NH_3 2 N en metanol para obtener el producto. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se concentraron. El residuo se purificó por HPLC en fase inversa para dar el producto (0,34 g).

10

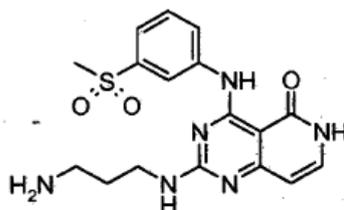
MS: $\text{M}(\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}) = 388,45$, $(\text{M}+\text{H})^+ = 389,1$.

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,75 - 1,97 (m, 2 H), 2,82 - 2,97 (m, 2 H), 3,22 (s, 3 H), 3,35 - 3,53 (m, 2 H), 6,15 - 6,31 (m, 1 H), 7,40 - 7,62 (m, 1 H), 7,63 - 7,77 (m, 3 H), 7,82 - 8,16 (m, 4 H), 11,57 - 11,94 (m, 1 H), 12,29 - 12,59 (m, 1 H).

15

Ejemplo 7

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[[3-(metilsulfonil)fenil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



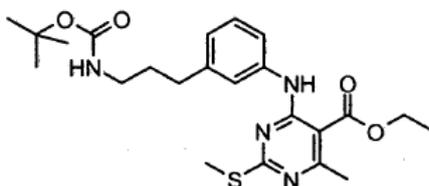
20 Este compuesto se preparó a partir del Intermediario 3 y 3-(metiltilo)anilina usando una ruta de síntesis similar a la descrita para el Ejemplo 6.

MS: $(\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}) = 388,45$, $(\text{M}+1)^+ = 388,9$

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,72 - 1,97 (m, 2 H), 2,80 - 2,97 (m, 2 H), 3,26 (s, 3 H), 3,37 - 3,59 (m, 2 H), 6,17 - 6,33 (m, 1 H), 7,58 - 7,86 (m, 7 H), 8,86 - 8,97 (m, 1 H), 11,48 - 12,14 (m, 1 H), 12,37 - 12,63 (m, 1 H).

25 Intermediario 11

4-({3-[3-({(1,1-dimetiletil)oxi}carbonil)amino]propil}fenil}amino)-6-metil-2-(metiltilo)-5-pirimidincarboxilato de etilo



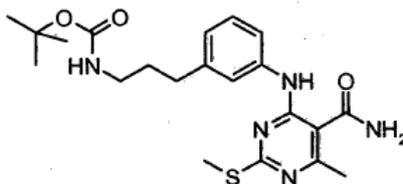
A una solución de [3-(3-aminofenil)propil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (390 mg, 1,558 mmol) en DMF (5 ml) se añadieron 4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo (307 mg, 1,246 mmol) y DIEA (0,298 mL, 1,714 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 75 °C durante la noche. La reacción se concentró luego y el residuo se purificó usando cromatografía en columna (gel de sílice, gradiente del 0% al 50% de EtOAc en hexano) para obtener el producto (210 mg, 29% de rendimiento).

MS: $M(C_{23}H_{32}N_4O_4S) = 460,59 (M+H)^+ = 461,6$

1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 1,44 - 1,47 (m, 12 H), 1,77 - 1,85 (m, 3 H), 2,52 (s, 3 H), 2,62 (s, 3 H), 2,65 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 3,09 (t, J = 7,0 Hz, 2 H), 4,45 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 4,64 (br. s., 1 H), 7,01 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,28 (t, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,42 (d, J = 1,3 Hz, 1 H), 7,55 - 7,58 (m, 1 H).

Intermediario 12

[3-(3-[[5-(aminocarbonil)-6-metil-2-(metiltio)-4-pirimidinil]amino]fenil)propil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



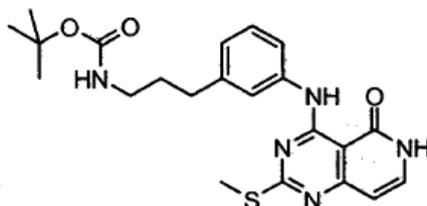
Este compuesto se preparó a partir de 4-((3-((1,1-dimetiletil)oxi)carbonil)amino)propil]fenil]amino)-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo usando una ruta de síntesis similar a la descrita para el Intermediario 6.

MS: $M(C_{21}H_{29}N_5O_3S) = 431,55 (M+H)^+ = 432,0$

1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 1,40 (s, 9 H), 1,78 (quin, J = 7,4 Hz, 2 H), 2,49 (s, 3 H), 2,51 (s, 3 H), 2,61 (d, J = 7,6 Hz, 2 H), 3,06 - 3,13 (m, 2 H), 3,36 (dt, J = 3,3, 1,6 Hz, 1 H), 6,93 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,22 (t, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,41 (d, J = 7,8 Hz, 2 H), 9,47 - 9,50 (m, 1 H).

Intermediario 13

[3-(3-[[2-(metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino]fenil)propil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



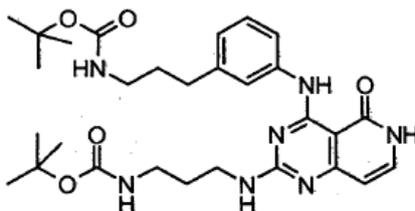
3-(3-[[5-(aminocarbonil)-6-metil-2-(metiltio)-4-pirimidinil]amino]fenil)propil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (100 mg, 0,232 mmol) se disolvió en DMF (2 ml) y se añadió DMF-DMA (0,093 ml, 0,695 mmol). La solución se agitó a 80 °C durante 2 h. El disolvente se eliminó y se añadió ácido acético (1 ml) y la mezcla se calentó a 90 °C con agitación durante la noche. La reacción luego se concentró a presión reducida y se purificó usando HPLC en fase inversa (Gilson usando software Trilution con una Phenomenex Luna 5 μ C18(2) 100A, AXIA, m 50 x 30,00 mm 5 micrones, 7,3 minutos de corrida, 47 ml/min: 35% de ACN/ H_2O , 0,1% de TFA con detección UV a 254 nm) para obtener el producto (10 mg).

MS: $M(C_{22}H_{27}N_5O_3S) = 441,55 (M+H)^+ = 442,1$

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 1,46 (s, 9 H), 1,83 (d, $J = 7,6$ Hz, 2 H), 2,03 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 2,69 (s, 3 H), 2,79 (t, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 2,98 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 3,09 (t, $J = 6,9$ Hz, 2 H), 6,40 - 6,44 (m, 1 H), 7,16 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,38 (t, $J = 7,7$ Hz, 2 H), 7,56 (s, 1 H), 7,63 - 7,74 (m, 2 H), 7,76 (d, $J = 7,3$ Hz, 1 H).

Intermediario 14

- 5 (3-{3-[(2-{[3-((1,1-dimetiletil)oxi)carbonil]amino)propil]amino}-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il)amino]fenil}propil)carbamato de 1,1-dimetiletilo



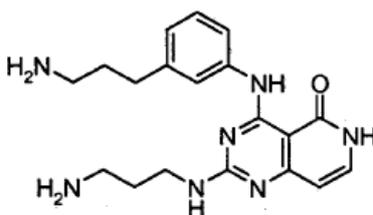
- 10 [3-{3-[(2-(metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il)amino]fenil}propil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (19 mg, 0,043 mmol) se disolvió en DMF (1 mL) y se añadió m-CPBA (27,3 mg, 0,108 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h y se añadió (3-aminopropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (60,0 mg, 0,344 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche. Luego se concentró y el residuo se purificó usando HPLC en fase inversa (Gilson usando software Trilution con una Phenomenex Luna 5 μ C18(2) 100A, AXIA. 50 X 30,00 mm 5 micrones. 7,3 minutos de corrida, 47 ml/min: 25% de ACN/ H_2O , 0,1% de TFA al 65% de ACN/ H_2O , 0,1% de TFA con detección UV a 254 nm) para obtener el producto (39 mg).

- 15 MS: $\text{M}(\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{N}_7\text{O}_5) = 567,68$, $(\text{M}+\text{H})^+ = 568,5$

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,40 - 1,56 (m, 18 H), 1,85 (br. s, 2 H), 2,28 (br. s, 4 H), 2,67 (br. s., 2 H), 3,17 (d, $J = 6,8$ Hz, 3 H), 3,60 (m, 2 H), 5,10 (m, 1 H), 6,24 (m, 1 H), 6,54 (m, 1 H), 6,78 - 6,94 (m, 1 H), 7,02 (s, 1 H), 7,44 (m, 1 H), 7,61 (m, 1 H), 9,96 (d, $J = 6,3$ Hz, 1 H), 10,80 (br. s., 1 H), 12,06 (br. s., 1 H).

Ejemplo 8

- 20 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(3-(3-aminopropil)fenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



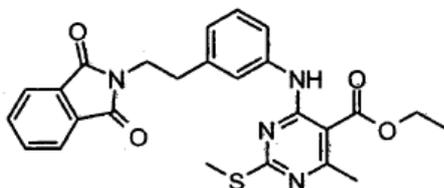
- 25 A una solución premezclada de TFA (0,5 mL, 6,49 mmol) y diclorometano (0,5 mL) se añadió (3-{3-[(2-{[3-((1,1-dimetiletil)oxi)carbonil]amino)propil]amino}-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il)amino]fenil}propil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (39 mg, 0,069 mmol) y la mezcla se agitó durante 30 min. Luego se concentró y el producto se liofilizó (30 mg, sólido blanco).

MS: $\text{M}(\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_7\text{O}) = 367,45$ $(\text{M}+\text{H})^+ = 368,0$

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,80 - 1,93 (m, 4 H), 2,65 - 2,70 (m, 2 H), 2,76 - 2,88 (m, 4 H), 3,50 (br. s, 4 H), 6,33 (br. s, 1 H), 6,97 (br. s, 1 H), 7,07 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 7,29 - 7,36 (m, 1 H), 7,39 (t, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,47 (s, 1 H), 7,83 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 7,95 (s, 1 H), 8,02 - 8,07 (m, 1 H), 12,04 (br. s, 1 H), 12,35 (br. s, 1 H).

- 30 Intermediario 15

4-[(3-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)etil]fenil)amino]-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo



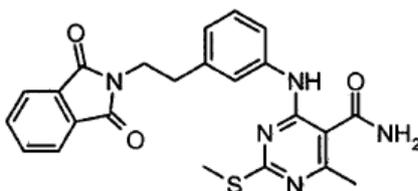
El compuesto se preparó a partir de 2-[2-(3-aminofenil)etil]-1H-isoindol-1,3(2H)-diona y 4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo según una ruta de síntesis similar a la descrita para el Intermediario 11.

MS: $M(C_{25}H_{24}N_4O_4S) = 476,55$ $(M+H)^+ = 476,8$

- 5 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 1,42 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 2,57 (s, 3 H), 2,97 - 3,02 (m, 2 H), 3,11 (dd, J = 7,3, 4,8 Hz, 2 H), 3,93 (dd, J = 9,7, 6,2 Hz, 2 H), 4,44 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 7,08 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,28 - 7,32 (m, 1 H), 7,45 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 7,63 (s, 1 H), 7,72 (d, J = 8,3 Hz, 2 H), 7,84 (dd, J = 5,6, 3,0 Hz, 2 H), 10,80 (br. s., 1 H).

Intermediario 16

4-({3-[2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)etil]fenil}amino)-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxamida



10

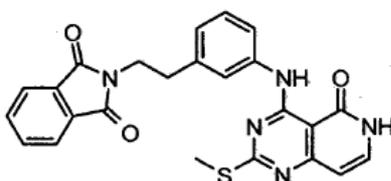
Este compuesto se preparó a partir de 4-({3-[2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)etil]fenil}amino)-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarboxilato de etilo usando una ruta de síntesis similar a la descrita para el Intermediario 6.

MS: $M(C_{23}H_{21}N_5O_3S) = 447,51$ $(M+H)^+ = 448,1$

- 15 1H RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 2,39 (s, 3 H), 2,48 (s, 3 H), 2,90 (t, J = 7,6 Hz, 2 H), 3,80 (d, J = 7,8 Hz, 2 H), 6,90 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,22 (t, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,43 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 7,62 (s, 1 H), 7,80 - 7,88 (m, 5 H), 8,00 (s, 1 H), 9,22 (s, 1 H).

