

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 488 966**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/4545** (2006.01)

**C07D 487/04** (2006.01)

**C07D 487/14** (2006.01)

**A61P 37/08** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.09.2008 E 08834219 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.05.2014 EP 2205241**

54 Título: **Inhibidores de cinasa de tipo Polo**

30 Prioridad:

**25.09.2007 US 975127 P**

**17.03.2008 US 37303**

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

**01.09.2014**

73 Titular/es:

**TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED  
(100.0%)**

**1-1, DOSHOMACHI 4-CHOME CHUO-KU  
OSAKA-SHI, OSAKA 541-0045, JP**

72 Inventor/es:

**CAO, SHELDON X.;  
FEHER, VICTORIA;  
ICHIKAWA, TAKASHI;  
JONES, BENJAMIN;  
KALDOR, STEPHEN W.;  
KIRYANOV, ANDRE A.;  
LIU, YAN;  
MCBRIDE, CHRISTOPHER;  
NATALA, SRINIVASA REDDY;  
NIE, ZHE;  
STAFFORD, JEFFREY A. y  
LAM, BETTY**

74 Agente/Representante:

**PÉREZ BARQUÍN, Eliana**

**ES 2 488 966 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

Inhibidores de cinasa de tipo Polo

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a compuestos que pueden usarse para inhibir cinasas, así como a composiciones de materia, a kits y a artículos de fabricación que comprenden estos compuestos. La invención también se refiere a compuestos según la presente invención para su uso como medicamentos. Además, en el presente documento se describen métodos de preparación de los compuestos de la presente invención, así como productos intermedios útiles en tales métodos. En particular, la presente invención se refiere a inhibidores de cinasa de tipo Polo (PLK), a composiciones de materia y a kits y a artículos de fabricación que comprenden estos compuestos. En el presente documento se describen métodos para inhibir PLK, y métodos y productos intermedios útiles para preparar los inhibidores.

15

**Antecedentes de la invención**

La invención se refiere a inhibidores de enzimas que catalizan la transferencia de fosforilo y/o que se unen a nucleótidos de ATP/GTP, a composiciones que comprenden los inhibidores y a métodos de uso de los inhibidores y composiciones de inhibidores.

20

Muchos estados patológicos se caracterizan por proliferación y diferenciación no controlada de células. Estos estados patológicos abarcan una variedad de tipos de células y enfermedades tales como cáncer, aterosclerosis, reestenosis y psoriasis. Se ha implicado a la señalización no controlada debida a un control defectuoso de la fosforilación de proteínas en varias enfermedades y estados de enfermedad, incluyendo, por ejemplo, inflamación, cáncer, alergia/asma, enfermedades y estados del sistema inmunitario, enfermedades y estados del sistema nervioso central (SNC), enfermedad cardiovascular, dermatología, y angiogénesis.

25

Los inhibidores y las composiciones que los comprenden son útiles para tratar o modular una enfermedad en la que pueden estar implicadas fosforil transferasas, incluyendo cinasas, síntomas de tal enfermedad o el efecto de otros acontecimientos fisiológicos medidos por fosforil transferasas, incluyendo cinasas.

30

Las fosforil transferasas son una familia grande de enzimas que transfieren grupos que contienen fósforo de un sustrato a otro. Según las convenciones expuestas por el Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) (IUBMB) las enzimas de este tipo tienen números de la Comisión de Enzimas (*Enzyme Commission*) (EC) que comienzan con 2.7.-.- (véase, Bairoch A., *The ENZYME database in Nucleic Acids Res.* 28:204-305 (2000)). Las cinasas son una clase de enzimas que funcionan en la catálisis de la transferencia de fosforilo. Las proteína cinasas constituyen la subfamilia más grande fosforil transferasas relacionadas estructuralmente y son responsables del control de una amplia variedad de procesos de transducción de señales dentro de la célula. (Véase, Hardie, G. y Hanks, S. (1995) *The Protein Kinase Facts Book*, I and II, Academic Press, San Diego, CA). Se cree que las proteína cinasas han evolucionado a partir de un gen ancestral común debido a la conservación de su estructura y función catalítica. Casi todas las cinasas contienen un dominio catalítico de 250-300 aminoácidos similar. Las proteína cinasas pueden clasificarse en familias según los sustratos que fosforilan (por ejemplo, proteína-tirosina, proteína-serina/treonina, histidina, etc.). Se han identificado motivos de secuencia de proteína cinasas que corresponden generalmente a cada una de estas familias de cinasas (véase, por ejemplo, Hanks, S.K.; Hunter, T., *FASEB J.* 9:576-596 (1995); Kinghton *et al.*, *Science*, 253:407-414 (1991); Hiles *et al.*, *Cell* 70:419-429 (1992); Kunz *et al.*, *Cell*, 73:585-596 (1993); Garcia-Bustos *et al.*, *EMBO J.*, 13:2352-2361 (1994)). Las lípido cinasas (por ejemplo PI3K) constituyen un grupo separado de cinasas con similitud estructural a proteína cinasas.

35

40

45

50

Las proteína y lípido cinasas regulan muchos procesos celulares diferentes incluyendo, pero sin limitarse a, proliferación, crecimiento, diferenciación, metabolismo, acontecimientos del ciclo celular, apoptosis, motilidad, transcripción, traducción y otros procesos de señalización, añadiendo grupos fosfato a dianas tales como proteínas o lípidos. Los acontecimientos de fosforilación catalizados por cinasas actúan como interruptores de activación/desactivación moleculares que pueden modular o regular la función biológica de la proteína diana. La fosforilación de proteínas diana se produce en respuesta a una variedad de señales extracelulares (hormonas, neurotransmisores, factores de crecimiento y diferenciación, etc.), acontecimientos del ciclo celular, estreses del entorno o nutricionales, etc. Las proteína y lípido cinasas pueden funcionar en rutas de señalización para activar o inactivar, o modular la actividad (o bien directa o bien indirectamente) de las dianas. Estas dianas pueden incluir, por ejemplo, enzimas metabólicas, proteínas reguladoras, receptores, proteínas del citoesqueleto, bombas o canales iónicos o factores de transcripción. El interés inicial en proteína cinasas como dianas farmacológicas se vio estimulado por los hallazgos de que muchos oncogenes virales codifican para proteína cinasas celulares modificadas estructuralmente con actividad enzimática constitutiva. Estos hallazgos apuntaban a la posible implicación de proteína cinasas relacionadas con oncogenes en trastornos proliferativos en seres humanos. Posteriormente, se ha implicado a la actividad proteína cinasa desregulada, que resulta de una variedad de mecanismos más sutiles, en la fisiopatología de varios trastornos importantes en seres humanos incluyendo, por

55

60

65

ejemplo, cáncer, estados del SNC y enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario. El desarrollo de inhibidores de proteína cinasas selectivos que puedan bloquear las patologías de la enfermedad y/o los síntomas que resultan de la actividad proteína cinasa aberrante ha generado por tanto mucho interés.

5 El cáncer resulta de la desregulación de los procesos normales que controlan la división, diferenciación celulares y la muerte celular apoptótica. Las proteína cinasas desempeñan un papel crítico en estos procesos reguladores. Una lista no limitativa parcial de tales cinasas incluye ab1, Aurora-A, Aurora-B, Aurora-C, Akt, bcr-abl, B1k, Brk, Btk, c-Kit, c-Met, c-Src, CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, cRaf1, CSF1R, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB4, ERK, Fak, fes, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FGFR5, Fgr, Flt-4, Flit-1, FER, Frk, Fyn, Hck, IGF-1R, INS-R, Jak, KDR, Lck, Lyn, MEK, p38, PDGFR, PIK, PKC, PLK, PYK2, Ros, Tiel, Tie2, Trk, Yes y Zap70. En la biología de mamíferos, tales proteína cinasas comprenden rutas de señalización de proteína cinasas activadas por mitógenos (MAPK). Las rutas de señalización de MAPK se activan de manera inapropiada por una variedad de mecanismos asociados a enfermedad comunes tales como mutación de genes ras y desregulación de receptores de factores de crecimiento (Magnuson *et al.*, Seminars in Cancer Biology 5:247-252 (1994)). Por tanto, la inhibición de proteína cinasas es un objeto de la presente invención.

Las cinasas de tipo Polo (PLK incluyendo PLK1, PLK2, PLK3 y PLK4) son serina/treonina proteína cinasas que se han implicado en cáncer en seres humanos, tal como tumor de colon, de mama y otros tumores sólidos. Se cree que las cinasas de tipo Polo (también denominadas PLK) están implicadas en acontecimientos de fosforilación de proteínas que regulan el ciclo celular. Específicamente, PLK1 puede desempeñar un papel en el control de la segregación precisa de cromosomas durante la mitosis. La falta de regulación del ciclo celular puede conducir a proliferación celular y otras anomalías. En tejido de cáncer de colon humano, se ha encontrado que las PLK se sobreexpresan (véase, Barr *et al* en Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 5: 429 (2004); van Vugt *et al* en Oncogene, 24: 2844 (2005)). Se ha notificado recientemente PLK1 como una molécula candidata atractiva para terapia tumoral dirigida (véase Takai *et al* en Oncogene, 24:287 (2005); McInnes *et al* en Current Topics in Med. Chem., 5: 181 (2005)).

Hay una necesidad continuada de encontrar nuevos agentes terapéuticos para tratar enfermedades humanas. Las proteína cinasas, específicamente, pero sin limitarse a, cinasa de tipo Polo (PLK), son dianas especialmente atractivas para el descubrimiento de nuevos agentes terapéuticos debido a su importante papel en trastornos hiperproliferativos; cáncer (por ejemplo, tumores sólidos, leucemias, linfomas, cánceres de pulmón de células no pequeñas y carcinomas esofágicos); enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias (por ejemplo, psoriasis, alopecia; esclerosis múltiple; colitis, artritis, enfermedad de Alzheimer, glomerulonefritis y cicatrización de heridas); mucositis y alopecia inducida por agentes quimioterápicos; enfermedades cardiovasculares (por ejemplo, estenosis, arteriosclerosis, reestenosis e hipertrofia); enfermedades infecciosas virales, bacterianas, fúngicas y/o parasitarias (por ejemplo, infecciones citomegálicas, herpes, hepatitis B y C, sarcoma de Kaposi, enfermedades de VIH); enfermedades nefrológicas (por ejemplo, glomerulonefritis); enfermedades neurodegenerativas crónicas y agudas (por ejemplo, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Parkinson, demencia por SIDA, enfermedad de Alzheimer, isquemias del cerebro y neurotraumatismos); enfermedades de la piel (por ejemplo, psoriasis); enfermedades óseas; la protección de células en proliferación (por ejemplo, células del cabello, intestinales, sanguíneas y progenitoras) del daño al ADN provocado por radiación, tratamiento UV y/o tratamiento citostático; y otras enfermedades.

Se dan a conocer determinados inhibidores de PLK en el documento WO 2007/095188 así como en el documento WO 2008/003958 (publicado tras la fecha de prioridad más temprana de la presente solicitud) y en el documento WO 2008/113711 (publicado tras la fecha de presentación de la presente solicitud).

La presente invención proporciona inhibidores de PLK, incluyendo algunos que tienen una susceptibilidad reducida a la resistencia a múltiples fármacos.

## 50 Sumario de la invención

La presente invención se refiere a compuestos que tienen actividad para inhibir cinasas. La presente invención también proporciona composiciones, artículos de fabricación y kits que comprenden estos compuestos. En el presente documento se describen métodos de preparación de los compuestos de la presente invención, así como productos intermedios útiles en tales métodos.

En una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de cinasa según la presente invención como principio activo. Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden comprender opcionalmente el 0,001%-100% de uno o más inhibidores de esta invención. Estas composiciones farmacéuticas pueden administrarse o coadministrarse por una amplia variedad de vías, incluyendo por ejemplo, por vía oral, por vía parenteral, por vía intraperitoneal, por vía intravenosa, por vía intraarterial, por vía transdérmica, por vía sublingual, por vía intramuscular, por vía rectal, por vía transbucal, por vía intranasal, por vía liposomal, mediante inhalación, por vía vaginal, por vía intraocular, mediante administración local (por ejemplo mediante catéter o endoprótesis), por vía subcutánea, por vía intradiposa, por vía intraarticular o por vía intratecal. Las composiciones también pueden administrarse o coadministrarse en formas de dosificación de liberación lenta.

La invención también se refiere a kits y otros artículos de fabricación para tratar estados patológicos asociados con cinasas.

5 En una realización, se proporciona un kit que comprende una composición que comprende al menos un inhibidor de cinasa de la presente invención en combinación con instrucciones. Las instrucciones pueden indicar el estado patológico para el que debe administrarse la composición, información de almacenamiento, información de dosificación y/o instrucciones referentes a cómo administrar la composición. El kit también puede comprender materiales de envasado. El material de envasado puede comprender un recipiente para alojar la composición. El kit también puede comprender opcionalmente componentes adicionales, tales como jeringas para la administración de la composición. El kit puede comprender la composición en formas de dosis únicas o múltiples.

15 En otra realización, se proporciona un artículo de fabricación que comprende una composición que comprende al menos un inhibidor de cinasa de la presente invención en combinación con materiales de envasado. El material de envasado puede comprender un recipiente para alojar la composición. El recipiente puede comprender opcionalmente una etiqueta que indica el estado patológico para el que debe administrarse la composición, información de almacenamiento, información de dosificación y/o instrucciones referentes a cómo administrar la composición.

20 También se describen métodos para preparar compuestos, composiciones y kits según la presente invención. Por ejemplo, se describen varios esquemas de síntesis en el presente documento para sintetizar compuestos según la presente invención.

También se proporcionan compuestos, composiciones, kits y artículos de fabricación según la presente invención para su uso como medicamentos.

25 Los compuestos, las composiciones, los kits y los artículos de fabricación se usan para inhibir cinasas. En particular, los compuestos, las composiciones, los kits y los artículos de fabricación pueden usarse para inhibir una PLK.

30 Los compuestos, las composiciones, los kits y los artículos de fabricación se usan para tratar un estado patológico para el que las cinasas presentan actividad que contribuye a la patología y/o sintomatología del estado patológico.

35 Se indica con respecto a todas las realizaciones anteriores que la presente invención pretende abarcar todas las formas ionizadas farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, sales) y solvatos (por ejemplo, hidratos) de los compuestos, independientemente de si se especifican tales formas ionizadas y solvatos puesto que se sabe bien en la técnica administrar agentes farmacéuticos en una forma ionizada o solvatada. También se indica que a menos que se especifique una estereoquímica particular, se pretende que la mención de un compuesto abarque todos los posibles estereoisómeros (por ejemplo, enantiómeros o diastereómeros dependiendo del número de centros quirales, e isómeros geométricos), independientemente de si el compuesto está presente como un estereoisómero individual o una mezcla de estereoisómeros. Además, a menos que se especifique lo contrario, se pretende que la mención de un compuesto abarque todas las posibles formas de resonancia y tautómeros. Con respecto a las reivindicaciones, se pretende que la expresión "compuesto de fórmula" abarque el compuesto y todos los solvatos y formas ionizadas farmacéuticamente aceptables, todos los posibles estereoisómeros y todos los tautómeros y formas de resonancia posibles a menos que se especifique específicamente lo contrario en la reivindicación particular.

45 **Breve descripción de la figura**

La figura 1 ilustra SEQ. ID NO: 1-6 a las que se hace referencia en esta solicitud.

## 50 **Definiciones**

A menos que se establezca lo contrario, los siguientes términos usados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones tendrán los siguientes significados para los fines de esta solicitud.

55 Se indica que, tal como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referentes en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Además, pueden encontrarse definiciones de términos de química convencionales en trabajos de referencia, incluyendo Carey y Sundberg "ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4<sup>a</sup> ED". Vol. A (2000) y B (2001), Plenum Press, Nueva York. Además, a menos que se indique lo contrario, se emplean métodos convencionales de espectroscopía de masas, RMN, HPLC, química de proteínas, bioquímica, técnicas de ADN recombinante y farmacología, dentro del conocimiento de la técnica.