Intermediario 17

2-[2-(3-{{2-(Metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino}fenil)etil]-1H-isoindol-1,3(2H)-diona



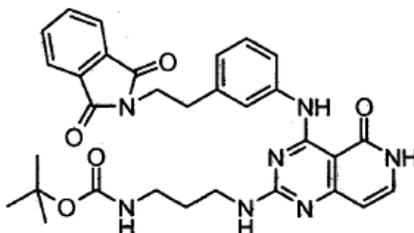
- 20 N-[2-(3-{{5-(aminocarbonil)-6-metil-2-(metiltio)-4-pirimidinil}amino}fenil)etil]-1,2-bencendicarboxamida (100 mg, 0,215 mmol) se disolvió en DMF (1 ml) y se añadió DMF-DMA (0,144 mL, 1,076 mmol). La solución se agitó a 80 °C durante 2 h. El disolvente luego se eliminó y se añadió ácido acético (1 ml) y la mezcla se agitó a 90 °C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se purificó usando HPLC en fase inversa (Gilson usando software Trilution con una Phenomenex Luna 5 μ C18(2) 100A, AXIA 50 X 30,00 mm 5 micrones. 7,3 minutos de corrida, 47 ml/min: 28% de ACN/ H_2O , 0,1% de TFA a 50% de ACN/ H_2O , 0,1% de TFA con detección UV a 254 nm) para obtener el producto (38 mg).

MS: $M(C_{24}H_{19}N_5O_3S) = 457,50$ $(M+H)^+ = 458,1$

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,56 (s, 3 H), 2,95 (t, J = 7,3 Hz, 2 H), 3,84 (t, J = 7,3 Hz, 2 H), 6,34 (dd, J = 7,2, 1,14 Hz, 1 H), 6,97 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,29 (t, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,59 (t, J = 6,7 Hz, 2 H), 7,75 (s, 1 H), 7,83 (m, 4 H), 11,96 (d, J = 6,1 Hz, 1 H), 12,01 (s, 1 H).

Intermediario 18

- 5 (3-[[4-[[3-[2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)etil]fenil]amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il]amino]propil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



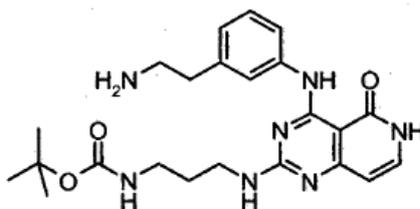
- 10 2-[2-(3-[[2-(Metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino]fenil)etil]-1H-isoindol-1,3(2H)-diona (38 mg, 0,083 mmol) se disolvió en DMF (1 ml) y se añadió m-CPBA (52,7 mg, 0,208 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche y se añadió (3-aminopropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (116 mg, 0,664 mmol). La mezcla se agitó durante 1 h y se concentró. El residuo se purificó usando HPLC en fase inversa (Gilson usando software Trilution con una Phenomenex Luna 5 μ C18(2) 100A, AXIA 50 X 30,00 mm 5 micrones. 7,3 minutos de corrida, 47 ml/min: 30% de ACN/H₂O; 0,1% de TFA a 55% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA con detección UV a 254 nm) para obtener el producto (24 mg).

- 15 MS: M(C₃₁H₃₃N₇O₅) = 583,64, (M+H)⁺ = 584,1

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,32 (s, 9 H), 1,73 (br. s., 2 H), 2,97 (s, 4 H), 3,44 (br. s., 2 H), 3,57 (br. s., 2 H), 3,85 (br. s., 2 H), 6,35 (m, 1 H), 6,86 (m, 1 H), 7,04 (m, 1 H), 7,34 (t, 1 H), 7,46 (s, 1 H), 7,61 (d, 1 H), 7,72 - 7,75 (m, 1 H), 7,84 (m, 4 H), 12,37 (s, 1 H).

Intermediario 19

- 20 {3-[[4-[[3-(2-aminoetil)fenil]amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il]amino]propil]carbamato de 1,1-dimetiletilo

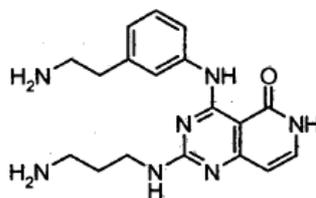


- 25 El (3-[[4-[[3-[2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)etil]fenil]amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il]amino]propil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (24 mg, 0,041 mmol) se disolvió en etanol (2 ml) y se añadió hidrazina (30 μ l, 0,956 mmol). La reacción se agitó a 90 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se purificó usando HPLC en fase inversa (Gilson usando software Trilution con una Phenomenex Luna 5 μ C18(2) 100A, AXIA 50 X 30,00 mm 5 micrones: 7,3 minutos de corrida, 47 ml/min: 10% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA a 40% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA con detección UV a 254 nm) para obtener el producto (11 mg).

- MS: M(C₂₃H₃₁N₇O₃) = 453,54, (M+1)⁺ = 454,0

Ejemplo 9

- 30 4-[[3-(2-aminoetil)fenil]amino]-2-[[3-aminopropil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



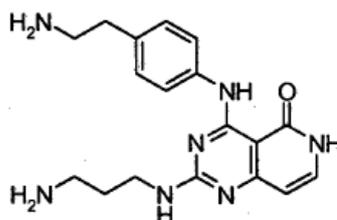
A una solución premezclada de TFA (0,5 mL, 6,49 mmol) y se añadió diclorometano (0,5 mL) a {3-[(4-[(3-(2-aminoetil)fenil]amino)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il)amino]propil}carbamato de 1,1-dimetiletilo (11 mg, 0,024 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 min. Se concentró y el producto se liofilizó (4 mg, sólido blanco).

5 MS: $M(C_{18}H_{23}N_7O) = 353,43$, $(M+H)^+ = 354,2$

1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,84 - 1,95 (m, 2 H), 2,83 - 2,95 (m, 4 H), 3,02 - 3,16 (m, 2 H), 3,40 - 3,55 (m, 2 H), 6,39 (d, $J = 6,8$ Hz, 1 H), 7,16 (d, $J = 8,1$ Hz, 1 H), 7,45 (t, $J = 8,0$ Hz, 2 H), 7,74 - 7,92 (m, 6 H), 9,03 (br. s., 1 H), 12,43 (s, 1 H), 12,49 (br. s., 1 H).

Ejemplo 10

10 4-[(4-(2-aminoetil)fenil]amino)-2-[(3-aminopropil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



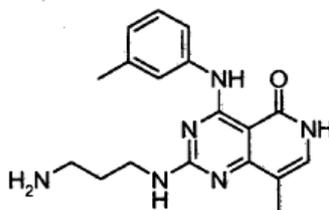
El compuesto se preparó a partir del Intermediario 3 y 2-[2-(4-aminofenil)etil]-1H-isoindol-1,3(2H)-diona de acuerdo con el procedimiento como una ruta de síntesis similar a la descrita para Ejemplo 9.

MS: $M(C_{18}H_{23}N_7O) = 353,43$, $(M+1)^+ = 354,1$

15 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,88 (d, $J = 8,6$ Hz, 4 H), 2,98 - 3,12 (m, 2 H), 3,36 - 3,57 (m, 2 H), 6,19 - 6,39 (m, 1 H), 7,34 (s, 2 H), 7,64 - 8,10 (m, 8 H), 11,49 - 12,51 (m, 2 H).

Ejemplo 11

2-[(3-aminopropil)amino]-8-metil-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



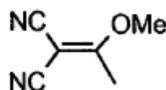
20 Este compuesto se preparó a partir de propilidenpropanodioato de dietilo de acuerdo con una ruta de síntesis similar a la descrita para Ejemplo 1.

MS: $M(C_{18}H_{22}N_6O) = 338,41$, $(M+1)^+ = 339,0$

1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,10 (1H, m), 7,87 (3H, m), 7,75 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,61 (1H, s), 7,55 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,34 (1H, m), 7,08 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 3,55 (2H, m), 2,90 (2H, m), 2,36 (3H, s), 2,14 (3H, s), 1,94 (2H, m).

Intermediario 20

[1-(metiloxi)etiliden]propandinitrilo

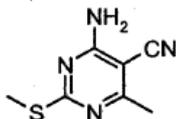


5 A un recipiente de 100 mL equipado con agitador de aire y termómetro y condensador de destilación se añadieron malononitrilo (9,1 g, 0,138 mol, ortoacetato de trietilo (26,8 g, 0,165 mol) y ácido acético glacial (0,4 ml) de modo
 10 secuencial y la mezcla se agitó y se calentó moderadamente (90 °C) hasta que el etanol generado en la reacción comenzó a destilarse. Cuando todo el etanol se había destilado, la temperatura de reacción se elevó lentamente de 90 °C a 140 °C durante 30 min para asegurar la terminación de la reacción. La mezcla de reacción se dejó enfriar hasta 45 °C para solidificar. La masa sólida resultante se rompió bajo hexano (20 ml) y el hexano se decantó. El sólido se lavó con etanol (50 ml) para obtener un cristal incoloro. La solución etanólica se concentró y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Luego se filtró el cristal, se lavó con etanol, se secó al vacío (12,3 g, 65,9% de rendimiento).

¹H RMN (300MHz, DMSO), δ 4,42 (2H, q, J = 15,8, 6,8 Hz), 2,44 (3H, s), 1,32 (3H, t, J = 6,9 Hz).

Intermediario 21

4-amino-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo



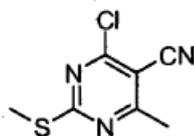
15 A una mezcla de (1-etoxietiliden)malononitrilo (25 g, 0,184 mol) y sal de s-metilisotiurea hemisulfato (38,3 g, 0,275 mol) en MeOH (800 ml) se añadió NaOMe (9,9 g, 0,184 mol) a 0 °C. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Se añadió agua (1 L) a la mezcla de reacción y se agitó durante otros 30 min. El precipitado resultante se filtró y se lavó con agua hasta que el agua eluida se tornó incolora. El sólido blanco (o amarillo) se secó al vacío (26,1 g, 78,8% de rendimiento).

20 MS: M(C₇H₈N₄S) = 180,23, (M+1)⁺ = 181,1

¹H RMN (300MHz, DMSO), δ 7,75 (2H, br.s), 2,43 (3H, s), 2,36 (3H, s).

Intermediario 22

4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo

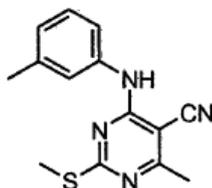


25 4-amino-6-metil-2-(metiltio)pirimidin-5-carbonitrilo (50 g, 0,278 mol) se añadió a una mezcla de cloruro de cobre anhidro (II) (44,7 g, 0,334 mol), ter-butilnitrito (51,6 mL, 0,500 mol) y MgSO₄ (10 mg) en acetonitrilo (800 ml) a 80 °C con agitación. Después de 3 h, la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró y el residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua, salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró. La cromatografía en columna del material crudo (PE / EtOAc = 3:1, luego 3:2) dio el producto deseado en forma de un sólido blanco (33 g, 59% de rendimiento).

30 ¹H RMN (300MHz, DMSO) δ 2,69 (3H, s), 2,61 (3H, s).

Intermediario 23

4-metil-6-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)5-pirimidincarbonitrilo



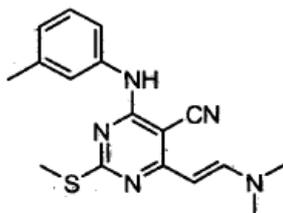
- 5 A una solución de 4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo (500 mg, 2,51 mmol) en DMF (6 ml) se añadieron 3-metilaniлина (322 mg, 3,01, mmol) y diisopropiletilamina (71,2 mg, 5,52 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 1,5 h. La mezcla se enfrió y se concentró y el residuo se disolvió en EtOAc (30 ml) y se lavó con agua (10 ml). El extracto de acetato de etilo se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó usando cromatografía en columna (gel de sílice, hexano/EtOAc, 0 al 100%) para dar el producto (650 mg, 96% de rendimiento).

MS: M(C₁₄H₁₄N₄S) = 270,36, (M+1)⁺ = 270,8

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,43 (1H, m), 7,27 (1H, m), 7,10 (1H, s), 7,01 (1H, d, J = 8,0 Hz), 2,55 (3H, s), 2,52 (3H, s), 2,38 (3H, s).

- 10 Intermediario 24

4-[(E)-2-(dimetilamino)etenil]-6-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo

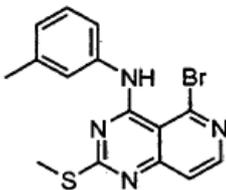


- 15 A una solución de 4-metil-6-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo (1,32 g, 4,89 mmol) en DMF (8 ml) se añadió DMF dimetilacetilo (1,16 g, 9,75 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 110 °C durante 1,5 h. La mezcla se concentró y el residuo se disolvió en EtOAc (30 ml). La solución se lavó con agua y la capa orgánica se recolectó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2x). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para dar el producto de enamina cruda (1,47 g).