65 "Alicíclico" significa un resto que comprende una estructura de anillos no aromática. Los restos alicíclicos pueden estar saturados o parcialmente insaturados con uno, dos o más dobles o triples enlaces. Los restos alicíclicos también pueden comprender opcionalmente heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno y azufre. Los átomos de nitrógeno pueden estar opcionalmente cuaternizados u oxidados y los átomos de azufre puede estar opcionalmente

oxidados. Los ejemplos de restos alicíclicos incluyen, pero no se limitan a, restos con anillos (C<sub>3-8</sub>) tales como ciclopropilo, ciclohexano, ciclopentano, ciclopenteno, ciclopentadieno, ciclohexano, ciclohexeno, ciclohexadieno, cicloheptano, ciclohepteno, cicloheptadieno, ciclooctano, cicloocteno y ciclooctadieno. Los ejemplos adicionales de restos alicíclicos incluyen tetrahidrofurano, pirrolidina, piperidina, piperazina, morfolina y similares.

5 “Alifático” significa un resto caracterizado por una disposición de cadena lineal o ramificada de átomos de carbono constituyentes y puede estar saturado o parcialmente insaturado con uno, dos o más dobles o triples enlaces.

10 “Alquenilo” significa una cadena de carbono lineal o ramificada que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono (-CR=CR'- o -CR=CR'R", en el que R, R' y R" son cada uno independientemente hidrógeno o sustituyentes adicionales). Los ejemplos de alquenilo incluyen vinilo, alilo, isopropenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, 1-propenilo, 2-butenilo, 2-metil-2-butenilo y similares. En realizaciones particulares, “alquenilo”, o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquenilo (C<sub>2-20</sub>), un alquenilo (C<sub>2-15</sub>), un alquenilo (C<sub>2-10</sub>), un alquenilo (C<sub>2-5</sub>) o un alquenilo (C<sub>2-3</sub>). Alternativamente, “alquenilo”, o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquenilo (C<sub>2</sub>), un alquenilo (C<sub>3</sub>) o un alquenilo (C<sub>4</sub>).

20 “Alquenileno” significa una cadena de carbono divalente lineal o ramificada que tiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono (-CR=CR'-, en el que R y R' son cada uno independientemente hidrógeno o sustituyentes adicionales). Los ejemplos de alquenileno incluyen eteno-1,2-diilo, propeno-1,3-diilo, metileno-1,1-diilo y similares. En realizaciones particulares, “alquenileno”, o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquenileno (C<sub>2-20</sub>), un alquenileno (C<sub>2-15</sub>), un alquenileno (C<sub>2-10</sub>), un alquenileno (C<sub>2-5</sub>) o un alquenileno (C<sub>2-3</sub>). Alternativamente, “alquenileno”, o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquenileno (C<sub>2</sub>), un alquenileno (C<sub>3</sub>) o un alquenileno (C<sub>4</sub>).

25 “Alcoxilo” significa un resto oxígeno que tiene un sustituyente alquilo adicional. Los grupos alcoxilo de la presente invención pueden estar opcionalmente sustituidos. Cuando están sustituidos, los grupos particulares para alcoxilo incluyen sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en amino, alcoxilo (C<sub>1-4</sub>), alquilo (C<sub>1-4</sub>), ciano, cicloalquilo (C<sub>3-8</sub>), halo, hidroxilo, nitro, oxo y fenilo opcionalmente sustituido. Un alcoxilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido tiene desde 1 hasta 6 de tales sustituyentes.

30 “Alquilo” representado por sí mismo significa un radical alifático saturado lineal o ramificado que tiene una cadena de átomos de carbono. Se usan normalmente alquilo (C<sub>X</sub>) y alquilo (C<sub>X-Y</sub>) en los que X e Y indican el número de átomos de carbono en la cadena. Por ejemplo, alquilo (C<sub>1-6</sub>) incluye alquilos que tienen una cadena de entre 1 y 6 carbonos (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo y similares). Alquilo representado junto con otro radical (por ejemplo, como en arilalquilo, heteroarilalquilo y similares) significa un radical divalente alifático lineal o ramificado, saturado o insaturado que tiene el número de átomos indicado o cuando no se indican átomos significa un enlace (por ejemplo, aril (C<sub>6-10</sub>)-alquilo (C<sub>1-3</sub>) incluye, bencilo, fenetilo, 1-feniletilo, 3-fenilpropilo, 2-tienilmetilo, 2-piridinilmetilo y similares). En realizaciones particulares, “alquilo”, o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquilo (C<sub>1-20</sub>), un alquilo (C<sub>1-15</sub>), un alquilo (C<sub>1-10</sub>), un alquilo (C<sub>1-5</sub>), un alquilo (C<sub>1-4</sub>) o un alquilo (C<sub>1-3</sub>). Alternativamente, “alquilo”, o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquilo (C<sub>1</sub>), un alquilo (C<sub>2</sub>) o un alquilo (C<sub>3</sub>). Cuando está sustituido, los grupos particulares para el alquilo incluyen sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en amino, alcoxilo (C<sub>1-4</sub>), alquilo (C<sub>1-4</sub>), amido, carboxilo, ciano, cicloalquilo (C<sub>3-8</sub>), halo, hidroxilo, nitro, oxo, un éster de ácido fosfórico (-OP(O)(OH)<sub>2</sub>) y fenilo opcionalmente sustituido. Un alquilo (C<sub>1-4</sub>) o alquilo (C<sub>1-10</sub>) opcionalmente sustituido tiene desde 1 hasta 6 de tales sustituyentes.

45 “Alquileno”, a menos que se indique lo contrario, significa un radical divalente lineal o ramificado, saturado, alifático. Se usan normalmente alquileno (C<sub>X</sub>) y alquileno (C<sub>Y-Y</sub>) en los que X e Y indican el número de átomos de carbono en la cadena. Por ejemplo, alquileno (C<sub>1-6</sub>) incluye metileno (-CH<sub>2</sub>-), etileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), trimetileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), tetrametileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 2-metiltetrametileno (-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), pentametileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-) y similares. En realizaciones particulares, “alquileno”, o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquileno (C<sub>1-20</sub>), un alquileno (C<sub>1-15</sub>), un alquileno (C<sub>1-10</sub>), un alquileno (C<sub>1-5</sub>) o un alquileno (C<sub>1-3</sub>). Alternativamente, “alquileno”, o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquileno (C<sub>1</sub>), un alquileno (C<sub>2</sub>) o un alquileno (C<sub>3</sub>).

55 “Alquilideno” significa un radical alifático lineal o ramificado, saturado o insaturado conectado a la molécula original mediante un doble enlace. Se usan normalmente alquilideno (C<sub>X</sub>) y alquilideno (C<sub>X-Y</sub>) en los que X e Y indican el número de átomos de carbono en la cadena. Por ejemplo, alquilideno (C<sub>1-6</sub>) incluye metileno (=CH<sub>2</sub>), etilideno (=CHCH<sub>3</sub>), isopropilideno (=C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), propilideno (=CHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), alilideno (=CH-CH=CH<sub>2</sub>) y similares. En realizaciones particulares, “alquilideno”, o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquilideno (C<sub>1-20</sub>), un alquilideno (C<sub>1-15</sub>), un alquilideno (C<sub>1-10</sub>), un alquilideno (C<sub>1-5</sub>) o un alquilideno (C<sub>1-3</sub>). Alternativamente, “alquilideno”, o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquilideno (C<sub>1</sub>), un alquilideno (C<sub>2</sub>) o un alquilideno (C<sub>3</sub>).

65 “Alquinilo” significa una cadena de carbono lineal o ramificada que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono (-C=C- o -C=CR, en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional). Los ejemplos de alquinilo incluyen

etnilo, propargilo, 3-metil-1-pentnilo, 2-heptnilo y similares. En realizaciones particulares, "alquinilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquinilo (C<sub>2-20</sub>), un alquinilo (C<sub>2-15</sub>), un alquinilo (C<sub>2-10</sub>), un alquinilo (C<sub>2-5</sub>) o un alquinilo (C<sub>2-3</sub>). Alternativamente, "alquinilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquinilo (C<sub>2</sub>), un alquinilo (C<sub>3</sub>) o un alquinilo (C<sub>4</sub>).

5 "Alquinileno" significa una cadena de carbono divalente lineal o ramificada que tiene uno o más triples enlaces carbono-carbono (-CR≡CR'-, en el que R y R' son cada uno independientemente hidrógeno o sustituyentes adicionales). Los ejemplos de alquinileno incluyen etino-1,2-diilo, propino-1,3-diilo y similares. En realizaciones  
10 particulares, "alquinileno", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquinileno (C<sub>2-20</sub>), un alquinileno (C<sub>2-15</sub>), un alquinileno (C<sub>2-10</sub>), un alquinileno (C<sub>2-5</sub>) o un alquinileno (C<sub>2-3</sub>). Alternativamente, "alquinileno", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un alquinileno (C<sub>2</sub>), un alquinileno (C<sub>3</sub>) o un alquinileno (C<sub>4</sub>).

15 "Amido" significa el radical -C(=O)-NR-, -C(=O)-NRR', -NR-C(=O)- y/o -NR-C(=O)R', en los que cada R y R' son independientemente hidrógeno o un sustituyente adicional. R, cuando está unido a nitrógeno, se selecciona normalmente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo (C<sub>1-4</sub>). R', cuando está unido a nitrógeno, se selecciona normalmente del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, cada uno no sustituido o sustituido. Cuando R' es un alquilo (C<sub>1-4</sub>) sustituido, sustituyentes típicos en el mismo son alcoxilo (C<sub>1-4</sub>), amido, carboxilo, ciano, cicloalquilo (C<sub>3-8</sub>), halo, hidroxilo, nitro, oxo y fenilo opcionalmente sustituido. Cuando R' es un cicloalquilo (C<sub>3-8</sub>) sustituido, sustituyentes típicos en el mismo son alcoxilo (C<sub>1-4</sub>), alquilo (C<sub>1-4</sub>), amido, carboxilo, ciano, halo, hidroxilo, nitro, oxo y fenilo opcionalmente sustituido. Cuando R' es un heterocicloalquilo (C<sub>3-6</sub>) sustituido, sustituyentes típicos en el mismo son alcoxilo (C<sub>1-4</sub>), alquilo (C<sub>1-4</sub>), amido, carboxilo, ciano, cicloalquilo (C<sub>3-8</sub>), halo, hidroxilo, nitro, oxo y fenilo opcionalmente sustituido.

25 "Amino" significa un resto nitrógeno que tiene dos sustituyentes adicionales en el que, por ejemplo, un átomo de hidrógeno o carbono está unido al nitrógeno. Por ejemplo, los grupos amino representativos incluyen -NH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>3</sub>, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH(alquilo (C<sub>1-10</sub>)), -N(alquilo (C<sub>1-10</sub>))<sub>2</sub>, -NH(arilo), -NH(heteroarilo), -N(arilo)<sub>2</sub>, -N(heteroarilo)<sub>2</sub>, -NH(cicloalquilo), -NH(heterocicloalquilo) y similares y los sustituyentes adicionales en el nitrógeno pueden estar por sí mismos sustituidos o no sustituidos. Cuando un sustituyente adicional es alquilo (C<sub>1-4</sub>), sustituyentes típicos en el mismo son alcoxilo (C<sub>1-4</sub>), amido, carboxilo, ciano, cicloalquilo (C<sub>3-8</sub>), halo, hidroxilo, nitro, oxo y fenilo opcionalmente sustituido. Cuando un sustituyente adicional es cicloalquilo (C<sub>3-8</sub>), sustituyentes típicos en el mismo son alcoxilo (C<sub>1-4</sub>), alquilo (C<sub>1-4</sub>), amido, carboxilo, ciano, halo, hidroxilo, nitro, oxo y fenilo opcionalmente sustituido. Cuando un sustituyente adicional es heterocicloalquilo (C<sub>3-6</sub>), sustituyentes típicos en el mismo son alcoxilo (C<sub>1-4</sub>), alquilo (C<sub>1-4</sub>), amido, carboxilo, ciano, cicloalquilo (C<sub>3-8</sub>), halo, hidroxilo, nitro, oxo y fenilo opcionalmente sustituido.  
30 Opcionalmente, los dos sustituyentes junto con el nitrógeno pueden formar también un anillo. A menos que se indique lo contrario, los compuestos de la invención que contienen restos amino pueden incluir derivados protegidos de los mismos. Los grupos protectores adecuados para restos amino incluyen acetilo, terc-butoxicarbonilo, benciloxicarbonilo y similares.

40 "Animal" incluye seres humanos, mamíferos no humanos (por ejemplo, perros, gatos, conejos, ganado, caballos, ovejas, cabras, cerdos, ciervos y similares) y animales no mamíferos (por ejemplo, aves y similares).

45 "Aromático" significa un resto en el que los átomos constituyentes constituyen un sistema de anillos insaturados, conjugados, o bien que tienen un número total de electrones pi igual a 4n+2 o bien que tienen carácter aromático o bien que tienen el número máximo de dobles enlaces. Un anillo aromático puede ser tal que los átomos de anillo son sólo átomos de carbono o puede incluir átomos de carbono y átomos distintos de carbono (véase "heteroarilo").

50 "Arilo" significa un conjunto de anillos monocíclico o policíclico en el que cada anillo es aromático o cuando se fusiona con uno o más anillos forma un conjunto de anillos aromático. Si uno o más átomos de anillo no son carbono (por ejemplo, N, S), el arilo es un heteroarilo. Se usan normalmente arilo (C<sub>x</sub>) y arilo (C<sub>x-y</sub>) en los que X e Y indican el número de átomos de carbono en el anillo. En realizaciones particulares, "arilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un arilo (C<sub>3-14</sub>), un arilo (C<sub>3-10</sub>), un arilo (C<sub>3-7</sub>), un arilo (C<sub>8-10</sub>) o un arilo (C<sub>5-7</sub>). Alternativamente, "arilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un arilo (C<sub>5</sub>), un arilo (C<sub>6</sub>), un arilo (C<sub>7</sub>), un arilo (C<sub>8</sub>), un arilo (C<sub>9</sub>) o un arilo (C<sub>10</sub>). Arilos particulares son fenilo y naftilo. Cuando está sustituido, los grupos particulares para arilo incluyen sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en amino, alcoxilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, alquilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, amido, carboxilo, ciano, cicloalquilo (C<sub>3-8</sub>), halo, hidroxilo y nitro. Un arilo (C<sub>4-12</sub>) opcionalmente sustituido tiene desde 1 hasta 4 de tales sustituyentes.  
55

60 "Azaalquilo" significa un alquilo, tal como se definió anteriormente, excepto porque uno o más de los átomos de carbono que forman la cadena de alquilo se reemplazan por átomos de nitrógeno sustituidos o no sustituidos (-NR- o -NRR', en el que R y R' son cada uno independientemente hidrógeno o sustituyentes adicionales). Por ejemplo, un azaalquilo (C<sub>1-10</sub>) se refiere a una cadena que comprende entre 1 y 10 carbonos y uno o más átomos de nitrógeno.

65 "Bicicloalquilo" significa un conjunto de anillos bicíclico condensado, de espiro o con puente saturado. En realizaciones particulares, "bicicloalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un

bicicloalquilo ( $C_{4-15}$ ), un bicicloalquilo ( $C_{4-10}$ ), un bicicloalquilo ( $C_{6-10}$ ), bicicloalquilo ( $C_{7-10}$ ) o un bicicloalquilo ( $C_{8-10}$ ). Alternativamente, "bicicloalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un bicicloalquilo ( $C_8$ ), un bicicloalquilo ( $C_9$ ) o un bicicloalquilo ( $C_{10}$ ).

5 "Bicicloarilo" significa un conjunto de anillos bicíclico condensado, de espiro o con puente en el que al menos uno de los anillos que comprende el conjunto es aromático. Se usan normalmente bicicloarilo ( $C_X$ ) y bicicloarilo ( $C_{X-Y}$ ) en los que X e Y indican el número de átomos de carbono en el conjunto de anillos bicíclico y directamente unidos al anillo. En realizaciones particulares, "bicicloarilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un bicicloarilo ( $C_{4-15}$ ), un bicicloarilo ( $C_{4-10}$ ), un bicicloarilo ( $C_{6-10}$ ) o un bicicloarilo ( $C_{8-10}$ ). Alternativamente,  
10 "bicicloalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un bicicloarilo ( $C_8$ ), un bicicloarilo ( $C_9$ ) o un bicicloarilo ( $C_{10}$ ).

"Anillo puente" y "anillo con puente" tal como se usan en el presente documento se refieren a un anillo que se une a otro anillo para formar un compuesto que tiene una estructura bicíclica o policíclica en la que dos átomos de anillo que son comunes a ambos anillos no están directamente unidos entre sí. Los ejemplos no exclusivos de compuestos comunes que tienen un anillo puente incluyen borneol, norbornano, 7-oxabicyclo[2.2.1]heptano y similares. Uno o  
15 ambos anillos del sistema bicíclico pueden comprender también heteroátomos.

"Carbamoiloxilo" significa el radical  $-OC(O)NRR'$ , en el que R y R' son cada uno independientemente hidrógeno o  
20 sustituyentes adicionales.

"Carbociclo" significa un anillo que consiste en átomos de carbono.

"Carbonilo" significa el radical  $-C(=O)-$  y/o  $-C(=O)R$ , en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional. Se indica  
25 que el radical carbonilo puede estar sustituido adicionalmente con una variedad de sustituyentes para formar diferentes grupos carbonilo incluyendo ácidos, haluros de ácido, aldehídos, amidas, ésteres y cetonas.

"Carboniloxilo" significa el radical  $R-C(=O)O-$  en el que el sustituyente se une a través de oxígeno y R es hidrógeno o  
30 sustituyentes adicionales, particularmente alquilo ( $C_{1-4}$ ) opcionalmente sustituido o fenilo opcionalmente sustituido.

"Carboxilo" significa el radical  $-C(=O)O-$  y/o  $-C(=O)OR$ , en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional. Se indica que los compuestos de la invención que contienen restos carboxilo pueden incluir derivados protegidos de los mismos, es decir, en los que el oxígeno está sustituido con un grupo protector. Los grupos protectores adecuados para restos carboxilo incluyen bencilo, terc-butilo y similares.  
35

"Ciano" significa el radical  $-CN$ .

"Cicloalquilo" significa un conjunto de anillos monocíclico, bicíclico o policíclico no aromático, saturado. Se usan  
40 normalmente cicloalquilo ( $C_X$ ) y cicloalquilo ( $C_{X-Y}$ ) en los que X e Y indican el número de átomos de carbono en el conjunto de anillos. Por ejemplo, cicloalquilo ( $C_{3-10}$ ) incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, bicyclo[2.2.2]octilo, adamantan-1-ilo, decahidronaftilo, oxociclohexilo, dioxociclohexilo, tiociclohexilo, 2-oxobicyclo[2.2.1]hept-1-ilo y similares. En realizaciones particulares, "cicloalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un cicloalquilo ( $C_{3-14}$ ), un cicloalquilo ( $C_{3-10}$ ), un cicloalquilo ( $C_{3-7}$ ), un cicloalquilo ( $C_{8-10}$ ) o un cicloalquilo ( $C_{5-7}$ ). Alternativamente, "cicloalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical,  
45 puede ser un cicloalquilo ( $C_5$ ), un cicloalquilo ( $C_6$ ), un cicloalquilo ( $C_7$ ), un cicloalquilo ( $C_8$ ), un cicloalquilo ( $C_9$ ) o un cicloalquilo ( $C_{10}$ ). Cuando está sustituido, los grupos particulares para cicloalquilo incluyen sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en amino, alcoxilo ( $C_{1-4}$ ) opcionalmente sustituido, alquilo ( $C_{1-4}$ ) opcionalmente sustituido, amido, carboxilo, ciano, halo, hidroxilo, nitro, oxo, un éster de ácido fosfórico ( $-OP(O)(OH)_2$ ) y fenilo opcionalmente sustituido. Un alquilo ( $C_{3-8}$ ) opcionalmente sustituido tiene desde 1 hasta 5 de  
50 tales sustituyentes.

"Cicloalquileno" significa un conjunto de anillos monocíclico, bicíclico o policíclico divalente, saturado. Se usan  
normalmente cicloalquileno ( $C_X$ ) y cicloalquileno ( $C_{X-Y}$ ) en los que X e Y indican el número de átomos de carbono en el conjunto de anillos. En realizaciones particulares, "cicloalquileno", o bien solo o bien representado junto con otro  
55 radical, puede ser un cicloalquileno ( $C_{3-14}$ ), un cicloalquileno ( $C_{3-10}$ ), un cicloalquileno ( $C_{3-7}$ ), un cicloalquileno ( $C_{8-10}$ ) o un cicloalquileno ( $C_{5-7}$ ). Alternativamente, "cicloalquileno", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un cicloalquileno ( $C_5$ ), un cicloalquileno ( $C_6$ ), un cicloalquileno ( $C_7$ ), un cicloalquileno ( $C_8$ ), un cicloalquileno ( $C_9$ ) o un cicloalquileno ( $C_{10}$ ).

60 "Enfermedad", "trastorno" y "estado" incluyen específicamente cualquier estado no sano de un animal o parte del mismo e incluyen un estado no sano que puede estar provocado por, o asociado a, una terapia médica o veterinaria aplicada a ese animal, es decir, los "efectos secundarios" de tal terapia.

65 "Anillo condensado" tal como se usa en el presente documento se refiere a un anillo que está unido a otro anillo para formar un compuesto que tiene una estructura bicíclica en la que los átomos de anillo que son comunes a ambos anillos están unidos directamente entre sí. Los ejemplos no exclusivos de anillos condensados comunes incluyen

decalina, naftaleno, antraceno, fenantreno, indol, furano, benzofurano, quinolina y similares. Los compuestos que tienen sistemas de anillos condensados pueden ser saturados, parcialmente saturados, carbocíclicos, heterocíclicos, aromáticos, heteroaromáticos y similares.

5 "Halo" significa fluoro, cloro, bromo o yodo.

"Heteroalquilo" significa alquilo, tal como se define en esta solicitud, siempre que uno o más de los átomos dentro de la cadena de alquilo sea un heteroátomo. En realizaciones particulares, "heteroalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heteroalquilo (C<sub>1-20</sub>), un heteroalquilo (C<sub>1-15</sub>), un heteroalquilo (C<sub>1-10</sub>), un heteroalquilo (C<sub>1-5</sub>), un heteroalquilo (C<sub>1-3</sub>) o un heteroalquilo (C<sub>1-2</sub>). Alternativamente, "heteroalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heteroalquilo (C<sub>1</sub>), un heteroalquilo (C<sub>2</sub>) o un heteroalquilo (C<sub>3</sub>).

15 "Heteroarilo" significa un grupo aromático monocíclico, bicíclico o policíclico en el que al menos un átomo de anillo es un heteroátomo y los átomos de anillo restantes son carbono. Los grupos heteroarilo monocíclicos incluyen, pero no se limitan a, grupos aromáticos cíclicos que tienen cinco o seis átomos de anillo, en los que al menos un átomo de anillo es un heteroátomo y los átomos de anillo restantes son carbono. Los átomos de nitrógeno pueden estar opcionalmente cuaternizados y los átomos de azufre pueden estar opcionalmente oxidados. Los grupos heteroarilo de esta invención incluyen, pero no se limitan a, los derivados de furano, tiofeno, pirrol, imidazol, isotiazol, isoxazol, oxadiazol, oxazol, 1,2,3-oxadiazol, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, tiazol, 1,3,4-tiadiazol, triazol y tetrazol. "Heteroarilo" también incluye, pero no se limita a, anillos bicíclicos o tricíclicos, en los que el anillo heteroarilo está condensado con uno o dos anillos seleccionados independientemente del grupo que consiste en un anillo de arilo, un anillo de cicloalquilo, un anillo de cicloalquenilo y otro anillo de heteroarilo o heterocicloalquilo monocíclico. Estos heteroarilos bicíclicos o tricíclicos incluyen, pero no se limitan a, los derivados de benzo[b]furano, benzo[b]tiofeno, bencimidazol, imidazo[4,5-c]piridina, quinazolina, tieno[2,3-c]piridina, tieno[3,2-b]piridina, tieno[2,3-b]piridina, indolizina, imidazo[1,2-a]piridina, quinolina, isoquinolina, ftalazina, quinoxalina, naftiridina, quinolizina, indol, isoindol, indazol, indolina, 2-oxoindolina, benzoxazol, benzopirazol, benzotiazol, imidazo[1,5-a]piridina, pirazolo[1,5-a]piridina, imidazo[1,2-a]pirimidina, imidazo[1,2-c]pirimidina, imidazo[1,5-a]pirimidina, imidazo[1,5-c]pirimidina, pirrolo[2,3-b]piridina, pirrolo[2,3-c]piridina, pirrolo[3,2-c]piridina, pirrolo[3,2-b]piridina, pirrolo[2,3-d]pirimidina, pirrolo[3,2-d]pirimidina, pirrolo[2,3-b]pirazina, pirazolo[1,5-a]piridina, pirrolo[1,2-b]piridazina, pirrolo[1,2-c]pirimidina, pirrolo[1,2-a]pirimidina, pirrolo[1,2-a]pirazina, triazo[1,5-a]piridina, pteridina, purina, carbazol, acridina, fenazina, fenotiazeno, fenoxazina, 1,2-dihidropirrolo[3,2,1-hi]indol, indolizina, pirido[1,2-a]indol y 2(1H)-piridinona, benzo[b][1,4]oxazina, benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona, benzo[d][1,3]dioxol, 2,2-difluorbenzo[d][1,3]dioxol. Los anillos de heteroarilo bicíclicos o tricíclicos pueden estar unidos a la molécula original a través de o bien el propio grupo heteroarilo o bien el grupo arilo, cicloalquilo, cicloalquenilo o heterocicloalquilo con el que están condensados. Los grupos heteroarilo de esta invención pueden estar sustituidos o no sustituidos. En realizaciones particulares, "heteroarilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heteroarilo (C<sub>1-10</sub>), heteroarilo (C<sub>1-13</sub>), un heteroarilo (C<sub>2-13</sub>), un heteroarilo (C<sub>2-6</sub>), un heteroarilo (C<sub>3-9</sub>) o un heteroarilo (C<sub>5-9</sub>). Alternativamente, "heteroarilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heteroarilo (C<sub>3</sub>), un heteroarilo (C<sub>4</sub>), un heteroarilo (C<sub>5</sub>), un heteroarilo (C<sub>6</sub>), un heteroarilo (C<sub>7</sub>), un heteroarilo (C<sub>8</sub>) o un heteroarilo (C<sub>9</sub>). Cuando está sustituido, los grupos particulares para heteroarilo incluyen sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en amino, alcoxilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, alquilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, amido, carboxilo, ciano, cicloalquilo (C<sub>3-8</sub>), halo, hidroxilo y nitro. Un heteroarilo (C<sub>1-10</sub>) opcionalmente sustituido tiene desde 1 hasta 4 de tales sustituyentes. Se entiende que heteroarilos que contienen nitrógeno pueden estar sustituidos en el nitrógeno, particularmente con alcoxilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, alquilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, carboxilo y fenilo opcionalmente sustituido.

50 "Heteroátomo" se refiere a un átomo que no es un átomo de carbono. Los ejemplos particulares de heteroátomos incluyen, pero no se limitan a, nitrógeno, oxígeno y azufre.

"Resto de heteroátomo" incluye un resto en el que el átomo mediante el que está unido el resto no es un carbono. Los ejemplos de restos de heteroátomo incluyen -NR-, -N<sup>+</sup>(O)=, -O-, -S- o -S(O)<sub>2</sub>-, en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional.

55 "Heterobicicloalquilo" significa bicicloalquilo, tal como se define en esta solicitud, siempre que uno o más de los átomos dentro del anillo sea un heteroátomo. Por ejemplo heterobicicloalquilo (C<sub>9-12</sub>) tal como se usa en esta solicitud incluye, pero no se limita a, 3-aza-biciclo[4.1.0]hept-3-ilo, 2-aza-biciclo[3.1.0]hex-2-ilo, 3-aza-biciclo[3.1.0]hex-3-ilo y similares. En realizaciones particulares, "heterobicicloalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heterobicicloalquilo (C<sub>1-14</sub>), un heterobicicloalquilo (C<sub>4-14</sub>), un heterobicicloalquilo (C<sub>4-9</sub>) o un heterobicicloalquilo (C<sub>5-9</sub>). Alternativamente, "heterobicicloalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heterobicicloalquilo (C<sub>5</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>6</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>7</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>8</sub>) o un heterobicicloalquilo (C<sub>9</sub>).

65 "Heterobicicloarilo" significa bicicloarilo, tal como se define en esta solicitud, siempre que uno o más de los átomos dentro del anillo sea un heteroátomo. Por ejemplo, heterobicicloarilo (C<sub>4-12</sub>) tal como se usa en esta solicitud incluye, pero no se limita a, 2-amino-4-oxo-3,4-dihidropteridin-6-ilo, tetrahidroisoquinolinilo y similares. En realizaciones

particulares, "heterobicycloarilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heterobicycloarilo (C<sub>1-14</sub>), un heterobicycloarilo (C<sub>4-14</sub>), un heterobicycloarilo (C<sub>4-9</sub>) o un heterobicycloarilo (C<sub>5-9</sub>). Alternativamente, "heterobicycloarilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heterobicycloarilo (C<sub>5</sub>), heterobicycloarilo (C<sub>6</sub>), heterobicycloarilo (C<sub>7</sub>), heterobicycloarilo (C<sub>8</sub>) o un heterobicycloarilo (C<sub>9</sub>).

"Heterocicloalquilo" significa cicloalquilo, tal como se define en esta solicitud, siempre que uno o más de los átomos que forman el anillo sea un heteroátomo seleccionado independientemente de N, O o S. Los ejemplos no exclusivos de heterocicloalquilo incluyen azetidino, piperidino, morfolino, piperazino, pirrolidino, perhidropirrolizino, 1,4-diazaperhidroepinilo, tetrahidrofuranilo, 1,3-dioxano, 1,4-dioxano y similares. En realizaciones particulares, "heterocicloalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heterocicloalquilo (C<sub>1-13</sub>), un heterocicloalquilo (C<sub>1-9</sub>), un heterocicloalquilo (C<sub>1-6</sub>), un heterocicloalquilo (C<sub>5-9</sub>) o un heterocicloalquilo (C<sub>2-6</sub>) o un heterocicloalquilo (C<sub>3-6</sub>). Alternativamente, "heterocicloalquilo", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heterocicloalquilo (C<sub>2</sub>), un heterocicloalquilo (C<sub>3</sub>), un heterocicloalquilo (C<sub>4</sub>), un heterocicloalquilo (C<sub>5</sub>), un heterocicloalquilo (C<sub>6</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>7</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>8</sub>) o un heterocicloalquilo (C<sub>9</sub>). Cuando está sustituido, los grupos particulares para heterocicloalquilo incluyen sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en amino, alcoxilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, alquilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, amido, carboxilo, ciano, halo, hidroxilo, nitro, oxo, un éster de ácido fosfórico (-OP(O)(OH)<sub>2</sub>) y fenilo opcionalmente sustituido. Un heteroalquilo (C<sub>3-6</sub>) opcionalmente sustituido tiene desde 1 hasta 5 de tales sustituyentes. Se entiende que heterocicloalquilos que contienen nitrógeno pueden estar sustituidos en el nitrógeno, particularmente con alcoxilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, alquilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, carboxilo y fenilo opcionalmente sustituido.

"Heterocicloalquileno" significa cicloalquileno, tal como se define en esta solicitud, siempre que uno o más de los átomos de carbono miembros del anillo se reemplacen por un heteroátomo. En realizaciones particulares, "heterocicloalquileno", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heterocicloalquileno (C<sub>1-13</sub>), un heterocicloalquileno (C<sub>1-9</sub>), un heterocicloalquileno (C<sub>1-6</sub>), un heterocicloalquileno (C<sub>5-9</sub>) o un heterocicloalquileno (C<sub>2-6</sub>). Alternativamente, "heterocicloalquileno", o bien solo o bien representado junto con otro radical, puede ser un heterocicloalquileno (C<sub>2</sub>), un heterocicloalquileno (C<sub>3</sub>), un heterocicloalquileno (C<sub>4</sub>), un heterocicloalquileno (C<sub>5</sub>), un heterocicloalquileno (C<sub>6</sub>), heterocicloalquileno (C<sub>7</sub>), heterocicloalquileno (C<sub>8</sub>) o un heterocicloalquileno (C<sub>9</sub>).