MS: M(C₁₇H₁₉N₅S) = 325,44, (M+1)⁺ = 326,1

Intermediario 25

- 20 5-bromo-N-(3-metilfenil)-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-4-amina



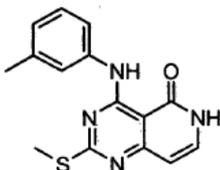
- 25 El 4-[(E)-2-(dimetilamino)etenil]-6-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo crudo (1,47 g) se disolvió en ácido acético (5 ml) y se añadió una solución al 33% de HBr en ácido acético glacial (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. La mezcla luego se concentró a presión reducida para dar la bromopiridina en forma de una sal de HBr.

MS: M(C₁₅H₁₃BrN₄S) = 361,27, (M+1)⁺ = 360,7, 362,7

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8,31 (1H, d, J = 4Hz), 7,55 (1H, m), 7,42 (2H, m), 7,31 (1H, m), 7,05 (1H, d, J = 4Hz), 2,56 (3H, s), 2,41 (3H, s).

Intermediario 26

4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



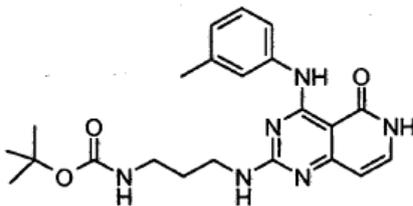
- 5 El intermediario 25 crudo se disolvió en ácido acético (10 ml) y solución acuosa de HCl 6 N (15 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 1,5 h. La mezcla se enfrió y se concentró a presión reducida. El residuo se trató lentamente con NaHCO₃ saturado y el sólido se recolectó por filtración. La solución acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (5x), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El sólido combinado luego se secó a alto vacío para dar el producto crudo (1,48 g, 84% puro).

MS: M(C₁₅H₁₄N₄OS) = 298,37 (M+1)⁺ = 298,9

- 10 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,60 (3H, m), 7,28 (1H, t, J = 8,0 Hz), 6,96 (1H, d, J = 8,0 Hz), 6,34 (1H, d, J = 8,0 Hz), 2,54 (3H, s), 2,33 (3H, s).

Intermediario 27

[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



- 15 A una solución de 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona (420 mg, 1,41 mmol) en DMF (6 ml) se añadió mCPBA (582 mg, 3,38) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. Se añadió (3-aminopropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo (1,00 g, 8,06 mmol) y la mezcla se agitó durante 1 h. La reacción se neutralizó con NaHCO₃ saturado y se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 ml). El extracto se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó usando HPLC en fase inversa para obtener el producto (301 mg).

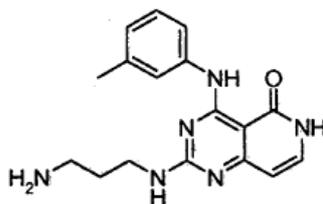
- 20 Condiciones de HPLC: Gilson usando software Trilution, con una Phenomenex Luna 5 μ C18(2) 100A, AXIA, 50 x 30,00 mm 5 micrones, 7,3 minutos de corrida (47 mL/min, 23% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA al 53% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA) con detección UV a 254 nm.

MS: M(C₂₂H₆N₆O₃) = 424,50 (M+1)⁺ = 425,1

- 25 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,88 (1H, s), 7,72 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,62 (1H, m), 7,41 (1H, d, J = 8,0 Hz), 6,35 (1H, d, J = 8,0 Hz), 4,54 (2H, s), 4,48 (2H, s), 2,53 (3H, s).

Ejemplo 1

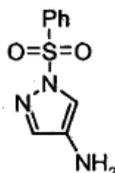
2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il)amino)propil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (245 mg, 0,577 mmol) se disolvió en diclorometano (3 ml) y se añadió TFA (1 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h y se concentró. El residuo luego se secó a alto vacío para obtener el producto en forma de una sal de TFA (250 mg).

Intermediario 28

5 1-(fenilsulfonyl)-1H-pirazol-4-amina

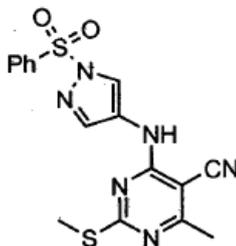


10 A una solución de 4-nitro-1-(fenilsulfonyl)-1H-pirazol (21,0 g, 82,9 mmol) en metanol (300 ml) se añadió Pd/C (10% en peso, 4,0 g) y la mezcla se agitó durante 12 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de H₂. Después de filtrar, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo resultante se lavó con éter de petróleo y se secó para obtener el producto en forma de un sólido blanco (15,0 g, 81,1% de rendimiento).

MS: M(C₉H₉N₃O₂S) = 223,26, (M+1)⁺ = 224,0

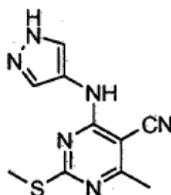
Intermediario 29

4-metil-2-(metiltio)-6-[[1-(1-fenilsulfonyl)-1H-pirazol-4-il]amino]-5-pirimidincarbonitrilo



15 Intermediario 30

4-metil-2-(metiltio)-6-(1H-pirazol-4-ilamino)-5-pirimidincarbonitrilo



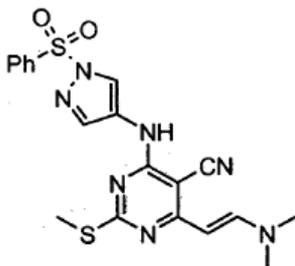
20 A una solución de 4-cloro-6-metil-2-(metiltio)pirimidin-5-carbonitrilo (6,45 g, 32,2 mmol) y 1-(fenilsulfonyl)-1H-pirazol-4-amina (7,2 g, 32,2 mmol) en 1,4-dioxano (150 mL) se añadió ácido 4-metilbencensulfónico (3,06 g, 16,1 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a 90 °C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, el precipitado se filtró, se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y luego agua, se secó y se lavó con petróleo y la mezcla de disolventes (éter de petróleo:acetato de etilo = 4:1) de forma sucesiva para dar 4-metil-2-(metiltio)-6-(1H-pirazol-4-ilamino)-5-pirimidincarbonitrilo (intermediario 30, 3,6 g) en forma de un sólido pálido.

25 MS: M(C₁₀H₁₀N₆S) = 246,30, (M+1)⁺ = 247,1; ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 12,69 (1H, s), 9,87 (1H, s), 7,97 (1H, s), 3,33 (3H, m), 2,42 (3H, s). Los eluyentes orgánicos se concentraron a presión reducida y el residuo se trató con el mismo método anterior para obtener 4-metil-2-(metiltio)-6-[[1-(fenilsulfonyl)-1H-pirazol-4-il]amino]-5-pirimidincarbonitrilo (intermediario 29, 4,26 g, 34,4% de rendimiento) en forma de un sólido amarillo.

MS: $M(C_{16}H_{14}N_6O_2S_2) = 386,46$, $(M+1)^+ = 387,1$; 1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 10,22 (1H, s), 8,68 (1H, s), 8,14 (1H, s), 7,96 (2H, d, $J = 7,5$ Hz), 7,80 (1H, m), 7,68 (2H, m), 2,50 (3H, s), 2,49 (3H, s).

Intermediario 31

4-[(E)-2-(dimetilamino)etenil]-2-(metiltio)-6-[[1-(fenilsulfonyl)-1H-pirazol-4-il]amino]-5-pirimidincarbonitrilo



5

A una solución del intermediario 29 (4,16 g, 10,8 mmol) en DMF (100 mL) se añadió ter-butoxi-N,N,N',N'-tetrametilmetandiamina (BBDM, 5,63 g, 32,3 mmol). La mezcla se agitó durante 16 h a 100 °C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se vertió en agua helada (800 mL), se filtró y el sólido se lavó con agua, petróleo y la mezcla de disolventes (petróleo:acetato de etilo = 3:1) de forma sucesiva, se secó para obtener 4,2 g de producto en forma de un sólido amarillo.

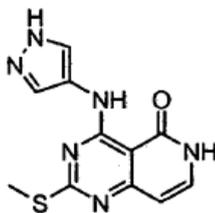
10

Rendimiento: 64,3%.

MS: $M(C_{19}H_{19}N_7O_2S_2) = 441,54$, $(M+1)^+ = 442,2$.

Intermediario 32

2-(metiltio)-4-(1H-pirazol-4-ilamino)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



15

A una suspensión del intermediario 31 (4,2 g, 6,94 mmol) en ácido acético (50 mL), se añadió lentamente (durante aproximadamente 10 min) HBr (33% en ácido acético, 25 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 h a 40 °C. Luego se añadió agua (20 mL) y la mezcla se agitó durante otras 2 h a 80 °C. Se enfrió y se filtró y el sólido se trató con solución saturada de $NaHCO_3$, se lavó con agua y se secó. El sólido luego se lavó con éter de petróleo (3 x 20 mL) y acetato de etilo (2 x 15 mL) y se secó para dar el producto deseado en forma de un sólido amarillo claro (0,8 g, 42,1% de rendimiento).

20

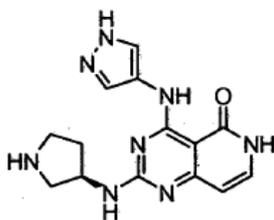
MS: $M(C_{11}H_{10}N_6OS) = 274,31$ $(M+1)^+ = 275,1$.

1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 12,78 (1H, s), 11,89 (1H, s), 11,62 (1H, s), 8,12 (1H, s amplio), 7,87 (1H, s amplio), 7,54 (1H, m), 6,29 (1H, d, $J = 5,4$ Hz), 2,49 (3H, s).

25

Ejemplo 12

4-(1H-pirazol-4-ilamino)-2-[(3R)-3-pirrolidinilamino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



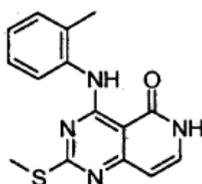
El compuesto se preparó a partir del intermediario 32 usando secuencias de mCPBA / (R)-3-Amino-1-N-Boc-pirrolidina y TFA similares a la descrita para el ejemplo 1 (Esquema 2).

MS: $M(C_{14}H_{16}N_6O) = 312,34$, $(M+1)^+ = 313,1$

- 5 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,95 - 2,07 (m, 1 H), 2,17 - 2,30 (m, 1 H), 3,14 - 3,41 (m, 2 H), 3,43 - 3,54 (m, 1 H), 4,47 - 4,74 (m, 2 H), 6,17 - 6,30 (m, 1 H), 7,40 - 7,71 (m, 1 H), 7,97 - 8,16 (m, 2 H), 8,69 - 8,94 (m, 2 H), 11,44 - 12,17 (m, 2 H).

Intermediario 33

4-[(2-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



10

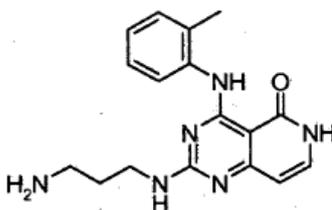
El compuesto se preparó a partir de 4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo y 2-metil-anilina según un procedimiento similar al descrito para el Intermediario 26.

MS: $M(C_{15}H_{14}N_4OS) = 298,37$, $(M+1)^+ = 299,0$

- 15 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11,91 (1H, s), 11,83 (1H, s), 8,28 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,60 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,28 (1H, t, $J = 8,0$ Hz), 7,07 (1H, t, $J = 8,0$ Hz), 6,34 (1H, $J = 8,0$ Hz), 2,49 (3H, s), 2,34 (3H, s).

Ejemplo 13

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(2-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



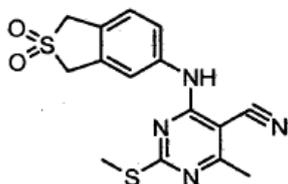
- 20 El compuesto se preparó a partir de 4-[(2-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona según un procedimiento (mCPBA / (3-aminopropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo y TFA) similar a la descrita para el Ejemplo 1 (Esquema 2).

MS: $M(C_{17}H_{20}N_6O) = 324,39$, $(M+1)^+ = 325,2$

- 25 1H RMN (400 mHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,20 (1H, m), 7,73 (4H, m), 7,15 - 7,38 (3H, m), 6,35 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 3,41 (2H, m), 2,83 (2H, m), 2,36 (3H, s), 1,83 (2H, m).