"Hidroxilo" significa el radical -OH.

"CI<sub>50</sub>" significa la concentración molar de un inhibidor que produce el 50% de inhibición de la enzima diana.

"Imino" significa el radical -CR(=NR') y/o -C(=NR')-, en los que R y R' son cada uno independientemente hidrógeno o un sustituyente adicional, particularmente alquilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido.

"Isómeros" significa compuestos que tienen fórmulas moleculares idénticas pero que difieren en la naturaleza o secuencia de unión de sus átomos o en la disposición de sus átomos en el espacio. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "estereoisómeros". Los estereoisómeros que no son imágenes especulares entre sí se denominan "diastereómeros" y los estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles se denominan "enantiómeros" o algunas veces "isómeros ópticos". Un átomo de carbono unido a cuatro sustituyentes no idénticos se denomina "centro quiral". Un compuesto con un centro quiral tiene dos formas enantioméricas de quiralidad opuesta. Una mezcla de dos formas enantioméricas se denomina "mezcla racémica". Un compuesto que tiene más de un centro quiral tiene 2<sup>n-1</sup> pares enantioméricos, en la que *n* es el número de centros quirales. Los compuestos con más de un centro quiral pueden existir o bien como un diastereómero individual o bien como una mezcla de diastereómeros, denominada "mezcla diastereomérica". Cuando está presente un centro quiral, un estereoisómero puede caracterizarse por la configuración absoluta de ese centro quiral. La configuración absoluta se refiere a la disposición en el espacio de los sustituyentes unidos al centro quiral. Los enantiómeros se caracterizan por la configuración absoluta de sus centros quirales y se describen mediante las reglas de secuenciación de *R* y *S* de Cahn, Ingold y Prelog. Las convenciones para la nomenclatura estereoquímica, los métodos para la determinación de la estereoquímica y la separación de estereoisómeros se conocen bien en la técnica (por ejemplo, véase "Advanced Organic Chemistry", 4ª edición, March, Jerry, John Wiley & Sons, Nueva York, 1992).

"Grupo saliente" significa el grupo con el significado asociado convencionalmente con el mismo en química orgánica de síntesis, es decir, un átomo o grupo desplazable en condiciones de reacción (por ejemplo, alquilantes). Los ejemplos de grupos salientes incluyen, pero no se limitan a, halo (por ejemplo, F, Cl, Br y I), alquilo (por ejemplo, metilo y etilo) y sulfoniloxilo (por ejemplo, mesiloxilo, etanosulfoniloxilo, bencenosulfoniloxilo y tosilo), tiometilo, tieniloxilo, dihalofosfinoiloxilo, tetrahalofosfoxilo, benciloxilo, isopropiloxilo, aciloxilo y similares.

"Nitro" significa el radical -NO<sub>2</sub>.

"Oxaalquilo" significa un alquilo, tal como se definió anteriormente, excepto en el que uno o más de los átomos de

carbono que forman la cadena de alquilo se reemplazan por átomos de oxígeno (-O- o -OR, en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional). Por ejemplo, un oxaalquilo (C<sub>1-10</sub>) se refiere a una cadena que comprende entre 1 y 10 carbonos y uno o más átomos de oxígeno.

5 “Oxo” se refiere a un átomo de carbono sustituido con un oxígeno con doble enlace, para dar un grupo carbonilo que puede ser, dependiendo de los otros sustituyentes unidos, el grupo carbonilo de un aldehído, una cetona, un éster, una amida o un ácido.

10 “Oxoalquilo” significa un alquilo, tal como se definió anteriormente, excepto en el que uno o más de los átomos de carbono que forman la cadena de alquilo se reemplazan por grupos carbonilo (-C(=O)- o -C(=O)-R, en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional). El grupo carbonilo puede ser un aldehído, una cetona, un éster, una amida, un ácido o un haluro de ácido. Por ejemplo, un oxoalquilo (C<sub>1-10</sub>) se refiere a una cadena que comprende entre 1 y 10 átomos de carbono y uno o más grupos carbonilo.

15 “Oxi” significa el radical -O- u -OR, en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional. Por consiguiente, se indica que el radical oxi puede estar sustituido adicionalmente con una variedad de sustituyentes para formar diferentes grupos oxi incluyendo hidroxilo, alcoxilo, ariloxilo, heteroariloxilo o carboniloxilo.

20 “Farmacéuticamente aceptable” significa que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y no es indeseable ni biológicamente ni de otra forma en las cantidades usadas e incluye que es aceptable para uso veterinario así como uso farmacéutico en seres humanos.

25 “Sales farmacéuticamente aceptables” significa sales de compuestos de la presente invención que son farmacéuticamente aceptables. Tales sales incluyen sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido heptanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido o-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-  
30 hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 4-metilbicyclo[2.2.2]oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 4,4'-metilénbis(3-hidroxi-2-eno-1-carboxílico), ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido terc-butilacético, ácido laurilsulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico y similares.

35 Las sales farmacéuticamente aceptables también incluyen sales de adición de base que pueden formarse cuando los protones ácidos presentes pueden reaccionar con bases orgánicas o inorgánicas. Las bases inorgánicas aceptables incluyen hidróxido de sodio, carbonato de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de aluminio e hidróxido de calcio. Las bases orgánicas aceptables incluyen etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina y similares.

40 “Fenilo opcionalmente sustituido” se refiere a un grupo fenilo que tiene opcionalmente de 1 a 5 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en amino, alquilo C<sub>1-4</sub> opcionalmente sustituido, alcoxilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido, amido, amino, carboxilo, ciano, halógeno, hidroxilo y nitro.

45 “Oxicarbonilo” significa el radical R-O(=O)C- en el que el sustituyente se une a través del carbono y R es sustituyentes adicionales, particularmente alquilo (C<sub>1-4</sub>) opcionalmente sustituido.

50 “Anillo policíclico” incluye anillos bicíclicos y multicíclicos. Los anillos individuales que comprende el anillo policíclico pueden ser anillos condensados, de espiro o puente.

55 “Derivados protegidos” significa derivados de inhibidores en los que un sitio o sitios reactivos se bloquean con grupos protectores. Los derivados protegidos son útiles en la preparación de inhibidores o en sí mismos pueden ser activos como inhibidores. Puede encontrarse una lista exhaustiva de grupos protectores adecuados en T.W. Greene, Protecting Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, John Wiley & Sons, Inc. 1999.

60 “Anillo” y “conjunto de anillos” significa un sistema carbocíclico o heterocíclico e incluye sistemas aromáticos y no aromáticos. El sistema puede ser monocíclico, bicíclico o policíclico. Además, para sistemas bicíclicos y policíclicos, los anillos individuales que comprende el anillo policíclico pueden ser anillos condensados, de espiro o puente.

65 “Sujeto” y “paciente” incluyen seres humanos, mamíferos no humanos (por ejemplo, perros, gatos, conejos, ganado, caballos, ovejas, cabras, cerdos, ciervos y similares) y animales no mamíferos (por ejemplo, aves y similares). Un sujeto o paciente particular es un ser humano.

“Sustituido o no sustituido” significa que un resto dado puede consistir sólo en sustituyentes hidrógeno hasta las valencias disponibles (no sustituido) o puede comprender adicionalmente uno o más sustituyentes distintos de

hidrógeno hasta las valencias disponibles (sustituido) que no se especifican por lo demás mediante el nombre del resto dado. Por ejemplo, isopropilo es un ejemplo de un resto etileno que está sustituido con -CH<sub>3</sub>. En general, un sustituyente distinto de hidrógeno puede ser cualquier sustituyente que puede estar unido a un átomo del resto dado que se especifica que está sustituido. Los sustituyentes se seleccionan del grupo A, que consiste en halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo (C<sub>1-10</sub>), ariloxilo (C<sub>4-12</sub>), heteroariloxilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilo, oxicarbonilo, amido, amino, alquilamino (C<sub>1-10</sub>), sulfonamido, imino, sulfonilo, sulfinilo, alquilo (C<sub>1-10</sub>), haloalquilo (C<sub>1-10</sub>), hidroxiloalquilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), tiocarbonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), sulfonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), sulfinilalquilo (C<sub>1-10</sub>), azaalquilo (C<sub>1-10</sub>), iminoalquilo (C<sub>1-10</sub>), cicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterocicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-10</sub>), arilalquilo (C<sub>1-10</sub>), heteroaril (C<sub>1-10</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), bicicloaril (C<sub>9-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterobicicloaril (C<sub>8-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), bicicloalquilo (C<sub>9-12</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), arilo (C<sub>4-12</sub>), heteroarilo (C<sub>1-10</sub>), bicicloarilo (C<sub>9-12</sub>) y heterobicicloarilo (C<sub>4-12</sub>). Además, el propio sustituyente está opcionalmente sustituido con un sustituyente adicional. El sustituyente adicional se selecciona del grupo B, que consiste en halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo (C<sub>1-10</sub>), ariloxilo (C<sub>4-12</sub>), heteroariloxilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilo, oxicarbonilo, amido, amino, alquilamino (C<sub>1-10</sub>), sulfonamido, imino, sulfonilo, sulfinilo, alquilo (C<sub>1-10</sub>), haloalquilo (C<sub>1-10</sub>), hidroxiloalquilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), tiocarbonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), sulfonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), sulfinilalquilo (C<sub>1-10</sub>), azaalquilo (C<sub>1-10</sub>), iminoalquilo (C<sub>1-10</sub>), cicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterocicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-10</sub>), arilalquilo (C<sub>1-10</sub>), heteroaril (C<sub>1-10</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), bicicloaril (C<sub>9-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterobicicloaril (C<sub>8-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), bicicloalquilo (C<sub>9-12</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), arilo (C<sub>4-12</sub>), heteroarilo (C<sub>1-10</sub>), bicicloarilo (C<sub>9-12</sub>) y heterobicicloarilo (C<sub>4-12</sub>). Siempre que aparezca el término "sustituido o no sustituido" en esta memoria descriptiva, los sustituyentes se seleccionan del grupo A, opcionalmente sustituidos con un sustituyente adicional seleccionado del grupo B.

"Sulfinilo" significa el radical -SO- y/o -SO-R, en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional, particularmente alquilo (C<sub>1-4</sub>) y fenilo opcionalmente sustituido. Se indica que el radical sulfinilo puede estar sustituido adicionalmente con una variedad de sustituyentes para formar diferentes grupos sulfinilo incluyendo ácidos sulfínicos, sulfinamidas, ésteres sulfínicos y sulfóxidos.

"Sulfonilo" significa el radical -SO<sub>2</sub> y/o -SO<sub>2</sub>-R, en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional, particularmente alquilo (C<sub>1-4</sub>) y fenilo opcionalmente sustituido. Se indica que el radical sulfonilo puede estar sustituido adicionalmente con una variedad de sustituyentes para formar diferentes grupos sulfonilo incluyendo ácidos sulfónicos, sulfonamidas, ésteres de sulfonato y sulfonas.

"Cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad que, cuando se administra a un animal para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar tal tratamiento para la enfermedad.

"Tio" indica el reemplazo de un oxígeno por un azufre e incluye, pero no se limita a, grupos que contienen -SR, -S- y =S.

"Tioalquilo" significa un alquilo, tal como se definió anteriormente, excepto en el que uno o más de los átomos de carbono que forman la cadena de alquilo se reemplazan por átomos de azufre (-S- o -S-R, en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional). Por ejemplo, un tioalquilo (C<sub>1-10</sub>) se refiere a una cadena que comprende entre 1 y 10 carbonos y uno o más átomos de azufre.

"Tiocarbonilo" significa el radical -C(=S)- y/o -C(=S)-R, en el que R es hidrógeno o un sustituyente adicional. Se indica que el radical tiocarbonilo puede estar sustituido adicionalmente con una variedad de sustituyentes para formar diferentes grupos tiocarbonilo incluyendo tioácidos, tioamidas, tioésteres y tiocetonas.

"Tratamiento" o "que trata" o "tratar" significa cualquier administración de un compuesto de la presente invención e incluye:

(1) prevenir que se produzca la enfermedad en un animal que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que no experimenta ni presenta aún la patología o sintomatología de la enfermedad,

(2) inhibir la enfermedad en un animal que está experimentando o presentando la patología o sintomatología de la enfermedad (es decir, detener el desarrollo adicional de la patología y/o sintomatología), o

(3) mejorar la enfermedad en un animal que está experimentando o presentando la patología o sintomatología de la enfermedad (es decir, revertir la patología y/o sintomatología) e incluye todos los procedimientos que proporcionan la ralentización, la interrupción, la detención, el control o la parada de la progresión de los estados descritos en el presente documento, pero no indica necesariamente una eliminación total de todos los síntomas o una cura de la enfermedad.

Además, se pretende que los átomos que constituyen los compuestos de la presente incluyan todas las formas isotópicas de tales átomos. Los isótopos, tal como se usan en el presente documento, incluyen los átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números másicos. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio, y los isótopos de carbono incluyen <sup>13</sup>C y <sup>14</sup>C.

**Descripción detallada de la invención**

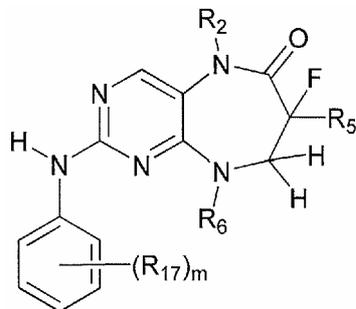
5 La presente invención se refiere a compuestos que pueden usarse para inhibir cinasas y, en particular, cinasas de tipo Polo (denominadas en el presente documento PLK). La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas, a kits y a artículos de fabricación que comprenden tales compuestos. En el presente documento se describen métodos y productos intermedios útiles para preparar los compuestos. Además, la presente invención se refiere a dichos compuestos para su uso como medicamentos. Se indica que los compuestos de la presente invención también pueden presentar actividad para otros miembros de la misma familia de proteínas y por tanto pueden usarse para tratar estados patológicos asociados con estos otros miembros de la familia.

15 La desregulación de PLK está implicada en áreas tales como trastornos hiperproliferativos; cáncer (por ejemplo, tumores sólidos, leucemias, linfomas, cánceres de pulmón de células no pequeñas y carcinomas esofágicos); enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias (por ejemplo, psoriasis, alopecia; esclerosis múltiple; colitis, artritis, enfermedad de Alzheimer, glomerulonefritis y cicatrización de heridas); mucositis y alopecia inducida por agentes quimioterápicos; enfermedades cardiovasculares (por ejemplo, estenosis, arteriosclerosis, reestenosis e hipertrofia); enfermedades infecciosas virales, bacterianas, fúngicas y/o parasitarias (por ejemplo, infecciones citomegálicas, herpes, hepatitis B y C, sarcoma de Kaposi, enfermedades de VIH); enfermedades nefrológicas (por ejemplo, glomerulonefritis); enfermedades neurodegenerativas crónicas y agudas (por ejemplo, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Parkinson, demencia por SIDA, enfermedad de Alzheimer, isquemias del cerebro y neurotraumatismos); enfermedades de la piel (por ejemplo, psoriasis); enfermedades óseas; la protección de células en proliferación (por ejemplo, células del cabello, intestinales, sanguíneas y progenitoras) frente al daño al ADN provocado por radiación, tratamiento UV y/o tratamiento citostático.

25 Se indica que los compuestos de la presente invención también pueden presentar actividad inhibidora para otros miembros de la familia de proteína cinasas y por tanto pueden usarse para tratar estados patológicos asociados con estos otros miembros de la familia.

Inhibidores de cinasa de tipo Polo

30 Los inhibidores de PLK de la presente invención son de fórmula:



35 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que

R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo (C<sub>1-3</sub>);

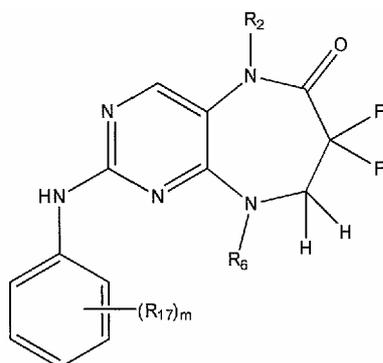
40 R<sub>5</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halo, alquilo (C<sub>1-3</sub>), haloalquilo (C<sub>1-10</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1-10</sub>), carbonialquilo (C<sub>1-10</sub>) y alquenilo (C<sub>2-3</sub>);

R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo (C<sub>1-10</sub>) y cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>);

45 m se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5;

50 al menos un R<sub>17</sub> es fluoro y cada R<sub>17</sub> se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, carbamoiloxilo, carbonilo, oxicarbonilo, amido, amino, alquilamino (C<sub>1-10</sub>), sulfonamido, carboxiamino, ureido, imino, sulfonilo, aminosulfonilo, sulfinito, alquilo (C<sub>1-10</sub>), haloalquilo (C<sub>1-10</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1-10</sub>), carbonialquilo (C<sub>1-3</sub>), tiocarbonialquilo (C<sub>1-3</sub>), sulfonilalquilo (C<sub>1-3</sub>), sulfinitalquilo (C<sub>1-3</sub>), azaalquilo (C<sub>1-10</sub>), iminoalquilo (C<sub>1-3</sub>), cicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterocicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), arilalquilo (C<sub>1-10</sub>), heteroarilalquilo (C<sub>1-5</sub>), bicicloaril (C<sub>9-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterobicicloaril (C<sub>8-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), bicicloalquilo (C<sub>9-12</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), arilo (C<sub>4-12</sub>), heteroarilo (C<sub>1-10</sub>), bicicloarilo (C<sub>9-12</sub>) y heterobicicloarilo (C<sub>4-12</sub>), cada uno sustituido o no sustituido.

55 En una realización, los inhibidores de PLK de la presente invención son de fórmula:



y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que

5 m se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5; y

al menos un R<sub>17</sub> es fluoro y cada uno de los otros R<sub>17</sub> se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, carbamoiloxilo, carbonilo, oxicarbonilo, amido, amino, alquilamino (C<sub>1-10</sub>), sulfonamido, carboxiamino, ureido, imino, sulfonilo, aminosulfonilo, sulfínilo, alquilo (C<sub>1-10</sub>), haloalquilo (C<sub>1-10</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilalquilo (C<sub>1-3</sub>), tiocarbonilalquilo (C<sub>1-3</sub>), sulfonilalquilo (C<sub>1-3</sub>), sulfínialquilo (C<sub>1-3</sub>), azaalquilo (C<sub>1-10</sub>), iminoalquilo (C<sub>1-3</sub>), cicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterocicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), arilalquilo (C<sub>1-10</sub>), heteroarilalquilo (C<sub>1-5</sub>), bicicloaril (C<sub>9-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterobicicloaril (C<sub>8-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), bicicloalquilo (C<sub>9-12</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), arilo (C<sub>4-12</sub>), heteroarilo (C<sub>1-10</sub>), bicicloarilo (C<sub>9-12</sub>) y heterobicicloarilo (C<sub>4-12</sub>), cada uno sustituido o no sustituido.

Los ejemplos particulares de los compuestos según la presente invención incluyen, pero no se limitan a:

- 20 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluoro-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida;
- 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida;
- 25 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-N-(1-(2-hidroxietil)piperidin-4-il)-5-metoxibenzamida;
- 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-(2-dimetilamino)acetil)piperidin-4-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida;
- 30 (R)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(piperidin-3-il)benzamida;
- 35 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida;
- ácido 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-3-metoxibenzoico;
- 40 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-3-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida;
- N-(azetidín-3-il)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida;
- 45 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-etilazetidín-3-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida;
- 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-N-(1-isopropilazetidín-3-il)-5-metoxibenzamida; y
- 50 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-ciclopentilazetidín-3-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida.

Además, los ejemplos particulares de los compuestos según la presente invención incluyen, pero no se limitan a:

4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluoro-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida.

5 En los compuestos de la presente invención, R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y un alquilo (C<sub>1-3</sub>) sustituido o no sustituido. En aún una variación adicional de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, R<sub>2</sub> es metilo.

10 En los compuestos de la presente invención, R<sub>5</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halo, alquilo (C<sub>1-3</sub>) y alqueno (C<sub>2-3</sub>). En otra variación de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, R<sub>5</sub> es alqueno (C<sub>2-3</sub>). En todavía otra variación de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, R<sub>5</sub> es halo. En aún otra variación de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, R<sub>5</sub> es fluoro. En una variación adicional de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, R<sub>5</sub> es bromo.

15 En todavía una variación adicional de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo (C<sub>1-5</sub>) y cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>). En aún una variación adicional de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en isopropilo, ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

20 En todavía otra variación de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, al menos un R<sub>17</sub> es un alcoxilo sustituido o no sustituido. En aún otra variación de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, al menos un R<sub>17</sub> es metoxilo. En una variación adicional de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, al menos un R<sub>17</sub> es a halo. En todavía una variación adicional de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, al menos un R<sub>17</sub> es fluoro.

30 En aún otra variación de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, al menos un R<sub>17</sub> comprende -C(O)NR<sub>25</sub>R<sub>26</sub>, en el que R<sub>25</sub> y R<sub>26</sub> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, carbonilo, oxicarbonilo, amino, alquilamino (C<sub>1-10</sub>), sulfonamido, imino, sulfonilo, sulfino, alquilo (C<sub>1-10</sub>), haloalquilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilalquilo (C<sub>1-3</sub>), tiocarbonilalquilo (C<sub>1-3</sub>), sulfonilalquilo (C<sub>1-3</sub>), sulfinalalquilo (C<sub>1-3</sub>), azaalquilo (C<sub>1-10</sub>), iminoalquilo (C<sub>1-3</sub>), cicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterocicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), arilalquilo (C<sub>1-10</sub>), heteroarilalquilo (C<sub>1-5</sub>), bicicloaril (C<sub>9-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterobicicloaril (C<sub>8-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), bicicloalquilo (C<sub>9-12</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), arilo (C<sub>4-12</sub>), heteroarilo (C<sub>1-10</sub>), bicicloarilo (C<sub>9-12</sub>) y heterobicicloarilo (C<sub>4-12</sub>), cada uno sustituido o no sustituido, o R<sub>25</sub> y R<sub>26</sub> se toman juntos para formar un anillo sustituido o no sustituido.

40 En una variación adicional de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, al menos un R<sub>17</sub> comprende -C(O)OR<sub>27</sub>, en el que R<sub>27</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo (C<sub>1-10</sub>), ariloxilo (C<sub>4-12</sub>), heteroariloxilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilo, oxicarbonilo, amido, amino, alquilamino (C<sub>1-10</sub>), sulfonamido, imino, sulfonilo, sulfino, alquilo (C<sub>1-10</sub>), haloalquilo (C<sub>1-10</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), tiocarbonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), sulfonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), sulfinalalquilo (C<sub>1-10</sub>), azaalquilo (C<sub>1-10</sub>), iminoalquilo (C<sub>1-10</sub>), cicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterocicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-10</sub>), arilalquilo (C<sub>1-10</sub>), heteroaril (C<sub>1-10</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), bicicloaril (C<sub>9-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterobicicloaril (C<sub>8-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), bicicloalquilo (C<sub>9-12</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), arilo (C<sub>4-12</sub>), heteroarilo (C<sub>1-10</sub>), bicicloarilo (C<sub>9-12</sub>) y heterobicicloarilo (C<sub>4-12</sub>), cada uno sustituido o no sustituido.

En todavía una variación adicional de cada una de las realizaciones y variaciones anteriores, m es 2.

50 Se indica que los compuestos de la presente invención pueden estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, éster biohidrolizable, amida biohidrolizable, carbamato biohidrolizable, solvato o hidrato del mismo.

Se indica además que el compuesto puede estar presente en una mezcla de estereoisómeros, o el compuesto puede comprender un único estereoisómero.

55 La presente invención también se refiere a un compuesto según una cualquiera de las realizaciones y variaciones anteriores para su uso como medicamento.

60 La presente invención también se refiere a un compuesto según una cualquiera de las realizaciones y variaciones anteriores para su uso en el tratamiento de trastornos hiperproliferativos; cáncer; enfermedades inflamatorias; enfermedades autoinmunitarias; mucositis y alopecia inducida por agentes quimioterápicos; enfermedades cardiovasculares; enfermedades infecciosas virales, bacterianas, fúngicas y/o parasitarias; enfermedades nefrológicas; enfermedades neurodegenerativas crónicas y agudas; enfermedades de la piel; enfermedades óseas; y la protección de células en proliferación.

65 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende como principio activo un compuesto según una cualquiera de las realizaciones y variaciones anteriores. En una variación particular, la

composición es una formulación sólida adaptada para administración oral. En otra variación particular, la composición es una formulación líquida adaptada para administración oral. En aún otra variación particular, la composición es un comprimido. En todavía otra variación particular, la composición es una formulación líquida adaptada para administración parenteral.

5 En otro de sus aspectos, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las realizaciones y variaciones anteriores, en la que la composición está adaptada para su administración por una vía seleccionada del grupo que consiste en por vía oral, por vía parenteral, por vía intraperitoneal, por vía intravenosa, por vía intraarterial, por vía transdérmica, por vía sublingual, por vía intramuscular, por vía rectal, por vía transbucal, por vía intranasal, por vía liposomal, mediante inhalación, por vía vaginal, por vía intraocular, mediante administración local (por ejemplo mediante catéter o endoprótesis), por vía por vía subcutánea, por vía intraadiposa, por vía intraarticular y por vía intratecal.

15 En aún otro de sus aspectos, se proporciona un kit que comprende un compuesto de una cualquiera de las realizaciones y variaciones anteriores; e instrucciones que comprenden una o más formas de información seleccionadas del grupo que consiste en la indicación de un estado patológico para el que va a administrarse la composición, información de almacenamiento para la composición, información de dosificación e instrucciones referentes a cómo administrar la composición. En una variación particular, el kit comprende el compuesto en una forma de dosis múltiple.

20 En todavía otro de sus aspectos, se proporciona un artículo de fabricación que comprende un compuesto de una cualquiera de las realizaciones y variaciones anteriores; y materiales de envasado. En una variación, el material de envasado comprende un recipiente para alojar el compuesto. En una variación particular, el recipiente comprende una etiqueta que indica uno o más miembros del grupo que consiste en un estado patológico para el que va a administrarse el compuesto, información de almacenamiento, información de dosificación y/o instrucciones referentes a cómo administrar el compuesto. En otra variación, el artículo de fabricación comprende el compuesto en una forma de dosis múltiple.

30 En una variación de cada uno de los métodos anteriores el estado patológico tratado usando los compuestos de la presente invención se selecciona del grupo que consiste en trastornos hiperproliferativos; cáncer (por ejemplo, tumores sólidos, leucemias, linfomas, cánceres de pulmón de células no pequeñas y carcinomas esofágicos); enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias (por ejemplo, psoriasis, alopecia; esclerosis múltiple; colitis, artritis, enfermedad de Alzheimer, glomerulonefritis y cicatrización de heridas); mucositis y alopecia inducida por agentes quimioterápicos; enfermedades cardiovasculares (por ejemplo, estenosis, arteriosclerosis, reestenosis e hipertrofia); enfermedades infecciosas virales, bacterianas, fúngicas y/o parasitarias (por ejemplo, infecciones citomegálicas, herpes, hepatitis B y C, sarcoma de Kaposi, enfermedades de VIH); enfermedades nefrológicas (por ejemplo, glomerulonefritis); enfermedades neurodegenerativas crónicas y agudas (por ejemplo, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Parkinson, demencia por SIDA, enfermedad de Alzheimer, isquemias del cerebro y neurotraumatismos); enfermedades de la piel (por ejemplo, psoriasis); enfermedades óseas; la protección de células en proliferación (por ejemplo, células del cabello, intestinales, sanguíneas y progenitoras) frente al daño al ADN provocado por radiación, tratamiento UV y/o tratamiento citostático

#### Sales e hidratos de inhibidores de cinasa

45 Debe reconocerse que los compuestos de la presente invención pueden presentarse y administrarse opcionalmente en forma de sales e hidratos que se convierten *in vivo* en los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, queda dentro del alcance de la presente invención convertir los compuestos de la presente invención en, y usarlos en forma de, sus sales farmacéuticamente aceptables derivadas de diversos ácidos y bases orgánicos e inorgánicos según procedimientos bien conocidos en la técnica.

50 Cuando los compuestos de la presente invención presentan una forma de base libre, los compuestos pueden prepararse como una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido orgánico o inorgánico farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, halohidratos tales como clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato; otros ácidos minerales y sus correspondientes sales tales como sulfato, nitrato, fosfato, etc.; y alquil y monoarilsulfonatos tales como etanosulfonato, toluenosulfonato y bencenosulfonato; y otros ácidos orgánicos y sus correspondientes sales tales como acetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato y ascorbato. Las sales de adición de ácido adicionales de la presente invención incluyen, pero no se limitan a: adipato, alginato, arginato, aspartato, bisulfato, bisulfito, bromuro, butirato, canforato, canforsulfonato, caprilato, cloruro, clorobenzoato, ciclopentanopropionato, digluconato, dihidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, fumarato, galacterato (de ácido mícico), galacturonato, glucoheptonato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, hemisuccinato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hipurato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, yoduro, isetionato, iso-butilato, lactato, lactobionato, malato, malonato, mandelato, metafosfato, metanosulfonato, metilbenzoato, monohidrogenofosfato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, oleato, pamoato, pectinato, persulfato, fenilacetato, 3-fenilpropionato, fosfato, fosfonato y ftalato. Debe reconocerse que las formas de base libre se diferenciarán normalmente en cierta medida de sus formas de sal respectivas en cuanto a propiedades físicas tales como solubilidad en disolventes

polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a sus formas de base libre respectivas para los fines de la presente invención.

5 Cuando los compuestos de la presente invención presentan una forma de ácido libre, puede prepararse una sal de  
 10 adición de base farmacéuticamente aceptable haciendo reaccionar la forma de ácido libre del compuesto con una  
 base orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de tales bases son hidróxidos de metales  
 alcalinos incluyendo hidróxidos de potasio, sodio y litio; hidróxidos de metales alcalinotérreos tales como hidróxidos  
 de bario y calcio; alcóxidos de metales alcalinos, por ejemplo, etanolato de potasio y propanolato de sodio; y  
 15 diversas bases orgánicas tales como hidróxido de amonio, piperidina, dietanolamina y N-metilglutamina. También se  
 incluyen las sales de aluminio de los compuestos de la presente invención. Las sales de bases adicionales de la  
 presente invención incluyen, pero no se limitan a: sales de cobre, férricas, ferrosas, de litio, magnesio, mangánicas,  
 manganosas, de potasio, sodio y zinc. Las sales de bases orgánicas incluyen, pero no se limitan a, sales de aminas  
 primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas que se producen de manera  
 20 natural, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, por ejemplo, arginina, betaína, cafeína,  
 cloroprocaína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina (benzatina), dicitclohexilamina, dietanolamina, 2-dietilaminoetanol, 2-  
 dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina,  
 hidrabamina, iso-propilamina, lidocaína, lisina, meglumina, N-metil-D-glucamina, morfolina, piperazina, piperidina,  
 resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietanolamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina y tris-  
 (hidroximetil)-metilamina (trometamina). Debe reconocerse que las formas de ácido libre diferirán normalmente en  
 25 cierta medida de sus formas de sal respectivas en cuanto a propiedades físicas tales como solubilidad en  
 disolventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a sus formas de ácido libre respectivas para los  
 fines de la presente invención.

30 Pueden prepararse N-óxidos de los compuestos según la presente invención mediante métodos conocidos por los  
 expertos habituales en la técnica. Por ejemplo, pueden prepararse N-óxidos mediante tratamiento de una forma no  
 oxidada del compuesto con un agente oxidante (por ejemplo, ácido trifluoroperacético, ácido permaleico, ácido  
 perbenzoico, ácido peracético, ácido meta-cloroperóxibenzoico, o similares) en un disolvente orgánico inerte  
 adecuado (por ejemplo, un hidrocarburo halogenado tal como diclorometano) a aproximadamente 0°C.  
 35 Alternativamente, los N-óxidos de los compuestos pueden prepararse a partir del N-óxido de un material de partida  
 apropiado.