Intermediario 34

4-[(2,2-dioxido-1,3-dihidro-2-benzotien-5-il)amino]-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo



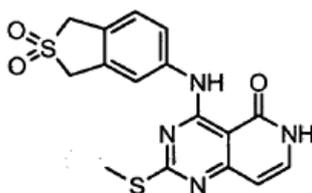
El compuesto se preparó a partir de 4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo y (2,2-dioxido-1,3-dihidro-2-benzotien-5-il)amina según un procedimiento similar al descrito para el Intermediario 23.

MS: $M(C_{15}H_{14}N_4O_2S_2) = 346,43$, $(M+1)^+ = 347,0$

- 5 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,89 (1H, s), 7,61 (1H, s), 7,55 (1H, dd, J = 8,0, 4,0 Hz), 7,36 (1H, d, J = 8,0 Hz), 4,50 (2H, s), 4,47 (2H, s), 2,46 (3H, s), 2,49 (3H, s).

Intermediario 35

4-[(2,2-dioxido-1,3-dihidro-2-benzotien-5-il)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



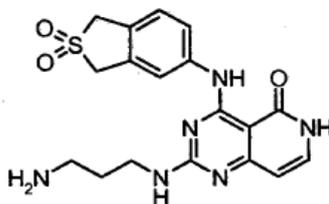
- 10 El compuesto se preparó a partir de 4-[(2,2-dioxido-1,3-dihidro-2-benzotien-5-il)amino]-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo usando el procedimiento descrito para el intermediario 26. El producto se purificó usando HPLC en fase inversa. Condiciones de HPLC: Gilson usando software Trilution, con una Phenomenex Luna 5 μ C18(2) 100A, AXIA, 50 x 30,00 mm 5 micrones, 7,3 minutos de corrida (47 mL/min, 14% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA al 44% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA) con detección UV a 254 nm.

- 15 MS: $M(C_{16}H_{14}N_4O_3S_2) = 373,44$, $(M+1)^+ = 374,7$

1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7,88 (1H, s), 7,72 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,62 (1H, m), 7,41 (1H, d, J = 8,0 Hz), 6,35 (1H, d, J = 4,0 Hz), 4,54 (2H, s), 4,48 (2H, s), 2,53 (3H, s).

Ejemplo 14

2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(2,2-dioxido-1,3-dihidro-2-benzotien-5-il)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



20

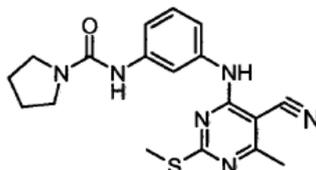
El compuesto se preparó a partir de 4-[(2,2-dioxido-1,3-dihidro-2-benzotien-5-il)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona usando las secuencias de mCPBA / (3-aminopropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo y TFA similares a la descrita para el Ejemplo 1 (Esquema 2).

MS: $M(C_{18}H_{20}N_6O_3S) = 400,46$, $(M+1)^+ = 400,7$

- 25 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7,30 - 8,00 (4H, m), 6,24 (1H, m), 4,40 - 4,60 (4H, m), 3,42 (2H, bs), 2,88 (2H, m), 1,85 (2H, m).

Intermediario 36

N-(3-([5-ciano-6-metil-2-(metiltio)-4-pirimidinil]amino)fenil)-1-pirrolidincarboxamida



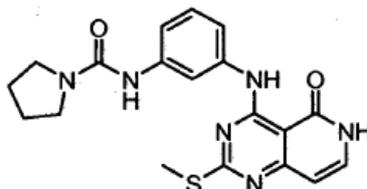
El compuesto se preparó a partir de 4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo y N-(3-aminofenil)-1-pirrolidincarboxamida según un procedimiento similar del descrito para el Intermediario 23.

5 MS: $M(C_{18}H_{20}N_6OS) = 368,46$, $(M+1)^+ = 368,7$

1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,73 (1H, m), 8,13 (1H, s), 7,82 (1H, s), 7,28 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,18 (1H, t, J = 8,0 Hz), 7,10 (1H, d, J = 8,0 Hz), 3,36 (5H, m), 2,44 (3H, s), 2,39 (3H, s), 1,85 (4H, m).

Intermediario 37

N-(3-([2-(metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino)fenil)-1-pirrolidincarboxamida



10

El compuesto se preparó a partir de N-(3-([5-ciano-6-metil-2-(metiltio)-4-pirimidinil]amino)fenil)-1-pirrolidincarboxamida usando el procedimiento similar al descrito para el Intermediario 26. El producto se purificó usando HPLC en fase inversa. Condiciones de HPLC: Gilson usando software Trilution, con una Phenomenex Luna 5 μ C18(2) 100A, AXIA, 50 x 30,00 mm 5 micrones, 7,3 minutos de corrida (47 mL/min, 14% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA al 44% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA) con detección UV a 254 nm.

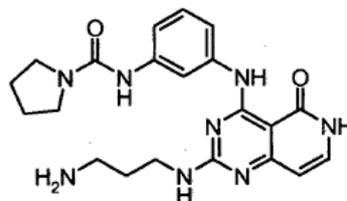
15

MS: $M(C_{19}H_{20}N_6O_2S) = 396,47$ $(M+1)^+ = 397,7$

1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,19 (1H, s), 7,82 (1H, s), 7,59 (2H, m), 7,26 (2H, m), 6,34 (1H, d, J = 4,0 Hz), 3,37 (4H, m), 2,54 (3H, s), 1,86 (4H, m).

Ejemplo 15

20 N-[3-([2-((3-aminopropil)amino)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino)fenil]-1-pirrolidincarboxamida



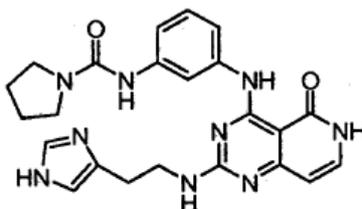
El compuesto se preparó a partir de N-(3-([2-(metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino)fenil)-1-pirrolidincarboxamida usando secuencias de mGPBA / (3-aminopropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo TFA similares a la descrita para el Ejemplo 1 (Esquema 2).

25 MS: $M(C_{21}H_{26}N_8O_2) = 422,49$, $(M+1)^+ = 423,4$

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,27 (1H, s), 8,21 (1H, s), 7,73 (4H, m), 7,29 (3H, m), 6,34 (1H, d, J = 8,0 Hz), 3,62 (2H, m), 3,38 (4H, m), 2,89 (2H, m), 1,87 (6H, m).

Ejemplo 16

N-{3-[(2-[(1H-imidazol-4-il)etil]amino)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino}fenil]-1-pirrolidincarboxamida



5

A una solución de N-(3-[(2-(metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino}fenil)-1-pirrolidincarboxamida (80 mg, 0,26 mmol) en DMF (3 mL) se añadió m-CPBA (102 mg, 0,59 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. Se añadió histamina (230 mg, 2,08 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 5 h. Luego se concentró y el residuo se sometió a HPLC en purificación en fase inversa para obtener el producto (75 mg). Condiciones de HPLC: Gilson usando software Trilution, con una Phenomenex Luna 5 μ C18(2) 100A, AXIA, 50 x 30,00 mm 5 micrones, 7,3 minutos de corrida (47 ml/min, 3% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA al 33% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA) con detección UV a 254 nm.

10

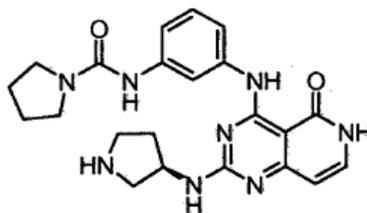
MS: M(C₂₃H₂₅N₉O₂) = 459,51, m/z (M+1) 460,1

15

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,96 (1H, m), 7,20 – 8,50 (5H, m), 6,30 (1H, m), 3,78 (2H, m), 3,36 (4H, m), 2,98 (2H, m), 1,86 (4H, m).

Ejemplo 17

N-[3-([5-oxo-2-[(3R)-3-pirrolidinilamino]-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino}fenil]-1-pirrolidincarboxamida



20

El compuesto se preparó a partir de N-(3-[(2-(metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino}fenil)-1-pirrolidincarboxamida usando secuencias de m-CPBA / (3-aminopropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo y TFA similares a la descrita para el Ejemplo 1 (Esquema 2).

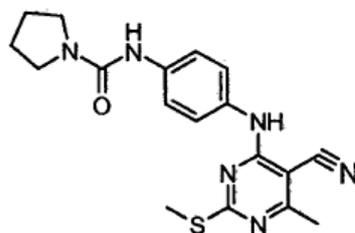
MS: M(C₂₂H₂₅N₈O₂) = 434,50 (M+1)⁺ = 435,2

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7,20-8,50 (6H, m), 6,23 (1H, m), 3,10 - 3,80 (9H, m), 2,20 - 2,40 (2H, m), 1,86 (4H, m).

25

Intermediario 38

N-(4-[[5-ciano-6-metil-2-(metiltio)-4-pirimidinil]amino}fenil)-1-pirrolidincarboxamida



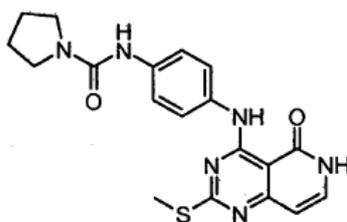
El compuesto se preparó a partir de 4-cloro-6-metil-2-(metiltio)-5-pirimidincarbonitrilo y N-(4-aminofenil)-1-pirrolidincarboxamida de acuerdo con el procedimiento similar al descrito para el Intermediario 23.

MS: $M(C_{18}H_{20}N_6OS) = 368,36$, $m/z (M+1)^+ = 369,0$

- 5 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,64 (1H, s), 8,13 (1H, s), 7,48 (2H, d, J = 8,0 Hz), 7,37 (2H, d, J = 8,0 Hz), 3,36 (4H, m), 2,43 (3H, s), 2,37 (3H, s), 1,85 (4H, m).

Intermediario 39

N-(4-([2-(metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino)fenil)-1-pirrolidincarboxamida



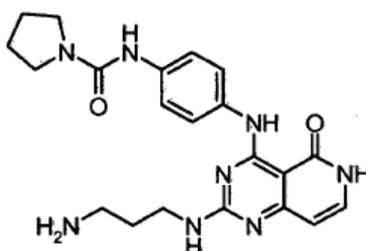
- 10 El compuesto se preparó a partir de N-(4-([5-ciano-6-metil-2-(metiltio)-4-pirimidinil]amino)fenil)-1'-pirrolidincarboxamida usando el procedimiento similar al descrito para el Intermediario 26.

MS: $M(C_{19}H_{20}N_6O_2S) = 396,47$, $m/z (M+1) = 397,1$ y $398,1$

1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,16 (1H, s), 7,61 (2H, d, J = 8,0 Hz), 7,54 (1H, d, J = 8,0 Hz), 6,32 (1H, d, J = 8,0 Hz), 3,37 (4H, m), 1,85 (4H, m).

- 15 Ejemplo 18

N-[4-([3-(3-aminopropil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino)fenil]-1-pirrolidincarboxamida

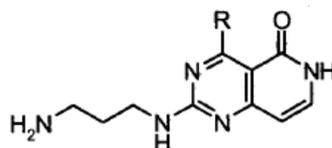


- 20 El compuesto se preparó a partir de N-(4-([2-(metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il]amino)fenil)-1-pirrolidincarboxamida usando secuencias de mCPBA / (3-aminopropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo y TFA tal como se describió para el Ejemplo 1 (Esquema 2).

MS: $M(C_{21}H_{26}N_8O_2) = 422,49$; $m/z (M+1) = 423,0$

1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,25 (1H, s), 7,50 - 7,80 (8H, m), 6,32 (1H, d, J = 8,0 Hz), 3,47 (2H, m), 3,37 (4H, m), 2,87 (2H, m), 1,86 (6H, m).

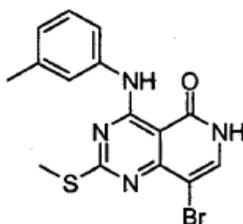
La siguiente 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[amino (sustituido)]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona se preparó a partir de 4-cloro-6-metil-2-(metilitio)-5-pirimidincarbonitrilo y las anilinas apropiadas de acuerdo con la misma ruta de síntesis tal como se describió para el Ejemplo 1 (Esquema 2).



Ej. N.º	R	MS	(M+H) ⁺ (m/z)	RMN (400 MHz) δ ppm
19		C ₁₈ H ₂₃ N ₇ O ₃ S ₁ 417.44	418.1	1H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.88 (d, J=7.58 Hz, 2 H), 2.73 - 2.96 (m, 2 H), 3.55 (d, J=6.06 Hz, 2 H), 6.30 (d, J=7.07 Hz, 1 H), 7.42 - 7.86 (m, 9 H), 8.75 (s, 1 H), 12.21 (br. s., 1 H), 12.54 (s, 1 H)
20		C ₁₇ H ₁₈ N ₈ O ₁ 350.38	351.2	1H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.74 - 2.01 (m, 2 H), 2.77 - 2.98 (m, 2 H), 3.28 - 3.64 (m, 2 H), 6.19 - 6.43 (m, 1 H), 7.09 - 7.39 (m, 1 H), 7.44 - 8.50 (m, 6 H), 12.01 - 12.40 (m, 1 H), 12.54 (br. s., 1 H), 13.11 (br. s., 1 H)
21		C ₁₇ H ₁₈ N ₈ O ₁ 350.38	351.1	1H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.88 (d, J=6.82 Hz, 2 H), 2.76 - 2.92 (m, 2 H), 3.35 - 3.53 (m, 2 H), 6.18 - 6.43 (m, 1 H), 6.95 - 8.57 (m, 6 H), 12.60 (br. s., 2 H)
22		C ₁₇ H ₁₇ N ₇ O ₁ 335.37	336.2	1H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.76 - 1.97 (m, 1 H), 2.80 - 2.97 (m, 2 H), 3.37 - 3.55 (m, 2 H), 6.09 - 6.35 (m, 1 H), 7.41 - 8.41 (m, 9 H), 11.53 - 12.04 (m, 1 H), 12.23 - 12.55 (m, 1 H)

Intermediario 40

8-bromo-4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



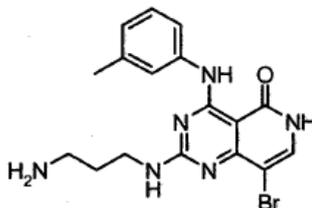
5 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona (500 mg, 1,676 mmol) se disolvió en N,N-dimetilformamida (DMF) (8 ml) y se añadió NBS (298 mg, 1,676 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se neutralizó con agua (12 ml) y se añadió EtOAc (5 ml). La mezcla se filtró para recolectar el precipitado que luego se secó a alto vacío para dar 470 mg de producto crudo (83% puro en base a LC-MS).

MS: $M(C_{15}H_{13}BrN_4OS) = 377,26$, $(M+1)^+ = 377,2$ y $379,2$

1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 12,31 (1H, d, J = 4,0 Hz), 12,04 (1H, s), 8,01 (1H, d, J = 4,0 Hz), 7,61 (1H, s), 7,58 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,30 (1H, t, J = 8,0 Hz), 6,98 (1H, d, J = 8,0 Hz), 2,58 (3H, s), 2,33 (3H, s).

10 Ejemplo 23

2-[(3-aminopropil)amino]-8-bromo-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



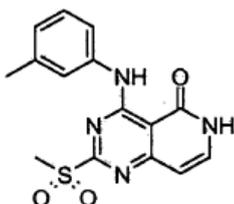
15 El producto se preparó a partir de 8-bromo-4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona usando secuencias de mCPBA / (3-aminopropil)carbamato de 1,1-dimetiletilo y TFA similares a las descritas para el Ejemplo 1 (Esquema 2). Se purificó usando HPLC en fase inversa.

MS: $M(C_{17}H_{19}BrN_6OS) = 403,28$ $(M+1)^+ = 402,7$ y $404,9$

1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7,60 - 7,80 (6H, m), 7,55 (1H, m), 7,26 (1H, m), 6,95 (1H, m), 3,47 (2H, m), 2,87 (2H, m), 2,34 (3H, s), 1,88 (2H, m).

Intermediario 41

20 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metilsulfonyl)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona



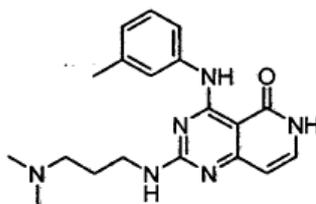
25 Una solución de 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metiltio)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona (0,500 g, 1,6 mmol) en 20 mL de N,N-dimetilformamida (DMF) se añadió a un vial de centelleo de 40 mL equipado con una barra de agitación magnética. Una solución de m-CPBA (0,723 g, 4,19 mmol) en DMF (5 mL) se introdujo gota a gota durante 5 min y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. El análisis de LC-MS reveló que todo el material inicial se convirtió en el

intermediario de sulfona deseado. Esta solución de sulfona cruda en DMF se usó en la formación del producto final según un procedimiento similar al descrito en la sección de ejemplos.

MS: $M(C_{15}H_{14}N_4O_3S) = 330,36$ ($M+H$) = 330,7

Ejemplo 24

5 2-[[3-(dimetilamino)propil]amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona

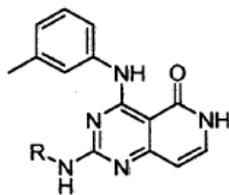


10 El Intermediario 41 (50 mg, 0,17 mmol) en DMF se añadió a un vial de centelleo de 20 mL que contenía N,N-dimetil-1,3-propandiamina (1,7 mmol) y una barra de agitación magnética. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora y luego la DMF se eliminó al vacío. El residuo se disolvió en metanol y se cargó en la parte superior de un cartucho SCX. Se eluyó con metanol hasta que todo el ácido clorobenzoico se evaporó y luego con NH_3 2 N en metanol para obtener el producto. Las fracciones que contenían producto se concentraron y se purificaron por HPLC en fase inversa usando una columna Phenomenex Luna 5u C18 eluyendo con acetonitrilo, agua, ácido trifluoroacético para obtener el producto en forma de una sal de TFA.

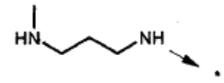
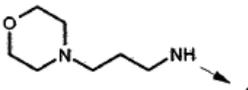
MS: $M(C_{16}H_{22}N_6O) = 352$ ($M+H$)⁺ = 353 5

15 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,93 - 2,06 (m, 2 H), 2,36 (s, 3 H), 2,76 (d, J = 4,29 Hz, 6 H), 3,11 (m, 2 H), 3,50 (q, J = 6,1 Hz, 2 H), 6,36 (d, J = 7,1 Hz, 1 H), 7,08 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 7,36 (t, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,59 (d, J = 8,34 Hz, 2 H), 7,83 (t, J = 6,7 Hz, 1 H), 9,39 (br. s., 1 H), 12,39 (s, 1 H), 12,56 (d, J = 5,8 Hz, 1 H).

20 Los siguientes compuestos de 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[[amino sustituido]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona se prepararon a partir de 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metilsulfonyl)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona (Intermediario 41) y las correspondientes aminas según el procedimiento del Ejemplo 24.

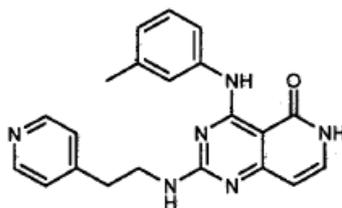


Ejemplo N.º	R	Masa (M+H)	RMN
25		367	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.98 (d, <i>J</i> =7.1 Hz, 2 H), 2.34 (br. s., 3 H), 2.69 - 2.84 (m, 5 H), 3.07 (br. s., 2 H), 3.20 (s, 3 H), 3.72 (br. s., 2 H), 6.19 - 6.42 (m, 1 H), 6.90 - 7.04 (m, 1 H), 7.22 - 7.39 (m, 1 H), 7.48 (br. s., 1 H), 7.53 - 7.68 (m, 2 H), 9.45 (br. s., 1 H), 11.58 (br. s., 1 H), 11.98 - 12.12 (m, 1 H)

26		339	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.87 (m, 3 H), 2.33 (d, J=1.8 Hz, 1 H), 2.36 (s, 3 H), 2.91 - 2.99 (m, 4 H), 3.45 (m, 3 H), 3.77 (br. s., 1 H), 6.26 (m, 1 H), 7.04 (d, 1 H), 7.34 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 7.59 (d, J=7.8 Hz, 1 H), 7.62 (s, 1 H), 8.39 (br. s., 1 H), 12.28 (br. s., 1 H)
27		395	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.98 (br. s., 4 H), 2.32 - 2.34 (m, 2 H), 2.35 (s, 3 H), 2.67 (t, J=1.9 Hz, 1 H), 2.00 (m, 2 H), 3.17 (s, 3 H), 3.57 (br. s., 1 H), 3.94 (br. s., 2 H), 6.23 (br. s., 1 H), 7.00 (s, 1 H), 7.33 (s, 1 H), 7.50 (m, 1 H), 7.60 (br. s., 2 H), 11.93 (m, 1 H), 12.20 (s, 1 H)

Ejemplo 28

4-[(3-metilfenil)amino]-2-[[2-(4-piridinil)etil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona

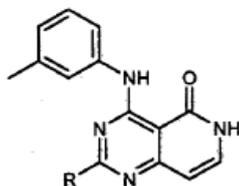


- 5 El Intermediario 41 (70 mg, 0,212 mmol) en DMF se añadió a un vial de centelleo de 20 mL que contenía 2-(4-piridinil)etanamina (259 mg, 2,1 mmol) y una barra de agitación magnética. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h y la DMF se eliminó al vacío. El residuo se purificó vía HPLC en fase inversa utilizando una columna Phenomenex Luna 5u C18 eluyendo con acetonitrilo, agua, ácido trifluoroacético para obtener el producto en forma de una sal de TFA.

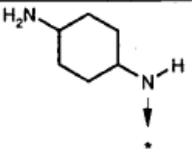
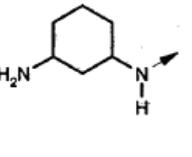
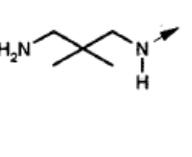
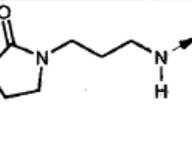
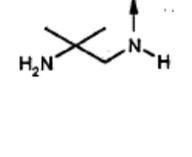
MS: M(C₂₁H₂₀N₆O) = 372,43 (M+H)⁺ = 373,0

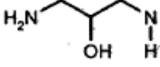
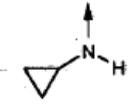
- 10 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,30 (s, 3 H), 2,34 (s, 1 H), 3,10 (t, J = 6,8 Hz, 2 H), 3,74 (q, J = 6,6 Hz, 2 H), 6,34 (q, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,07 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,32 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,53 - 7,58 (m, 2 H), 7,65 (d, J = 6,1 Hz, 2 H), 7,77 (t, J = 6,8 Hz, 1 H), 8,68 (d, J = 6,3 Hz, 2 H), 8,74 (d, J = 6,1 Hz, 1 H), 12,31 (s, 1 H).

- 15 Los siguientes compuestos de 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[[amino sustituido]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona se prepararon a partir de 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metilsulfonyl)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona y la correspondiente amina según el procedimiento similar al descrito para el Ejemplo 28.

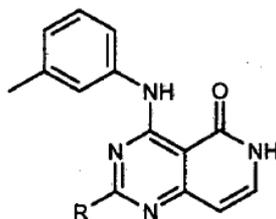


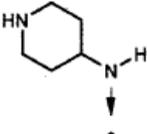
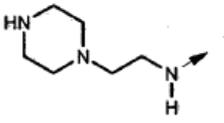
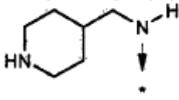
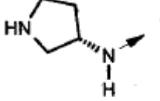
Ejemplo N.º	R	Masa M+H	RMN
29		365	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.75 (m, 2 H), 2.20 (br. s., 2 H), 2.34 (s, 3 H), 2.36 (s, 3 H), 2.80 (t, J = 4.0 Hz, 4 H), 3.11 (m, 1 H), 3.52 (br. s., 1 H), 6.24 (br. s., 1 H), 7.04 (d, J = 7.6 Hz, 1 H), 7.36 (t, J = 7.8 Hz, 1 H), 7.47 (s, 1 H), 7.64 (br. s., 2 H), 11.93 (m, 1 H) 12.25 (br. s., 1 H)
30		451	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 2.30 (s, 3 H), 2.33 (d, J = 1.7 Hz, 1 H), 2.96 (t, J=7.6 Hz, 3 H), 3.65 (m, 4 H), 6.35 (d, J=6.6 Hz, 1 H), 7.08 (d, J=7.3 Hz, 1 H), 7.34 (t, J=7.2 Hz, 3 H), 7.55 (t, J=8.1 Hz, 2 H), 7.70 (dd, J=2.1, 1.1Hz, 2 H), 7.90 (dt, J=3.8, 2.0 Hz, 2 H), 12.31 (br. s., 1 H)
31		381.8	¹ HRMN (400 MHz, DMSO-d ₆) 9.00 (1H, s), 8.85 (1H, m), 7.45-7.95 (5H, m), 7.30 (1H, m), 7.04 (1H, m), 6.34 (1H, d, J = 8.0 Hz), 3.01 (2H, m), 2.30 (3H, s).