También pueden prepararse derivados protegidos de los compuestos de la presente invención. Pueden encontrarse  
 40 ejemplos de técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación en T.W. Greene, Protecting  
 Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, John Wiley & Sons, Inc. 1999.

Los compuestos de la presente invención también pueden prepararse convenientemente, o formarse durante el  
 45 procedimiento de la invención, como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente  
 invención pueden prepararse convenientemente mediante recristalización en una mezcla de disolventes  
 acuoso/orgánico, usando disolventes orgánicos tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.

50 Se pretende que una "sal farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, abarque  
 cualquier compuesto según la presente invención que se utiliza en forma de una sal del mismo, especialmente  
 cuando la sal confiere al compuesto propiedades farmacocinética mejoradas en comparación con la forma libre del  
 compuesto o una forma de sal diferente del compuesto. La forma de sal farmacéuticamente aceptable también  
 55 puede conferir inicialmente propiedades farmacocinéticas deseables al compuesto que no presentaba anteriormente,  
 e incluso puede afectar positivamente a la farmacodinamia del compuesto con respecto a su actividad terapéutica en  
 el cuerpo. Un ejemplo de una propiedad farmacocinética que puede verse afectada favorablemente es la manera en  
 la que se transporta el compuesto a través de membranas celulares, lo que a su vez puede afectar directa y  
 positivamente a la absorción, distribución, biotransformación y excreción del compuesto. Aunque la vía de  
 administración de la composición farmacéutica es importante, y diversos factores anatómicos, fisiológicos y  
 60 patológicos pueden afectar de manera crítica a la biodisponibilidad, la solubilidad del compuesto depende  
 habitualmente del carácter de la forma de sal particular del mismo que se utiliza. Un experto en la técnica apreciará  
 que una disolución acuosa del compuesto proporcionará la absorción más rápida del compuesto en el cuerpo de un  
 sujeto que está tratándose, mientras que disoluciones y suspensiones lipídicas, así como formas de dosificación  
 65 sólidas, darán como resultado una absorción menos rápida del compuesto.

#### Composiciones que comprenden inhibidores de cinasa

60 Puede usarse una amplia variedad de composiciones y métodos de administración junto con los compuestos de la  
 presente invención. Tales composiciones pueden incluir, además de los compuestos de la presente invención,  
 excipientes farmacéuticos convencionales, y otros agentes farmacéuticamente inactivos convencionales.  
 Adicionalmente, las composiciones pueden incluir agentes activos además de los compuestos de la presente  
 invención. Estos agentes activos adicionales pueden incluir compuestos adicionales según la invención adicionales  
 y/o uno o más de otros agentes farmacéuticamente activos.

65 Las composiciones pueden estar en forma gaseosa, líquida, semilíquida o sólida, formuladas de una manera

adecuada para la vía de administración que va a usarse. Para la administración oral, normalmente se usan cápsulas y comprimidos. Para la administración parenteral, normalmente se usa la reconstitución de un polvo liofilizado, preparado tal como se describe en el presente documento.

- 5 Las composiciones que comprenden compuestos de la presente invención pueden administrarse o coadministrarse por vía oral, por vía parenteral, por vía intraperitoneal, por vía intravenosa, por vía intraarterial, por vía transdérmica, por vía sublingual, por vía intramuscular, por vía rectal, por vía transbucal, por vía intranasal, por vía liposomal, mediante inhalación, por vía vaginal, por vía intraocular, mediante administración local (por ejemplo mediante catéter o endoprótesis), por vía subcutánea, por vía intraadiposa, por vía intraarticular o por vía intratecal. Los compuestos  
10 y/o las composiciones según la invención también pueden administrarse o coadministrarse en formas de dosificación de liberación lenta.

- Los inhibidores de cinasa y las composiciones que los comprenden pueden administrarse o coadministrarse en cualquier forma de dosificación convencional. Se pretende que la coadministración en el contexto de esta invención signifique la administración de más de un agente terapéutico, uno de los cuales incluye un inhibidor de cinasa, en el  
15 transcurso de un tratamiento coordinado para alcanzar un desenlace clínico mejorado. Tal coadministración también puede ser coextensa, es decir, que se produce durante periodos de tiempo solapantes.

- Las disoluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica, subcutánea o tópica pueden incluir opcionalmente uno o más de los siguientes componentes: un diluyente estéril, tal como agua para inyección, solución salina, aceite fijo, polietilenglicol, glicerina, propilenglicol u otro disolvente sintético; agentes antimicrobianos, tales como alcohol bencílico y metilparabenos; antioxidantes, tales como ácido ascórbico y bisulfito de sodio; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminatetraacético (EDTA); tampones, tales como acetatos, citratos y fosfatos; agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa, y agentes para  
20 ajustar la acidez o alcalinidad de la composición, tales como agentes alcalinos o acidificantes o tampones como carbonatos, bicarbonatos, fosfatos, ácido clorhídrico, y ácidos orgánicos tales como ácido acético y cítrico. Las preparaciones parenterales pueden encerrarse opcionalmente en ampollas, jeringas desechables o viales de una única o de múltiples dosis fabricados de vidrio, plástico u otro material adecuado.

- 30 Cuando los compuestos según la presente invención muestran solubilidad insuficiente, pueden usarse métodos para solubilizar los compuestos. Tales métodos los conocen los expertos en esta técnica, e incluyen, pero no se limitan a, usar codisolventes, tales como dimetilsulfóxido (DMSO), usar tensioactivos, tales como TWEEN, o disolución en bicarbonato de sodio acuoso.

- 35 Tras mezclar o añadir compuestos según la presente invención a una composición, puede formarse una disolución, suspensión, emulsión o similar. La forma de la composición resultante dependerá de varios factores, incluyendo el modo de administración previsto y la solubilidad del compuesto en el portador o vehículo seleccionado. La concentración eficaz necesaria para mejorar la enfermedad que está tratándose puede determinarse empíricamente.

- 40 Las composiciones según la presente invención se proporcionan opcionalmente para la administración a seres humanos y animales en formas de dosificación unitarias, tales como comprimidos, cápsulas, pastillas, polvos, polvos secos para inhaladores, gránulos, disoluciones o suspensiones parenterales estériles, y disoluciones o suspensiones orales, y emulsiones de aceite-agua que contienen cantidades adecuadas de los compuestos, particularmente las sales farmacéuticamente aceptables, preferiblemente las sales de sodio, de los mismos. Los compuestos  
45 farmacéutica y terapéuticamente activos y derivados de los mismos se formulan normalmente y se administran en formas de dosificación unitaria o formas de dosificación múltiple. Las formas de dosis unitaria, tal como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas para sujetos humanos y animales y envasadas individualmente tal como se conoce en la técnica. Cada dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada del compuesto terapéuticamente activo suficiente para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el portador, vehículo o diluyente farmacéutico requerido. Los ejemplos de formas de dosis unitaria incluyen ampollas y jeringas, comprimidos o cápsulas envasados individualmente. Las formas de dosis unitaria pueden administrarse en fracciones o múltiplos de las mismas. Una forma de dosis múltiple es una pluralidad de formas de dosificación unitaria idénticas envasadas en un único recipiente para administrarse en forma de dosis unitaria separada. Los ejemplos de formas de dosis múltiple incluyen viales, frascos de comprimidos o cápsulas o  
50 frascos de pintas o galones. Por tanto, la forma de dosis múltiple es un múltiplo de dosis unitarias que no se separan en el envasado.

- Además de uno o más compuestos según la presente invención, la composición puede comprender: un diluyente tal como lactosa, sacarosa, fosfato de dicalcio o carboximetilcelulosa; un lubricante, tal como estearato de magnesio, estearato de calcio y talco; y un aglutinante tal como almidón, gomas naturales, tales como goma arábica-gelatina, glucosa, melaza, polivinilpirrolidina, celulosas y derivados de la misma, povidona, crospovidonas y otros aglutinantes de este tipo conocidos por los expertos en la técnica. Las composiciones administrables farmacéuticamente líquidas pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo, dispersando o mezclando de otro modo un compuesto activo tal como se definió anteriormente y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un portador, tal como, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, glicoles, etanol y similares, para formar una disolución o suspensión. Si se desea, la composición farmacéutica que va a administrarse también puede contener cantidades minoritarias de  
65

5 sustancias auxiliares tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes o agentes solubilizantes, agentes de tamponamiento del pH y similares, por ejemplo, acetato, citrato de sodio, derivados de ciclodextrina, monolaurato de sorbitano, acetato sódico de trietanolamina, oleato de trietanolamina y otros agentes de este tipo. Los métodos reales de preparación de tales formas de dosificación se conocen en la técnica o resultarán evidentes para los expertos en esta técnica; véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Marck Publishing Company, Easton, Pa., 15ª edición, 1975. En cualquier caso, la composición o formulación que va a administrarse contendrá una cantidad suficiente de un inhibidor de la presente invención para reducir la actividad cinasa *in vivo*, tratando así el estado patológico del sujeto.

10 Las formas de dosificación o composiciones pueden comprender opcionalmente uno o más compuestos según la presente invención en el intervalo del 0,005% al 100% (peso/peso) comprendiendo el resto sustancias adicionales tales como las descritas en el presente documento. Para la administración oral, una composición farmacéuticamente aceptable puede comprender opcionalmente uno cualquiera o más de los excipientes comúnmente empleados, tales como, por ejemplo calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, derivados de celulosa, croscarmelosa sódica, glucosa, sacarosa, carbonato de magnesio, sacarina sódica, talco. Tales  
15 composiciones incluyen disoluciones, suspensiones, comprimidos, cápsulas, polvos, polvos secos para inhaladores y formulaciones de liberación sostenida, tales como, pero sin limitarse a, implantes y sistemas de administración microencapsulados, y polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como colágeno, etileno-acetato de vinilo, polianhídridos, poli(ácido glicólico), poliortoésteres, poli(ácido láctico) y otros. Los expertos en la técnica conocen  
20 métodos para preparar estas formulaciones. Las composiciones pueden contener opcionalmente el 0,01%-100% (peso/peso) de uno o más inhibidores de cinasa, opcionalmente el 0,1-95% y opcionalmente el 1-95%.

Pueden prepararse sales, preferiblemente sales de sodio, de los inhibidores con portadores que protegen el compuesto frente a una eliminación rápida del cuerpo, tales como recubrimientos o formulaciones de liberación en el  
25 tiempo. Las formulaciones pueden incluir además otros compuestos activos para obtener combinaciones deseadas de propiedades.

#### Formulaciones para la administración oral

30 Las formas de dosificación farmacéuticas orales pueden ser un sólido, gel o líquido. Los ejemplos de formas de dosificación sólidas incluyen, pero no se limitan a comprimidos, cápsulas, gránulos y polvos a granel. Los ejemplos más específicos de comprimidos orales incluyen comprimidos y pastillas masticables sometidos a compresión que pueden tener un recubrimiento entérico, recubrimiento de azúcar o recubrimiento de película. Los ejemplos de  
35 cápsulas incluyen cápsulas de gelatina dura o blanda. Los gránulos y polvos pueden proporcionarse en formas no efervescentes o efervescentes. Cada uno puede combinarse con otros componentes conocidos por los expertos en la técnica.

En determinadas realizaciones, se proporcionan compuestos según la presente invención como formas de dosificación sólidas, preferiblemente cápsulas o comprimidos. Los comprimidos, pastillas, cápsulas, trociscos y  
40 similares pueden contener opcionalmente uno o más de los siguientes componentes, o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante; un diluyente; un agente disgregante; un lubricante; un deslizante; un agente edulcorante; y un agente aromatizante.

Los ejemplos de aglutinantes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, celulosa microcristalina, goma tragacanto, disolución de glucosa, mucílago de goma arábiga, disolución de gelatina, sacarosa y pasta de almidón.  
45

Los ejemplos de lubricantes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, talco, almidón, estearato de magnesio o calcio, licopodio y ácido esteárico.

50 Los ejemplos de diluyentes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, lactosa, sacarosa, almidón, caolín, sal, manitol y fosfato de dicalcio.

Los ejemplos de deslizantes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, dióxido de silicio coloidal.

55 Los ejemplos de agentes disgregantes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, croscarmelosa sódica, glicolato sódico de almidón, ácido algínico, almidón de maíz, almidón de patata, bentonita, metilcelulosa, agar y carboximetilcelulosa.

Los ejemplos de agentes colorantes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los tintes FD y C solubles en agua, certificados, aprobados, mezclas de los mismos; y tintes FD y C insolubles en agua suspendidos en hidrato de alúmina.  
60

Los ejemplos de agentes edulcorantes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, sacarosa, lactosa, manitol y agentes edulcorantes artificiales tales como ciclamato de sodio y sacarina, y cualquiera de varios aromas secados por pulverización.  
65

Los ejemplos de agentes aromatizantes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, aromas naturales extraídos de plantas tales como frutos y combinaciones sintéticas de compuestos que producen una sensación agradable, tales como, pero sin limitarse a menta y salicilato de metilo.

- 5 Los ejemplos de agentes humectantes que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, monoestearato de propilenglicol, monooleato de sorbitano, monolaurato de dietilenglicol y lauril éter de polioxietileno.

Los ejemplos de recubrimientos antieméticos que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, ácidos grasos, grasas, ceras, laca, laca amoniacada y acetato-ftalatos de celulosa.

- 10 Los ejemplos de recubrimientos de película que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, polietilenglicol 4000 y acetato-ftalato de celulosa.

- 15 Si se desea la administración oral, la sal del compuesto puede proporcionarse opcionalmente en una composición que la protege del entorno ácido del estómago. Por ejemplo, la composición puede formularse en un recubrimiento entérico que mantiene su integridad en el estómago y libera el compuesto activo en el intestino. La composición también puede formularse en combinación con un antiácido u otro componente de este tipo.

- 20 Cuando la forma de unidad de dosificación es una cápsula, puede comprender opcionalmente de manera adicional un portador líquido tal como un aceite graso. Además, las formas unitarias de dosificación pueden comprender opcionalmente de manera adicional otros diversos materiales que modifican la forma física de la unidad de dosificación, por ejemplo, recubrimientos de azúcar y otros agentes entéricos.

- 25 También pueden administrarse compuestos según la presente invención como componente de un elixir, suspensión, jarabe, oblea, pulverizaciones, goma masticable o similares. Un jarabe puede comprender opcionalmente, además de los compuestos activos, sacarosa como agente edulcorante y determinados conservantes, tintes y colorantes y aromas.

- 30 Los compuestos de la presente invención también pueden mezclarse con otros materiales activos que no alteran la acción deseada, o con materiales que complementan la acción deseada, tales como antiácidos, bloquenates de H<sub>2</sub> y diuréticos. Por ejemplo, si un compuesto se usa para tratar asma o hipertensión, puede usarse con otros bronquodilatadores y agentes antihipertensores, respectivamente.

- 35 Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables que pueden incluirse en comprimidos que comprenden los compuestos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, aglutinantes, lubricantes, diluyentes, agentes disgregantes, agentes colorantes, agentes aromatizantes y agentes humectantes. Los comprimidos con recubrimiento entérico, debido al recubrimiento entérico, resisten la acción de los ácidos del estómago y se disuelven o disgregan en los intestinos neutros o alcalinos. Los comprimidos con recubrimiento de azúcar pueden ser comprimidos sometidos a compresión en los que se aplican diferentes capas de sustancias farmacéuticamente aceptables. Los comprimidos con recubrimiento de película pueden ser comprimidos sometidos a compresión que se han recubierto con polímeros u otro recubrimiento adecuado. Los comprimidos sometidos a compresión múltiple pueden ser comprimidos sometidos a compresión preparados mediante más de un ciclo de compresión utilizando las sustancias farmacéuticamente aceptables anteriormente mencionadas. También pueden usarse agentes colorantes en los comprimidos. Pueden usarse agentes aromatizantes y edulcorantes en los comprimidos, y son especialmente  
45 útiles en la formación de comprimidos masticables y pastillas para chupar.

- 50 Los ejemplos de formas de dosificación orales líquidas que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, disoluciones acuosas, emulsiones, suspensiones, disoluciones y/o suspensiones reconstituidas a partir de gránulos no efervescentes y preparaciones efervescentes reconstituidas a partir de gránulos efervescentes.