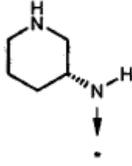
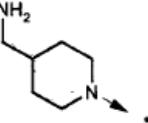
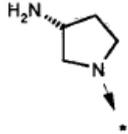
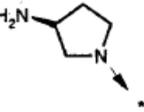
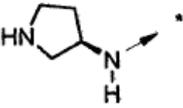
32		365	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.74 (br. s., 6 H), 1.91 (br. s., 2 H), 2.33 (d, J=1.8 Hz, 3 H), 3.20 (d, J=6.6 Hz, 2 H), 3.96 (br. s., 1 H), 6.27 (br. s., 1 H), 7.01 (d, J=7.1 Hz, 1 H), 7.30 (t, J=8.1 Hz, 1 H), 7.53 (d, J=8.8 Hz, 1 H), 7.67 (br. s., 2 H), 7.81 (br. s., 3 H), 12.25 (br. s., 1 H)
33		365	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.19 (m, 2 H), 1.32 (m, 2 H), 1.89 (m, 3 H), 2.19 (d, J=11.6 Hz, 1 H), 2.34 (s, 3 H), 3.07 (dd, J=8.0, 3.7 Hz, 1 H), 3.36 (d, J=11.87 Hz, 2 H), 3.93 (m, 1 H), 6.12 (d, J=7.3 Hz, 1 H), 6.90 (t, J=8.8 Hz, 1 H), 7.26 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 7.37 (t, J=3.5 Hz, 1 H), 7.53 (d, J=8.3 Hz, 1 H), 7.68 (d, J=7.8 Hz, 1 H), 7.81 (d, 1 H), 11.89 (s, 1 H), 11.97 (s, 1 H)
34		353	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0.99 (s, 6 H), 2.34 (s, 2 H), 2.37 (s, 3 H), 2.76 (q, 1 H), 3.26 (d, J=6.1 Hz, 1 H), 3.42 (d, J=6.1 Hz, 2 H), 3.74 (br. s., 1 H), 6.30 (d, J=7.1 Hz, 1 H), 7.06 (d, J=7.3 Hz, 1 H), 7.34 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 7.50 (d, J=5.1 Hz, 2 H), 7.70 (br. s., 1 H), 7.93 (br. s., 1 H), 12.29 (br. s., 1 H)
35		393	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.88 (m, 4 H) 2.17 (t, J = 8.1 Hz, 2 H) 2.36 (s, 3 H) 3.28 (m, 4 H) 3.40 (d, J=6.32 Hz, 2 H) 6.36 (d, J=7.1 Hz, 1 H) 7.06 (d, J=7.3 Hz, 1 H) 7.35 (t, J=7.8 Hz, 1 H) 7.58 (s, 2 H) 7.77 (t, J=6.7 Hz, 1 H) 8.52 (br. s., 1 H) 12.36 (m, 2 H)
36		339	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.28 (s, 6 H), 2.36 (d, J=0.2 Hz, 2 H), 3.53 (d, J=6.1 Hz, 1 H), 6.29 (d, J=6.8 Hz, 0 H), 6.92 (d, J=7.3 Hz, 0 H), 7.23 (s, 1 H), 7.5 (m, 1 H), 7.8 (m, 2 H), 8.04 (br. s., 2 H), 9.08 (br. s., 1 H), 11.80 (m, 1 H)

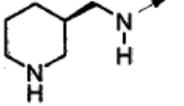
37		282	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 2.35 (s, 3 H), 2.93 (m, 3 H), 3.61 (br. s., 1 H), 6.36 (d, J=6.8 Hz, 1 H), 7.05 (d, J=7.6 Hz, 1 H), 7.33 (t, J=7.7 Hz, 1 H), 7.61 (m, 2 H), 7.75 (br. s., 1 H), 8.32 (br. s., 1 H), 12.38 (br. s., 1 H)
38		268	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 2.33 (s, 3 H), 3.85 (m, 1 H), 6.19 (m, 1 H), 6.95 (m, 1 H), 7.21 (m, 1 H), 7.58 (m, 1 H), 7.32 (m, 2 H), 11.31 (m, 1 H), 11.95 (m, 2 H)
39		341	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 2.36 (s, 3 H), 2.68 (m, 1 H), 2.99 (d, J = 4.6 Hz, 1 H), 3.48 (m, 2 H), 3.95 (m, 1 H), 5.79 (br. s., 1 H), 6.36 (d, J=7.1 Hz, 1 H), 7.06 (d, J=7.6 Hz, 1 H), 7.34 (t, J=7.71 Hz, 1 H), 7.58 (d, J=8.6 Hz, 2 H), 7.79 (t, J=6.7 Hz, 1 H), 7.90 (br. s., 2 H), 9.15 (br. s., 1 H), 12.38 (s, 1 H), 12.45 (br. s., 1 H)
40		308	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0.70 (m, 2 H), 0.88 (m, 2 H), 2.33 (br. s., 3 H), 2.84 (dt, J=6.9, 3.5 Hz, 1 H), 7.01 (d, J=7.6 Hz, 1 H), 7.30 (t, J=7.71 Hz, 1 H), 7.74 (t, J=6.7 Hz, 1 H), 7.69 (d, J=7.6 Hz, 1 H), 7.81 (br. s., 1 H), 12.38 (br. s., 1 H)

Los siguientes compuestos se prepararon a partir de 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(metilsulfonil)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona usando la secuencia de mCPBA / (3-aminopropil)carbamato de 1,1-dimetileto y TFA similares a las descritas para el Ejemplo 1 (Esquema 2).



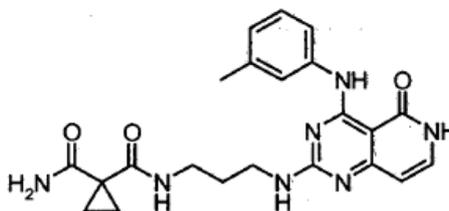
Ejemplo N.º	R	Masa M+H	
41		351	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.59 (m, 2 H), 2.01 (m, 2 H), 2.36 (s, 3 H), 2.90 (m, 2 H), 3.20 (m, 1 H), 3.35 (m, 1 H), 4.19 (m, 1 H), 6.21 (br. s., 1 H), 6.90 (br. s., 1 H), 7.29 (m, 1 H), 7.49 (m, 1 H), 7.55 (m, 1 H), 7.75 (m, 1 H), 8.67 (m, 2 H), 12.17 (m, 2 H)
42		380	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 2.33 (s, 3 H), 2.45 (t, J=7.2 Hz, 1 H), 2.67 (d, J=1.8 Hz, 2 H), 3.17 (d, J=5.3 Hz, 1 H), 3.34 (s, 2 H), 3.45 (m, 2 H), 6.04 (d, J=7.3 Hz, 1 H), 6.13 (d, J=7.33 Hz, 1 H), 6.90 (d, J=7.6 Hz, 2 H), 7.22 (t, J=7.83 Hz, 2 H), 7.38 (m, 2 H), 7.60 (d, J=8.3 Hz, 1 H), 7.65 (s, 2 H), 7.73 (d, J=7.3 Hz, 1 H), 11.85 (s, 1 H), 11.95 (s, 1 H)
43		365	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.31 (m, 2 H), 1.89 (m, 3 H), 2.36 (s, 3 H), 2.84 (m, 2 H), 3.30 (m, 4 H), 3.56 (m, 1 H), 6.27 (m, 1 H), 7.05 (m, 1 H), 7.38 (m, 1 H), 7.54 (m, 2 H), 7.70 (m, 1 H), 8.19 (m, 1 H), 8.46 (m, 1 H), 12.30 (m, 1 H)
44		337	¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 1.11 (s, 1 H), 1.99 (m, 1 H), 2.29 (m, 2 H), 2.37 (s, 3 H), 3.47 (d, J=12.1 Hz, 1 H), 4.56 (d, J=4.80 Hz, 1 H), 6.34 (s, 1 H), 7.09 (d, J=7.6 Hz, 1 H), 7.36 (m, 1 H), 7.58 (m, 2 H), 7.80 (m, 1 H), 8.98 (br. s., 2 H), 9.62 (br. s., 1 H), 12.41 (s, 1 H), 12.51 (br. s., 1 H)

45		351	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.67 (m, 2 H), 2.07 (m, 2 H), 2.34 (br. s., 2 H), 2.36 (s, 3 H), 2.89 (m, 2 H), 3.18 (d, 1 H), 3.39 (t, <i>J</i> = 12.1 Hz, 1 H), 4.18 (m, 1 H), 6.25 (d, <i>J</i> = 5.6 Hz, 1 H), 7.04 (d, <i>J</i> = 7.1 Hz, 1 H), 7.33 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1 H), 7.50 (m, 2 H), 8.69 (br. s., 2 H), 12.24 (br. s., 1 H)
46		365	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.24 (m, 2 H), 1.88 (m, 1 H), 2.32 (m, 3 H), 2.73 (m, 2 H), 3.01 (m, 2 H), 3.98 (br. s., 2 H), 4.66 (d, <i>J</i> = 12.1 Hz, 2 H), 6.30 (br. s., 1 H), 6.97 (d, <i>J</i> = 6.6 Hz, 1 H), 7.28 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1 H), 7.58 (m, 3 H), 7.80 (br. s., 2 H), 11.98 (m, 2 H)
47		337	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.40 (d, <i>J</i> = 1.8 Hz, 2 H), 2.13 (br. s., 1 H), 2.35 (d, <i>J</i> = 5.0 Hz, 3 H), 3.52 (m, 1 H), 3.74 (m, 3 H), 4.00 (br. s., 1 H), 6.53 (m, 1 H), 7.03 (dd, <i>J</i> = 13.3, 7.71 Hz, 1 H), 7.29 (t, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1 H), 7.6 (m, 2 H), 8.18 (br. s., 2 H), 12.29 (m, 1 H), 12.43 (m, 1 H)
48		337	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.40 (d, <i>J</i> = 1.8 Hz, 2 H), 2.14 (d, <i>J</i> = 6.8 Hz, 1 H), 2.35 (d, <i>J</i> = 6.3 Hz, 3 H), 3.51 (m, 1 H), 3.74 (m, 3 H), 4.01 (br. s., 1 H), 6.53 (m, 1 H), 7.03 (t, <i>J</i> = 9.0 Hz, 1 H), 7.30 (m, 1 H), 7.65 (m, 3 H), 8.21 (br. s., 2 H), 12.27 (br. s., 1 H)
49		337	¹ HRMN (400 mHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8.86 (2H, m), 7.40-7.90 (3H, m), 7.30 (1H, m), 7.01 (1H, m), 6.22 (1H, d, <i>J</i> = 8.0 Hz), 4.54 (1H, m), 3.44 (1H, m), 3.30 (3H, m), 2.35 (3H, m), 2.25 (1H, m), 2.05 (1H, m).

50		365 ¹ H RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 8.62 (1H, m), 8.29 (1H, m), 7.50-7.80 (3H, m), 7.33 (1H, m), 7.04 (1H, m), 6.29 (1H, d, J = 8.0 Hz), 3.44 (1H, m), 3.26 (3H, m), 2.77 (1H, m), 2.63 (1H, m), 2.36 (3H, s), 2.09 (1H, m), 1.80 (2H, m), 1.58 (1H, m), 1.26 (1H, m).
----	-----------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Ejemplo 51

N¹-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]-1,1-ciclopropanodicarboxamida



- 5 A una solución de 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona (60 mg, 0,137 mmol) en DMF (1 ml) se añadieron ácido 1-(aminocarbonil)ciclopropanocarboxílico (19,44 mg, 0,151 mmol), EDC (31,5 mg, 0,164 mmol), HOBT (41,9 mg, 0,274 mmol), 4-metilmorfolina (0,075 ml, 0,684 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h. La reacción se neutralizó con agua (2 ml), se extrajo con EtOAc (3 x 5 mL). El extracto se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo se sometió a purificación usando HPLC en fase inversa para dar 35 mg de producto puro.

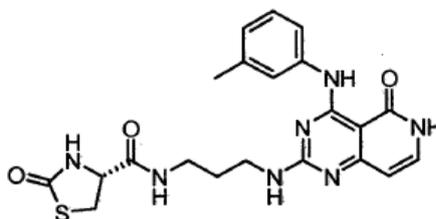
Condiciones de HPLC: Gilson usando software Trilution, con una Phenomenex Luna 5u C18(2) 100A, AXIA. 50 x 30,00 mm 5 micrones. 7,3 minutos de corrida (47 mL/min, 10% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA al 40% de ACN/H₂O, 0,1% de TFA) con detección UV a 254 nm.

MS: M(C₂₂H₂₅N₇O₃) = 435,49, (M+1)⁺ = 436,2

- 15 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 7,00 - 7,90 (1H, m), 6,37 (1H, d, J = 4,0 Hz), 3,41 (2H, m), 3,21 (2H, m), 2,35 (3H, s), 1,77 (2H, m).

Ejemplo 52

(4R)-N-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]-2-oxo-1,3-tiazolidin-4-carboxamida (N4534-5)



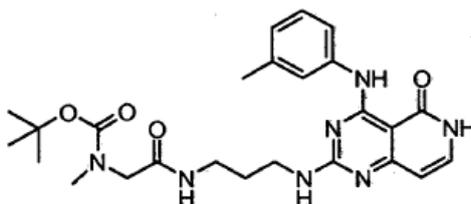
- 20 El compuesto se preparó a partir de 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona y (4R)-N-(3-aminopropil)-2-oxo-1,3-tiazolidin-4-carboxamida usando el procedimiento similar al descrito para el Ejemplo 51.

MS: M(C₂₁H₂₃N₇O₃S) = 453,52, (M+1)⁺ = 454,0

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,29 (1H, m), 8,20 (1H, m), 7,76 (1H, m), 7,64 (1H, s), 7,57 (1H, m), 7,32 (1H, m), 7,05 (1H, m), 6,35 (1H, d, J = 8,0 Hz), 2,45 (1H, m), 3,63 (1H, m), 3,44 (2H, m), 3,34 (1H, m), 3,20 (2H, m), 2,36 (3H, s), 1,77 (2H, m).

Intermediario 42

- 5 metil-(2-[[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]amino)-2-oxoetil]carbamato de 1,1-dimetiletilo



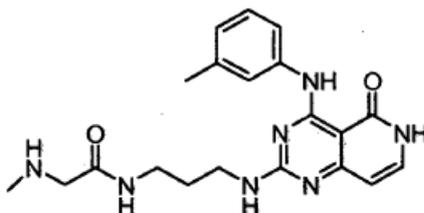
- 10 A una solución de 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona (50 mg, 0,114 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (1,5 ml) se añadieron N-[[{(1,1-dimetiletil)oxi]carbonil]-N-metilglicina (25,9 mg, 0,137 mmol), 1H-1,2,3-benzotriazol-1-ol hidratado (34,9 mg, 0,228 mmol), 4-metilmorfolina (57,7 mg, 0,570 mmol) y clorhidrato de N-[3-(dimetilamino)propil]-N'-etilcarbodiimida (28,4 mg, 0,148 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2,5 h. Luego se concentró y el residuo se sometió a HPLC en purificación en fase inversa para dar 33 mg del compuesto del título.

MS; $M(\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_7\text{O}_4) = 495,58$ ($M+1$) $^+ = 496,4$

- 15 ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7,97 (1H, m), 7,76 (1H, m), 7,64 (1H, s), 7,56 (1H, m), 7,34 (1H, t, J = 8,0 Hz), 7,04 (1H, d, J = 4,0 Hz), 6,36 (1H, d, J = 8,0 Hz), 3,73 (2H, m), 3,42 (2H, m), 3,17 (2H, m), 2,78 (3H, d, J = 8,0 Hz), 2,35 (3H, s), 1,74 (2H, m), 1,30 - 1,39 (9H, m).

Ejemplo 53

N²-metil-N¹-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]glicinamida



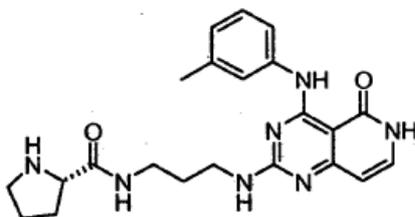
- 20 A una solución de metil-(2-[[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]amino)-2-oxoetil]carbamato de 1,1-dimetiletilo (30 mg, 0,061 mmol) en diclorometano (DCM) (1 ml) se añadió TFA (0,5 ml, 6,49 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1,5 h. Se concentró y el residuo luego se secó a alto vacío para dar 30 mg de producto puro.

- 25 MS: $M(\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_7\text{O}_2) = 395,46$, ($M+1$) $^+ = 396,1$

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,69 (2H, m), 8,49 (1H, m), 7,80 (1H, m), 7,65 (1H, s), 7,59 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,35 (1H, t, J = 8,0 Hz), 7,07 (1H, d, J = 8,0 Hz), 6,37 (1H, d, J = 4,0 Hz), 3,66 (2H, m), 3,47 (2H, m), 3,24 (2H, m), 2,54 (3H, m), 2,37 (3H, s), 1,79 (2H, m).

Ejemplo 54

- 30 N-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]-L-prolinamida



El compuesto se preparó a partir de la 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona según el procedimiento similar al descrito para el Ejemplo 53.

MS: $M(C_{22}H_{21}N_7O_2) = 421,50 (M+1)^+ = 422,1$

- 5 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7,50 - 7,80 (4H, m), 7,34 (1H, t, J = 8,0 Hz), 6,90 - 7,20 (2H, m), 6,32 (1H, d, J = 6,0 Hz), 4,08 (2H, m), 3,45 (2H, m), 3,22 (4H, m), 2,36 (3H, s), 2,24 (1H, m), 1,82 (5H, m).

Actividad biológica

Ensayos enzimáticos PDK1

Ensayo LEADseeker PDK1

- 10 Los compuestos de ensayo se disolvieron a 1 mM en DMSO al 100% y se dispensaron en las columnas apropiadas de una placa de 384 pocillos. Para generar las curvas de dosis-respuesta, se realizaron diluciones triples en DMSO al 100% a través de la placa para generar 11 concentraciones para cada compuesto de ensayo. Cada placa tiene capacidad para 32 compuestos de ensayo para la dosis-respuesta y 352 compuestos de ensayo para las determinaciones de concentración individuales. Las placas de ensayo contenían 0,1 μ l de compuesto en los pocillos apropiados de una placa
15 de 384 pocillos. Dos columnas contenían sólo 0,1 μ l de DMSO al 100%. Estas columnas se utilizaron para determinar los valores de control alto y bajo.

- Antes de comenzar el ensayo, se añadió EDTA 0,5 M (1,5 μ l/pocillo para un volumen de reacción de 10 μ l) a los pocillos de control bajo. Se preparó una solución enzimática con 25 mM de MOPS, pH 7,5, 0,1 mg/ml de BSA, 50 mM de KCl, 0,5 mM de CHAPS, 5 mM de DTT y 10 nM de PDK1 inmediatamente antes de la adición de 5 μ l a cada pocillo de la placa de
20 ensayo. Las placas de ensayo se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos.

La solución de sustrato con 25 mM de MOPS, pH 7,5, 20 mM de $MgCl_2$, 50 mM de KCl, 0,1 mg/ml de BSA, 0,5 mM de CHAPS, 5 mM de DTT, 2 μ M de ATP (frío), 6 uCi/mL de ^{33}P -ATP y 0,7 μ M de proteína biotinilada AKT1 y se dejó a temperatura ambiente, generalmente durante los 30 minutos de preincubación de la enzima con el compuesto. Ambas soluciones se mezclaron por inversión suave del tubo antes de dispersarlas en la placa de ensayo.

- 25 La solución de sustrato se añadió a la placa de ensayo, 5 μ l a cada pocillo, y la reacción enzimática se dejó avanzar a temperatura ambiente durante 3 horas. La concentración final de los reactivos en la reacción enzimática fue de 25 mM de MOPS, pH 7,5, 10 mM de $MgCl_2$, 50 mM de KCl, 0,1 mg/ml de BSA, 0,5 mM de CHAPS, 1 μ M de ATP (frío), 3 uCi/mL de ^{33}P -ATP, 5 mM de DTT, 0,35 μ M de proteína biotinilada AKT1 y 5 nM de PDK1. La reacción se detuvo mediante la adición de 10 μ l de solución 5 mg/mL de perlas de LEADseeker preparadas por la adición de PBS y EDTA a 2 g de perlas secas para producir 400 ml de EDTA 50 mM en PBS.
30

- Las perlas se dejaron sedimentar en cada pocillo durante al menos 4-5 horas a temperatura ambiente, con preferencia durante la noche. La señal fue estable durante días después de la adición de perlas a las placas. Las placas se cubrieron para limitar la exposición a la luz. La señal de cada pocillo se midió en un sistema de imágenes de microplaca ViewluxTM ultraHTS (PerkinElmer) usando el modo de luminiscencia. Se requiere DDT recién hecho del sólido. El ATP radiactivo fresco produjo la mejor señal para el fondo.
35

PDK1 se generó a partir de un sistema de expresión de baculovirus y se produjo proteína de longitud completa humana marcada con His purificada al 80% usando níquel y columnas de desalinización (GRITS#24652). AKT1 se generó a partir de un sistema de expresión de baculovirus y produjo proteína humana (aa136-480) purificada al 90% utilizando níquel y columnas de Q Sepharose (GRITS # 29020). La proteína se biotiniló después de la purificación.

- 40 Resultados: Ejemplos 1, 2, 12-13, 21, 25, 27, 30, 51-52, y 54 no se analizaron en el ensayo LEADseeker PDK1. Los ejemplos restantes se analizaron en el Ensayo LEADseeker PDK1 y se halló que estos ejemplos eran inhibidores de

ES 2 432 414 T3

PDK1. La concentración de compuesto requirió inhibir el 50% (IC₅₀) de la actividad de la enzima PDK1 varió de 0,003 µM a 10 µM en el ensayo LEADseeker PDK1.

Ensayo de unión al filtro de quinasa radiomarcada in vitro

- 5 PDK1 se preincubó (1 nM) durante 1 hora a temperatura ambiente en placas de baja unión de proteína de 96 pocillos (Costar 3884) con una titulación del compuesto en tampón del ensayo de quinasa (25 mM de MOPS pH 7,5, 0,5 mM de CHAPS, 10 mM de MgCl₂, 50 mM de KCl; 1 mM de DTT; 0,1 mg/ml de BSA). Las reacciones se iniciaron mediante la adición de una premezcla de sustrato concentrado 8x con 2 µM de Δ-PH AKT1 (aa136-480) y 5 µM de ATP (que contiene 0,03 de mCi/ml γ³³ATP). Después de una incubación a temperatura ambiente de 4 horas, las reacciones se terminaron mediante la adición de un volumen igual de H₃PO₄ al 1%. Después de una incubación de 10 minutos, las reacciones inactivadas se transfirieron a placas de filtro de fosfocelulosa (Millipore MAPH) previamente impregnadas con H₃PO₄ al 0,5%. Las muestras se filtraron, se lavaron con H₃PO₄ al 0,5% y se secaron.

Las placas se leyeron en un contador de centelleo Microbeta (PerkinElmer) después de la adición de 50 µl/pocillo de Microscint 20.

Ensayo de quinasa acoplada a PDK1-AKT in vitro

- 15 El ensayo acoplado midió el aumento dependiente de PDK1 de la actividad de Δ-PH-AKT1 (aa136-480) en un ensayo de intensidad de fluorescencia continua usando sustrato peptídico sox-AKT (Invitrogen).

- 20 PDK1 (600 pm) se preincubó en una placa de área media negra de 96 pocillos con una titulación del compuesto durante 1 hora a temperatura ambiente en tampón de ensayo de quinasa. Las reacciones se iniciaron mediante la adición de un volumen igual de premezcla de sustrato con 20 nM de Δ-PH-AKT1, 10 µM de ATP y 20 µM de sox-péptido. Se midió la fluorescencia en un lector de placa de multimarca EnVision (PerkinElmer) usando un espejo Lance/Delfia con filtro de excitación la Fura2 380 y el filtro de emisión de 486 CFP. Se usó un punto final de 6 horas de las curvas de progreso para generar curvas de IC₅₀ a través de la titulación de inhibidores.

Ensayos celulares:

DÍA 1

- 25 Se sembraron 10.000 células/pocillo en placas de fondo plano transparentes de 96 pocillos (el volumen final fue 105 µl) antes de mediodía. Los últimos cuatro pocillos de la última columna sólo recibieron medio. Las placas se colocaron en la incubadora de 37 °C durante la noche.