- 55 Los ejemplos de disoluciones acuosas que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, elixires y jarabes. Tal como se usa en el presente documento, elixires se refiere a preparaciones hidroalcohólicas, edulcoradas, transparentes. Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en elixires incluyen, pero no se limitan a, disolventes. Los ejemplos particulares de disolventes que pueden usarse incluyen glicerina, sorbitol, alcohol etílico y jarabe. Tal como se usa en el presente documento, jarabes se refiere a disoluciones acuosas concentradas de un azúcar, por ejemplo, sacarosa. Los jarabes pueden comprender además opcionalmente un conservante.

- 60 Las emulsiones se refieren a sistemas de dos fases en los que un líquido se dispersa en forma de pequeños glóbulos por todo el otro líquido. Las emulsiones pueden ser opcionalmente emulsiones de aceite en agua o de agua en aceite. Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en las emulsiones incluyen, pero no se limitan a, líquidos no acuosos, agentes emulsionantes y conservantes.

- 65 Los ejemplos de sustancias farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en gránulos no efervescentes, que van a reconstituirse para dar una forma de dosificación oral líquida, incluyen diluyentes, edulcorantes y agentes humectantes.

Los ejemplos de sustancias farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en gránulos efervescentes, que van a reconstituirse en una forma de dosificación oral líquida, incluyen ácidos orgánicos y una fuente de dióxido de carbono.

5 Opcionalmente pueden usarse agentes colorantes y aromatizantes en todas las formas de dosificación anteriores.

Los ejemplos particulares de conservantes que pueden usarse incluyen glicerina, metil y propilparabeno, ácido benzoico, benzoato de sodio y alcohol.

10 Los ejemplos particulares de líquidos no acuosos que pueden usarse en las emulsiones incluyen aceite mineral y aceite de semilla de algodón.

15 Los ejemplos particulares de agentes emulsionantes que pueden usarse incluyen gelatina, goma arábica, goma tragacanto, bentonita y tensioactivos tales como monooleato de polioxietilensorbitano.

20 Los ejemplos particulares de agentes de suspensión que pueden usarse incluyen carboximetilcelulosa sódica, pectina, goma tragacanto, Veegum y goma arábica. Los diluyentes incluyen lactosa y sacarosa. Los agentes edulcorantes incluyen sacarosa, jarabes, glicerina y agentes edulcorantes artificiales tales como ciclamato de sodio y sacarina.

Los ejemplos particulares de agentes humectantes que pueden usarse incluyen monoestearato de propilenglicol, monooleato de sorbitano, monolaurato de dietilenglicol y lauril éter de polioxietileno.

25 Los ejemplos particulares de ácidos orgánicos que pueden usarse incluyen ácido cítrico y tartárico.

Las fuentes de dióxido de carbono que pueden usarse en composiciones efervescentes incluyen bicarbonato de sodio y carbonato de sodio. Los agentes colorantes incluyen cualquiera de los tintes FD y C solubles en agua certificados, aprobados, y mezclas de los mismos.

30 Los ejemplos particulares de agentes aromatizantes que pueden usarse incluyen aromas naturales extraídos de plantas tales como frutos y combinaciones sintéticas de compuestos que producen una sensación de sabor agradable.

35 Para una forma de dosificación sólida, la disolución o suspensión, por ejemplo en carbonato de propileno, aceites vegetales o triglicéridos, se encapsula preferiblemente en una cápsula de gelatina. Tales disoluciones, y la preparación y encapsulación de las mismas, se dan a conocer en las patentes estadounidenses n.<sup>os</sup> 4.328.245; 4.409.239; y 4.410.545. Para una forma de dosificación líquida, la disolución, por ejemplo, en un polietilenglicol, puede diluirse con una cantidad suficiente de un portador líquido farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua, que va a medirse fácilmente para su administración.

45 Alternativamente, pueden prepararse formulaciones orales líquidas o semisólidas disolviendo o dispersando el compuesto activo o la sal en aceites vegetales, glicoles, triglicéridos, ésteres de propilenglicol (por ejemplo, carbonato de propileno) y otros portadores de este tipo, y encapsulando estas disoluciones o suspensiones en cubiertas de cápsulas de gelatina dura o blanda. Otras formulaciones útiles incluyen las expuestas en las patentes estadounidenses n.<sup>os</sup> Re 28.819 y 4.358.603.

#### Productos inyectables, disoluciones y emulsiones

50 La presente invención también se refiere a composiciones diseñadas para administrar los compuestos de la presente invención mediante administración parenteral, generalmente caracterizadas por la inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa. Pueden prepararse productos inyectables de cualquier forma convencional, por ejemplo como disoluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para disolución o suspensión en líquido antes de la inyección, o como emulsiones.

55 Los ejemplos de excipientes que pueden usarse junto con productos inyectables según la presente invención incluyen, pero no se limitan a agua, solución salina, dextrosa, glicerol o etanol. Las composiciones inyectables también pueden comprender opcionalmente cantidades minoritarias de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes de tamponamiento del pH, estabilizadores, potenciadores de la solubilidad y otros agentes de este tipo, tales como por ejemplo, acetato de sodio, monolaurato de sorbitano, oleato de trietanolamina y ciclodextrinas. La implantación de un sistema de liberación lenta o liberación sostenida, de tal manera que se mantiene un nivel constante de dosificación (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.<sup>o</sup> 3,710,795) también se contempla en el presente documento. El porcentaje de compuesto activo contenido en tales composiciones parenterales depende altamente de la naturaleza específica del mismo, así como de la actividad del compuesto y las necesidades del sujeto.

65

- La administración parenteral de las formulaciones incluye administraciones intravenosas, subcutáneas e intramusculares. Las preparaciones para administración parenteral incluyen disoluciones estériles listas para inyección, productos solubles secos estériles, tales como los polvos liofilizados descritos en el presente documento, listos para combinarse con un disolvente justo antes de su uso, incluyendo comprimidos hipodérmicos, suspensiones estériles listas para inyección, productos insoluble secos estériles listos para combinarse con un vehículo justo antes de usarse y emulsiones estériles. Las disoluciones pueden ser o bien acuosas o bien no acuosas.
- 5
- Cuando se administran por vía intravenosa, los ejemplos de portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, solución salina fisiológica o solución salina tamponada con fosfato (PBS), y disoluciones que contienen agentes espesantes y solubilizantes, tales como glucosa, polietilenglicol y polipropilenglicol y mezclas de los mismos.
- 10
- Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables que pueden usarse opcionalmente en preparaciones parenterales incluyen, pero no se limitan a, vehículos acuosos, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos, tampones, antioxidantes, anestésicos locales, agentes de suspensión y dispersión, agentes emulsionantes, agentes secuestrantes o quelantes y otras sustancias farmacéuticamente aceptables.
- 15
- Los ejemplos de vehículos acuosos que pueden usarse opcionalmente incluyen inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa isotónica, inyección de agua estéril, dextrosa e inyección de Ringer con lactato.
- 20
- Los ejemplos de vehículos parenterales no acuosos que pueden usarse opcionalmente incluyen aceites fijos de origen vegetal, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de sésamo y aceite de cacahuete.
- 25
- Pueden añadirse agentes antimicrobianos en concentraciones bacteriostáticas o fungistáticas a preparaciones parenterales, particularmente cuando las preparaciones se envasan en recipientes de dosis múltiples y por tanto se diseñan para almacenarse y extraer múltiples alícuotas. Los ejemplos de agentes antimicrobianos que pueden usarse incluyen fenoles o cresoles, compuestos mercuriales, alcohol bencílico, clorobutanol, ésteres metílico y propílico de ácido p-hidroxibenzoico, timerosal, cloruro de benzalconio y cloruro de bencetonio.
- 30
- Los ejemplos de agentes isotónicos que pueden usarse incluyen cloruro de sodio y dextrosa. Los ejemplos de tampones que pueden usarse incluyen fosfato y citrato. Los ejemplos de antioxidantes que pueden usarse incluyen bisulfato de sodio. Los ejemplos de anestésicos locales que pueden usarse incluyen clorhidrato de procaína. Los ejemplos de agentes de suspensión y dispersión que pueden usarse incluyen carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona. Los ejemplos de agentes emulsionantes que pueden usarse incluyen polisorbato 80 (TWEEN 80). Un agente secuestrante o quelante de iones metálicos incluye EDTA.
- 35
- Los portadores farmacéuticos también pueden incluir opcionalmente alcohol etílico, polietilenglicol y propilenglicol para vehículos miscibles con agua e hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, ácido cítrico o ácido láctico para el ajuste del pH.
- 40
- La concentración de un inhibidor en la formulación parenteral puede ajustarse de modo que una inyección administra una cantidad farmacéuticamente eficaz suficiente para producir el efecto farmacológico deseado. La concentración exacta de un inhibidor y/o dosificación que va a usarse dependerá en última instancia de la edad, el peso y el estado del paciente o animal tal como se conoce en la técnica.
- 45
- Las preparaciones parenterales de dosis unitaria pueden envasarse en una ampolla, un vial o una jeringa con una aguja. Todas las preparaciones para la administración parenteral deben ser estériles, tal como se conoce y se pone en práctica en la técnica.
- 50
- Pueden diseñarse productos inyectables para administración local y sistémica. Normalmente, una dosificación terapéuticamente eficaz se formula para contener una concentración de desde al menos aproximadamente el 0,1% p/p hasta aproximadamente el 90% p/p o más, preferiblemente más del 1% p/p del inhibidor de cinasa al/a los tejido(s) tratado(s). El inhibidor puede administrarse de una vez, o puede dividirse en varias dosis más pequeñas que van a administrarse a intervalos de tiempo. Se entiende que la dosificación precisa y la duración de tratamiento serán una función de la ubicación en la que se administra por vía parenteral la composición, el portador y otras variables que pueden determinarse empíricamente usando protocolos de pruebas conocidos o mediante extrapolación a partir de datos de pruebas *in vivo* o *in vitro*. Debe indicarse que las concentraciones y los valores de dosificación también pueden variar con la edad del individuo tratado. Debe entenderse además que para cualquier sujeto particular, puede necesitarse ajustar regímenes de dosificación específicos a lo largo del tiempo según la necesidad del individuo y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las formulaciones. Por tanto, se pretende que los intervalos de concentración expuestos en el presente documento sean a modo de ejemplo y no se pretende que limiten el alcance o la práctica de las formulaciones reivindicadas.
- 60
- El inhibidor de cinasa puede suspenderse opcionalmente en forma micronizada u otra forma adecuada o puede derivatizarse para producir un producto activo más soluble. La forma de la mezcla resultante depende de varios
- 65

factores, incluyendo el modo de administración previsto y la solubilidad del compuesto en el portador o vehículo seleccionado. La concentración eficaz es suficiente para mejorar los síntomas del estado patológico y puede determinarse empíricamente.

#### 5 Polvos liofilizados

Los compuestos de la presente invención también pueden prepararse como polvos liofilizados, que pueden reconstituirse para su administración como disoluciones, emulsiones y otras mezclas. Los polvos liofilizados también pueden formularse como sólidos o geles.

10 Puede prepararse un polvo liofilizado, estéril, disolviendo el compuesto en una disolución de tampón fosfato de sodio que contiene dextrosa u otro excipiente adecuado. La posterior esterilización por filtración de la disolución seguido por liofilización en condiciones convencionales conocidas por los expertos en la técnica proporciona la formulación deseada. En resumen, el polvo liofilizado puede prepararse opcionalmente disolviendo dextrosa, sorbitol, fructosa, jarabe de maíz, xilitol, glicerina, glucosa, sacarosa u otro agente adecuado, aproximadamente al 1-20%, preferiblemente a aproximadamente del 5 al 15%, en un tampón adecuado, tal como citrato, fosfato de sodio o potasio u otro tampón de este tipo conocido por los expertos en la técnica, normalmente, a pH aproximadamente neutro. Entonces, se añade un inhibidor de cinasa a la mezcla resultante, preferiblemente por encima de la temperatura ambiente, más preferiblemente a aproximadamente 30-35°C, y se agita hasta que se disuelve. Se diluye la mezcla resultante añadiendo más tampón hasta una concentración deseada. Se esteriliza por filtración la mezcla resultante o se trata para eliminar materiales particulados y garantizar la esterilidad, y se distribuye en viales para liofilización. Cada vial puede contener una única dosificación o múltiples dosificaciones del inhibidor.

#### 25 Administración tópica

Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse como mezclas tópicas. Pueden usarse mezclas tópicas para administración local y sistémica. La mezcla resultante puede ser una disolución, suspensión, emulsión o similar y se formula como cremas, geles, pomadas, emulsiones, disoluciones, elixires, lociones, suspensiones, tinturas, pastas, espumas, aerosoles, irrigaciones, pulverizaciones, supositorios, vendajes, parches dérmicos o cualquier otra formulación adecuada para administración tópica.

35 Los inhibidores de cinasa pueden formularse como aerosoles para aplicación tópica, tal como mediante inhalación (véanse las patentes estadounidenses n.ºs 4.044.126, 4.414.209 y 4.364.923, que describen aerosoles para la administración de un esteroide útil para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, particularmente asma). Estas formulaciones para administración a las vías respiratorias pueden estar en forma de un aerosol o una disolución para un nebulizador, o como un polvo microfino para insuflación, solas o en combinación con un portador inerte tal como lactosa. En tal caso, las partículas de la formulación tendrán normalmente diámetros inferiores a 50 micrómetros, preferiblemente inferiores a 10 micrómetros.

40 Los inhibidores también pueden formularse para aplicación local o tópica, tal como para aplicación tópica a la piel y membranas mucosas, tal como en el ojo, en forma de geles, cremas y lociones y para aplicación al ojo o para aplicación intracisternal o intraespinal. Se contempla la administración tópica para la administración transdérmica y también para la administración a los ojos o mucosa, o para terapias por inhalación. También pueden administrarse disoluciones nasales del inhibidor de cinasa solo o en combinación con otros excipientes farmacéuticamente aceptables.

#### 45 Formulaciones para otras vías de administración

50 Dependiendo del estado patológico que está tratándose, también pueden usarse otras vías de administración, tales como aplicación tópica, parches transdérmicos y administración rectal. Por ejemplo, formas de dosificación farmacéuticas para administración rectal son supositorios, cápsulas y comprimidos rectales para lograr un efecto sistémico. Los supositorios rectales que se usan en el presente documento significan cuerpos sólidos para su inserción en el recto que se funden o ablandan a temperatura corporal liberando uno o más principios farmacológica o terapéuticamente activos. Las sustancias farmacéuticamente aceptables usadas en supositorios rectales son bases o vehículos y agentes para elevar el punto de fusión. Los ejemplos de bases incluyen manteca de cacao (aceite de teobroma), glicerina-gelatina, Carbowax (polioxietilenglicol) y mezclas apropiadas de mono, di y triglicéridos de ácidos grasos. Pueden usarse combinaciones de las diversas bases. Los agentes para elevar el punto de fusión de supositorios incluyen espermaceti y cera. Pueden prepararse supositorios rectales o bien mediante el método de compresión o bien mediante moldeo. El peso típico de un supositorio rectal es de aproximadamente 2 a 3 g. Los comprimidos y las cápsulas para administración rectal pueden fabricarse usando la misma sustancia farmacéuticamente aceptable y mediante los mismos métodos que para las formulaciones para administración oral.

#### 65 Ejemplos de formulaciones

Los siguientes son ejemplos particulares de formulaciones orales, intravenosas y de comprimidos que pueden

usarse opcionalmente con los compuestos de la presente invención. Se indica que estas formulaciones pueden variarse dependiendo del compuesto particular que está usándose y la indicación para la que va a usarse la formulación.

5 FORMULACIÓN ORAL

Compuesto de la presente invención	10-100 mg
Ácido cítrico monohidratado	105 mg
Hidróxido de sodio	18 mg
Aromatizante	
Agua	c.s. para 100 ml

FORMULACIÓN INTRAVENOSA

Compuesto de la presente invención	0,1-10 mg
Dextrosa monohidratada	c.s. para hacerla isotónica
Ácido cítrico monohidratado	1,05 mg
Hidróxido de sodio	0,18 mg
Agua para inyección	c.s. para 1,0 ml

FORMULACIÓN DE COMPRIMIDO

Compuesto de la presente invención	1%
Celulosa microcristalina	73%
Ácido esteárico	25%
Sílice coloidal	1%

10

Kits que comprenden inhibidores de cinasa

15

La invención también se refiere a kits y otros artículos de fabricación para tratar enfermedades asociadas con cinasas. Se indica que se pretende que las enfermedades cubran todos los estados para los que la cinasa presenta actividad que contribuye a la patología y/o sintomatología del estado.