- 30 La placa de compuesto se preparó en placas de polipropileno de fondo redondo de 96 pocillos; 8 compuestos por placa, 11 puntos de titulación de cada uno (dilución seriada 3 veces), DMSO en la última columna (concentración final 0,15% en las células). Se colocaron 15 µl del compuesto patrón en el primer pocillo, 10 µl de DMSO en el resto, 5 µl tomados del primer pocillo se transfirieron y mezclaron en el próximo, la dilución continuó en toda la placa (excluyendo la última columna), la placa se selló con una tapa de aluminio y colocó a 4 °C.

DÍA 2

- 35 El tampón de lisis, los inhibidores (4 °C/-20 °C) y las placas del compuesto (4 °C) se descongelaron en la mesada. Se preparó el tampón de lavado Tris 1x (WB) para llenar el depósito de lavador de placas y se llevó a tope el suministro de mesada, la centrifuga se encendió para permitir que se enfríe.

- 40 Las placas MSD se bloquearon en solución de bloqueo. Se prepararon 20 ml de solución de bloqueo al 3% para una placa (600 mg de bloqueador de A en 20 ml de WB), se añadieron 150 µl por pocillo y las placas se incubaron a temperatura ambiente durante al menos 1 hora. Se añadieron 300 µl de medio de cultivo (RPMI, FBS 10%) por pocillo (dilución de 682 veces del compuesto) a cada placa de compuesto. Se añadieron 5 µl de la dilución de compuesto en cada pocillo (volumen final 110 µl) en placas duplicadas. Las placas se colocaron en incubadora a 37 °C durante 30 minutos. Para 10 ml de tampón de lisis MSD, se añadieron 200 µl de solución de inhibidor de la proteasa y 100 µl de cada uno de los inhibidores de la fosfatasa I y II. Las placas se retiraron después de la incubación, se aspiró el medio con el lavador de placas, las placas se lavaron 1x con PBS frío, y añadieron 80 µl de tampón de lisis MSD por pocillo; las placas se incubaron en un agitador a 4 °C durante 30 min y se centrifugaron en frío en centrífuga a 2500 rpm durante 10 min.

Ensayo dúplex AKT

Las placas se lavaron 4 veces con 200 µl/pocillo de tampón de lavado en el lavador de placa. Se añadieron 60 µl de lisados por pocillo, y las placas se incubaron en un agitador a temperatura ambiente durante 1 hora. Durante incubación,

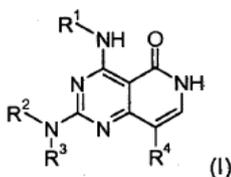
5 se preparó el Ab de detección (3 ml/placa, 2 ml de tampón de lavado y 1 ml de solución de bloqueo con anticuerpos a 10 nM). La etapa de lavado se repitió como anteriormente. Se añadieron 25 μ l de anticuerpo por pocillo, y las placas se incubaron en un agitador a temperatura ambiente durante 1 hora. La etapa de lavado se repitió como anteriormente. Se añadieron 150 μ l por pocillo de tampón de lectura 1x (dilución 4x del patrón en H₂O, 20 ml/placa), y las placas se leyeron inmediatamente.

Ensayo de crecimiento/muerte celular:

10 Las células cancerosas BT474, HCC₁954, T-47D (mama humano) y PC-3 (próstata humana) se cultivaron en RPMI-1640 que contiene 10% de suero fetal bovino a 37 °C en incubadora con 5% de CO₂. Las células se dividieron en el matraz T75 (Falcon # 353136) dos a tres días antes del ensayo ajustadas a una densidad que produce aproximadamente el 70-80% de confluencia en el momento de la recolección para el ensayo. Las células se recolectaron usando 0,25% de tripsina-EDTA (Sigma #4049). Los recuentos de células se realizaron en suspensión celular usando tinción de exclusión de azul de tripano. Después las células se sembraron en placas de poliestireno negro de fondo plano de 384 pocillos (Greiner # 781086) en 48 μ l de medio de cultivo por pocillo a razón de 1000 células/pocillo. Todas las placas se colocaron en 5% de CO₂, 37 °C durante la noche y los compuestos de ensayo se añadieron al día siguiente. Una placa se trató con CellTiter-Glo (Promega # G7573) para la medición del día 0 (t = 0) y se leyeron como se describe a continuación. Los compuestos de ensayo se prepararon en placas de polipropileno de fondo transparente de 384 pocillos (Greiner # 781280) con diluciones de dos veces consecutivas. Se añadieron 4 μ l de estas diluciones a 105 μ l de medio de cultivo, después de mezclar la solución, se añadieron 2 μ l de estas diluciones en cada pocillo de las placas de células. La concentración final de DMSO en todos los pocillos fue de 0,15%. Las células se incubaron a 37 °C, 5% de CO₂ durante 72 horas. Después de 72 horas de incubación con los compuestos, cada placa se desarrolló y leyó. Se añadió el reactivo CellTiter-Glo a placas de ensayo utilizando un volumen equivalente al volumen de cultivo celular en los pocillos. Las placas se agitaron durante aproximadamente dos minutos y se incubaron a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos y la señal de quimioluminiscencia se leyó en el lector de Analyst GT (Molecular Devices). Los resultados se expresaron como un porcentaje del t = 0 y se representaron frente a la concentración del compuesto. 25 Se determinó la inhibición del crecimiento celular para cada compuesto mediante el ajuste de la dosis-respuesta con un ajuste de la curva de 4 ó 6 parámetros usando el software XLfit y se determinó la concentración que inhibió el 50 % del crecimiento celular (glC₅₀) con el Y min como el t = 0 e Y máx como el control de DMSO. El valor de los pocillos sin células se sustrajo de todas las muestras para la corrección de fondo.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de acuerdo con la fórmula (I):



en donde:

- 5 R¹ es arilo, -CH₂-arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno a tres R⁵;
- R² es H, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con uno o dos R⁶, cicloalquilo C₃-C₆ opcionalmente sustituido con uno a tres R⁷ o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁷; y R³ es H, alquilo C₁-C₆ o fenilo;
- o
- 10 R² y R³ se unen junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un heterocicloalquilo saturado de 4-7 miembros que puede contener un átomo de N, S u O adicional y que está opcionalmente sustituido con uno a tres grupos alquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituidos con un OH, oxo, arilo o -NR^aR^b;
- R⁴ es H, halo, alquilo C₁-C₃, haloalquilo C₁-C₃, ciano, alcoxi C₁-C₃, NR^aR^b, arilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁵ o heteroarilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁶;
- 15 cada R⁵ está seleccionado, de modo independiente, del grupo que consiste en halo, CN, alcoxi C₁-C₃, heteroarilo, -S(O)₂R^a, -S(O)₂NR^aR^b, -NR^aS(O)₂R^a, -NR^bC(O)R^a, -C(O)NR^aR^b, -NR^bC(O)NR^aR^b y alquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido con -NR^aR^b;
- cada R⁶ está seleccionado, de modo independiente, del grupo que consiste en OH, -NR^aR^b, -NR^bC(O)R^a 1,1-ciclopropanodicarboxamida, heteroarilo, heterocicloalquilo y arilo opcionalmente sustituido con -S(O)₂NH₂;
- 20 cada R⁷ está seleccionado, de modo independiente, del grupo que consiste en OH, alcoxi C₁-C₃, -NR^aR^b y alquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido con -NR^aR^b;
- cada R^a está seleccionado, de modo independiente, del grupo que consiste en H, heterocicloalquilo y alquilo C₁-C₃ opcionalmente sustituido con un -NH₂ o NHCH₃; y
- cada R^b es independientemente H o alquilo C₁-C₆; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 25 2. Un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R² es H, alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con uno o dos R⁶, cicloalquilo C₃-C₆ opcionalmente sustituido con uno a tres R⁷, o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁷; y R³ es H, alquilo C₁-C₆ o fenilo; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
3. Un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 2, en donde R¹ es fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁵ o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 30 4. Un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 2, en donde R¹ es CH₂-fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁵ o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
5. Un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 2, en donde R¹ es pirazolilo o indazolilo opcionalmente sustituido con uno a tres R⁵ o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 35 6. Un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en donde R² es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con -NR^aR^b y R³ es H; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
7. Un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en donde R² es pirrolidinilo, piperidinilo, ciclohexilo o ciclopropilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno a tres R⁷; y R³ es H, alquilo C₁-C₆ o fenilo; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

8. Un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 6, en donde R⁴ es H, metilo o bromo; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

9. Un compuesto de la fórmula (I) seleccionado de:

- 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 5 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(fenilmetil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(fenilmetil)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(2-fluorofenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-8-metil-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[[4-(metilsulfonyl)fenil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 10 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[[3-(metilsulfonyl)fenil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[[3-(3-aminopropil)fenil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[[3-(2-aminoetil)fenil]amino]-2-[(3-aminopropil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[[4-(2-aminoetil)fenil]amino]-2-[(3-aminopropil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-8-metil-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 15 4-(1H-pirazol-4-ilamino)-2-[(3R)-3-pirrolidinil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(2-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-4-[(2,2-dioxido-1,3-dihidro-2-benzotien-5-il)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- N-[3-({2-[(3-aminopropil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)fenil]-1-pirrolidincarboxamida;
- N-{3-[(2-[(2-(1H-imidazol-4-il)etil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il)amino]fenil}-1-pirrolidincarboxamida;
- 20 N-[3-({5-oxo-2-[(3R)-3-pirrolidinil]amino]-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)fenil]-1-pirrolidincarboxamida;
- N-[4-({2-[(3-aminopropil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)fenil]-1-pirrolidincarboxamida;
- 3-({2-[(3-aminopropil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)-N-etilbencensulfonamida;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-4-(1H-indazol-6-ilamino)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-4-(1H-indazol-5-ilamino)pirido[4,,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 25 4-({2-[(3-aminopropil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-4-il}amino)benzocitrilo;
- 2-[(3-aminopropil)amino]-8-bromo-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[[3-(dimetilamino)propil]amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[[3-(dimetilamino)propil](metil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 2-[[3-(metilamino)propil]amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 30 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[[3-(4-morfolinil)propil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[[2-(4-piridinil)etil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-[(3-metilfenil)amino]-2-((1-metil-4-piperidinil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
- 4-2-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)etil]bencensulfonamida;
- 2-[[2-(1H-imidazol-2-il)etil]amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;

- 2-[(4-aminociclohexil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 2-[(3-aminociclohexil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 2-[(3-amino-2,2-dimetilpropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3-(2-oxo-1-pirrolidinil)propil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 5 2-[(2-amino-2-metilpropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 2-(metilamino)-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 2-amino-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 2-[(3-amino-2-hidroxipropil)amino]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 2-(ciclopropilamino)-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 10 4-[(3-metilfenil)amino]-2-(4-piperidinilamino)pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(1-piperazinil)etil]amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(4-piperidinilmetil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3S)-3-pirrolidinilamino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3R)-3-piperidinilamino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 15 2-[4-(aminometil)-1-piperidinil]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 2-[(3R)-3-amino-1-pirrolidinil]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 2-[(3S)-3-amino-1-pirrolidinil]-4-[(3-metilfenil)amino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3R)-3-pirrolidinilamino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 4-[(3-metilfenil)amino]-2-[(3R)-3-piperidinilamino]pirido[4,3-d]pirimidin-5(6H)-ona;
 20 N¹-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]-1,1-ciclopropandicarboxamida;
 (4R)-N-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]-2-oxo-1,3-tiazolidin-4-carboxamida;
 N²-metil-N¹-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]glicinamida; y
 N-[3-({4-[(3-metilfenil)amino]-5-oxo-5,6-dihidropirido(4,3-d]pirimidin-2-il}amino)propil]-L-prolinamida.
 25 10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en mezcla con uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables.
 11. Un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en terapia médica.
 30 12. Un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para usar en el tratamiento del cáncer.
 13. El uso de un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.
 35 14. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 12 o el uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el cáncer está seleccionado de cáncer de mama, de colon o de pulmón.
 15. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 12 o el uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el cáncer está seleccionado del grupo que consiste en cáncer de cerebro (gliomas), glioblastomas, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, rhabdomiosarcoma, endimoma, meduloblastoma, cáncer de cabeza y cuello, de riñón, de hígado,

5 melanoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, sarcoma, osteosarcoma, tumor óseo de células gigantes, cáncer de tiroides, leucemia linfoblástica de células T, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células pilosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrofílica crónica, leucemia linfoblástica aguda de células T, plasmacitoma, leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia megacariocítica del manto, leucemia promielocítica, eritroleucemia, linfoma maligno, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma linfoblástico de células T, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer vulvar, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de las glándulas salivales, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer bucal, cáncer de la boca, GIST (tumor del estroma gastrointestinal) y cáncer testicular.