20

En una realización, se proporciona un kit que comprende una composición que comprende al menos un inhibidor de la presente invención en combinación con instrucciones. Las instrucciones pueden indicar el estado patológico para el que va a administrarse la composición, información de almacenamiento, información de dosificación y/o instrucciones referentes a cómo administrar la composición. El kit también puede comprender materiales de envasado. El material de envasado puede comprender un recipiente para alojar la composición. El kit también puede comprender opcionalmente componentes adicionales, tales como jeringas para la administración de la composición. El kit puede comprender la composición en formas de dosis individuales o múltiples.

25

En otra realización, se proporciona un artículo de fabricación que comprende una composición que comprende al menos un inhibidor de la presente invención en combinación con materiales de envasado. El material de envasado puede comprender un recipiente para alojar la composición. El recipiente puede comprender opcionalmente una etiqueta que indica el estado patológico para el que va a administrarse la composición, información de almacenamiento, información de dosificación y/o instrucciones referentes a cómo administrar la composición. El kit también puede comprender opcionalmente componentes adicionales, tales como jeringas para la administración de la composición. El kit puede comprender la composición en formas de dosis individuales o múltiples.

30

35

Se indica que el material de envasado usado en kits y artículos de fabricación según la presente invención puede formar una pluralidad de recipientes divididos tales como un frasco dividido o un envase de lámina dividido. El recipiente puede tener cualquier forma o conformación convencional tal como se conoce en la técnica que se fabrica a partir de un material farmacéuticamente aceptable, por ejemplo una caja de papel o cartón, un frasco o jarra de vidrio o plástico, una bolsa que puede volver a sellarse (por ejemplo, para contener una "recarga" de comprimidos para su colocación en un recipiente diferente) o un envase de tipo blíster con dosis individuales para sacarlas del envase mediante presión según un calendario terapéutico. El recipiente que se emplea dependerá de la forma de dosificación exacta implicada, por ejemplo, generalmente no se usará una caja de cartón convencional para contener una suspensión líquida. Resulta viable usar más de un recipiente juntos en un único envase para comercializar una única forma de dosificación. Por ejemplo, pueden contenerse comprimidos en un frasco que a su vez se contiene dentro de una caja. Normalmente el kit incluye instrucciones para la administración de los componentes separados. La forma del kit es particularmente ventajosa cuando los componentes separados se

40

administran preferiblemente en formas de dosificación diferentes (por ejemplo, orales, tópicas, transdérmicas y parenterales), se administran a intervalos de dosificación diferentes o cuando el médico encargado desea el ajuste de la dosis de los componentes individuales de la combinación.

- 5 Un ejemplo particular de un kit según la presente invención es un denominado envase de tipo blíster. Los envases de tipo blíster se conocen bien en la industria del envasado y se usan ampliamente para el envasado de formas de dosificación unitarias farmacéuticas (comprimidos, cápsulas y similares). Los envases de tipo blíster consisten generalmente en una hoja de material relativamente rígido cubierta con una lámina de un material de plástico preferiblemente transparente. Durante el procedimiento de envasado se forman cavidades en la lámina de plástico.
- 10 Las cavidades tienen el tamaño y la forma de comprimidos o cápsulas individuales que van a envasarse o pueden tener el tamaño y la forma para alojar múltiples comprimidos y/o cápsulas que van a envasarse. A continuación, se colocan los comprimidos o las cápsulas en las cavidades de manera correspondiente y se sella la hoja de material relativamente rígido contra la lámina de plástico en la cara de la lámina opuesta al sentido en el que se formaron las cavidades. Como resultado, los comprimidos o las cápsulas se sellan individualmente o se sellan colectivamente.
- 15 según se desee, en las cavidades entre la lámina de plástico y la hoja. Preferiblemente la resistencia de la hoja es tal que los comprimidos o las cápsulas pueden extraerse del envase de tipo blíster aplicando manualmente presión sobre las cavidades mediante lo cual se forma una abertura en la hoja en el lugar de la cavidad. Entonces puede extraerse el comprimido o la cápsula a través de dicha abertura.
- 20 Otra realización específica de un kit es un dispensador diseñado para dispensar las dosis diarias de una en una en el orden de su uso previsto. Preferiblemente, el dispensador está equipado con un recordatorio para facilitar adicionalmente el cumplimiento con el régimen. Un ejemplo de recordatorio de este tipo es un contador mecánico que indica el número de dosis diarias que se han dispensado. Otro ejemplo de un recordatorio de este tipo es una memoria de microchip alimentada por batería acoplada con una pantalla de cristal líquido, o una señal de recuerdo audible, que, por ejemplo, presenta la fecha de la última dosis diaria que se ha tomado y/o recuerda cuándo debe tomarse la siguiente dosis.
- 25

#### Dosificación, huésped y seguridad

- 30 Los compuestos de la presente invención son estables y pueden usarse de manera segura. En particular, los compuestos de la presente invención son útiles como inhibidores de PLK para una variedad de sujetos (por ejemplo, seres humanos, mamíferos no humanos y animales no mamíferos). La dosis óptima puede variar dependiendo de condiciones tales como, por ejemplo, el tipo de sujeto, el peso corporal del sujeto, la vía de administración y propiedades específicas del compuesto particular que esté usándose. En general, la dosis diaria para la administración oral a un adulto (peso corporal de aproximadamente 60 kg) es de aproximadamente 1 a 1000 mg, de aproximadamente 3 a 300 mg o de aproximadamente 10 a 200 mg. Se apreciará que la dosis diaria puede administrarse en una única administración o en múltiples (por ejemplo, 2 ó 3) porciones al día.
- 35

#### Terapias de combinación

- 40 Una amplia variedad de agentes terapéuticos pueden tener un efecto terapéutico aditivo o sinérgico con inhibidores de cinasa según la presente invención. Pueden usarse terapias de combinación que comprenden uno o más compuestos de la presente invención con uno o más de otros agentes terapéuticos, por ejemplo, para: 1) potenciar el/los efecto(s) terapéutico(s) del uno o más compuestos de la presente invención y/o el uno o más de otros agentes terapéuticos; 2) reducir los efectos secundarios mostrados por el uno o más compuestos de la presente invención y/o el uno o más de otros agentes terapéuticos; y/o 3) reducir la dosis eficaz del uno o más compuestos de la presente invención y/o el uno o más de otros agentes terapéuticos. Por ejemplo, tales otros agentes terapéuticos pueden combinarse de manera aditiva o sinérgica con los inhibidores de cinasa para inhibir el crecimiento celular indeseado, tal como crecimiento celular inapropiado que da como resultado crecimiento tumoral o estados benignos indeseados.
- 45
- 50

- En una realización, se proporciona un método para tratar un estado patológico proliferativo celular que comprende tratar células con un compuesto según la presente invención en combinación con un agente antiproliferativo, en el que las células se tratan con el compuesto según la presente invención antes, al mismo tiempo y/o después de tratar las células con el agente antiproliferativo, denominado en el presente documento terapia de combinación. Se indica que el tratamiento de un agente antes que otro se denomina en el presente documento terapia secuencial, aunque los agentes también se administren juntos. Se indica que se pretende que la terapia de combinación cubra cuando los agentes se administran antes o después uno del otro (terapia secuencial) así como cuando los agentes se administran al mismo tiempo.
- 55

- 60 Los ejemplos de agentes terapéuticos que pueden usarse en combinación con inhibidores de cinasa incluyen, pero no se limitan a, agentes anticancerígenos, agentes alquilantes, agentes antibióticos, agentes antimetabólicos, agentes hormonales, agentes derivados de plantas y agentes biológicos.

- 65 Los agentes alquilantes son compuestos polifuncionales que tienen la capacidad para sustituir iones hidrógeno por grupos alquilo. Los ejemplos de agentes alquilantes incluyen, pero no se limitan a, biscloroetilaminas (mostazas de

nitrógeno, por ejemplo clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, mecloretamina, melfalán, mostaza de uracilo), aziridinas (por ejemplo tiotepa), alcanosulfonatos de alquilo (por ejemplo busulfano), nitrosoureas (por ejemplo carmustina, lomustina, estreptozocina), agentes alquilantes no clásicos (altretamina, dacarbazina y procarbazona), compuestos de platino (carboplastino y cisplatino). Estos compuestos reaccionan con grupos fosfato, amino, hidroxilo, sulfhidrilo, carboxilo e imidazol. En condiciones fisiológicas, estos fármacos se ionizan y producen un ion cargado positivamente que se une a ácidos nucleicos y proteínas sensibles, conduciendo a la detención del ciclo celular y/o a la muerte celular. La terapia de combinación que incluye un inhibidor de cinasa y un agente alquilante puede tener efectos terapéuticos sinérgicos sobre el cáncer y reducir los efectos secundarios asociados con estos agentes quimioterápicos.

Los agentes antibióticos son un grupo de fármacos que se producen de una manera similar a antibióticos como modificación de productos naturales. Los ejemplos de agentes antibióticos incluyen, pero no se limitan a, antraciclinas (por ejemplo doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, idarubicina y antracenediona), mitomicina C, bleomicina, dactinomicina, plicatomicina. Estos agentes antibióticos interfieren con el crecimiento celular seleccionando como diana diferentes componentes celulares. Por ejemplo, se cree generalmente que las antraciclinas interfieren con la acción de la ADN topoisomerasa II en las regiones de ADN transcripcionalmente activo, lo que conduce a escisiones de la hebra de ADN. Generalmente se cree que la bleomicina quela hierro y forma un complejo activado, que entonces se une a bases de ADN, provocando escisiones de cadena y muerte celular. La terapia de combinación que incluye un inhibidor de cinasa y un agente antibiótico pueden tener efectos terapéuticos sinérgicos sobre el cáncer y reducir los efectos secundarios asociados con estos agentes quimioterápicos.

Los agentes antimetabólicos son un grupo de fármacos que interfieren con procesos metabólicos vitales para la fisiología y proliferación de células cancerosas. Las células cancerosas que proliferan activamente requieren la síntesis continua de grandes cantidades de ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y otros constituyentes celulares vitales. Muchos de los antimetabolitos inhiben la síntesis de nucleósidos de purina o pirimidina o inhiben las enzimas de la replicación del ADN. Algunos antimetabolitos también interfieren con la síntesis de ribonucleósidos y ARN y/o el metabolismo de aminoácidos y la síntesis de proteínas también. Interfiriendo con la síntesis de constituyentes celulares vitales, los antimetabolitos pueden retrasar o detener el crecimiento de células cancerosas. Los ejemplos de agentes antimetabólicos incluyen, pero no se limitan a, fluorouracilo (5-FU), floxuridina (5-FUdR), metotrexato, leucovorina, hidroxiaurea, tioguanina (6-TG), mercaptopurina (6-MP), citarabina, pentostatina, fosfato de fludarabina, cladribina (2-CDA), asparaginasa y gemcitabina. La terapia de combinación que incluye un inhibidor de cinasa y un agente antimetabólico puede tener efectos terapéuticos sinérgicos sobre el cáncer y reducir los efectos secundarios asociados con estos agentes quimioterápicos.

Los agentes hormonales son un grupo de fármacos que regulan el crecimiento y desarrollo de sus órganos diana. La mayoría de los agentes hormonales son esteroides sexuales y sus derivados y análogos de los mismos, tales como estrógenos, andrógenos y progestinas. Estos agentes hormonales pueden servir como antagonistas de receptores para los esteroides sexuales para regular por disminución la expresión del receptor y la transcripción de genes vitales. Ejemplos de tales agentes hormonales son estrógenos sintéticos (por ejemplo dietilstibestrol), antiestrógenos (por ejemplo tamoxifeno, toremifeno, fluoximesterol y raloxifeno), antiandrógenos (bicalutamida, nilutamida, flutamida), inhibidores de aromatasa (por ejemplo, aminoglutetimida, anastrozol y tetrazol), cetozonazol, acetato de goserelina, leuprolida, acetato de megestrol y mifepristona. La terapia de combinación que incluye un inhibidor de cinasa y un agente hormonal puede tener efectos terapéuticos sinérgicos sobre el cáncer y reducir los efectos secundarios asociados con estos agentes quimioterápicos.

Los agentes derivados de plantas son un grupo de fármacos que se derivan de plantas o se modifican basándose en la estructura molecular de los agentes. Los ejemplos de agentes derivados de plantas incluyen, pero no se limitan a, alcaloides de la vinca (por ejemplo, vincristina, vinblastina, vindesina, vinzolidina y vinorelbina), podofilotoxinas (por ejemplo, etopósido (VP-16) y tenipósido (VM-26)), taxanos (por ejemplo, paclitaxel y docetaxel). Estos agentes derivados de plantas actúan generalmente como agentes antimetabólicos que se unen a tubulina e inhiben la mitosis. Se cree que las podofilotoxinas tales como etopósido interfieren con la síntesis de ADN interaccionando con la topoisomerasa II, conduciendo a la escisión de la hebra de ADN. La terapia de combinación que incluye un inhibidor de cinasa y un agente derivado de plantas puede tener efectos terapéuticos sinérgicos sobre el cáncer y reducir los efectos secundarios asociados con estos agentes quimioterápicos.

Los agentes biológicos son un grupo de biomoléculas que provocan la regresión cancerosa/tumoral cuando se usan solos o en combinación con quimioterapia y/o radioterapia. Los ejemplos de agentes biológicos incluyen, pero no se limitan a, proteínas inmunomoduladoras tales como citocinas, anticuerpos monoclonales contra antígenos tumorales, genes supresores de tumores y vacunas contra el cáncer. La terapia de combinación que incluye un inhibidor de cinasa y un agente biológico puede tener efectos terapéuticos sinérgicos sobre el cáncer, potenciar las respuestas inmunitarias del paciente frente a señales tumorigénicas y reducir los posibles efectos secundarios asociados con este agente quimioterápico.

Las citocinas presentan una profunda actividad inmunomoduladora. Algunas citocinas tales como interleucina 2 (IL-2, aldesleucina) e interferón han demostrado actividad antitumoral y se han aprobado para el tratamiento de

pacientes con carcinoma de células renales metastásico y melanoma maligno metastásico. IL-2 es un factor de crecimiento de células T que es fundamental para respuestas inmunitarias mediadas por células T. Se cree que los efectos antitumorales selectivos de IL-2 en algunos pacientes son el resultado de una respuesta inmunitaria mediada por células que distingue entre lo propio y lo no propio. Los ejemplos de interleucinas que pueden usarse junto con un inhibidor de cinasa incluyen, pero no se limitan a, interleucina 2 (IL-2) e interleucina 4 (IL-4), interleucina 12 (IL-12).

El interferón incluye más de 23 subtipos relacionados con actividades solapantes, todos los subtipos de IFN quedan dentro del alcance de la presente invención. IFN ha demostrado actividad contra muchos tumores malignos sólidos y hematológicos, pareciendo estos últimos ser particularmente sensibles.

Otras citocinas que pueden usarse junto con un inhibidor de cinasa incluyen las citocinas que ejercen profundos efectos sobre la hematopoyesis y funciones inmunitarias. Los ejemplos de tales citocinas incluyen, pero no se limitan a, eritropoyetina, CSF de granulocitos (filgrastina) y CSF de granulocitos y macrófagos (sargramostima). Estas citocinas pueden usarse junto con un inhibidor de cinasa para reducir la toxicidad mielopoyética inducida por la quimioterapia.

También pueden usarse otros agentes inmunomoduladores distintos de citocinas junto con un inhibidor de cinasa para inhibir el crecimiento celular anómalo. Los ejemplos de tales agentes inmunomoduladores incluyen, pero no se limitan a, bacilo de Calmette-Guerin, levamisol y octreotida, un octapéptido de acción prolongada que imita los efectos de la hormona somatostatina que se produce de manera natural.

Los anticuerpos monoclonales contra antígenos tumorales son anticuerpos preparados contra antígenos expresados por tumores, preferiblemente antígenos específicos de tumor. Por ejemplo, el anticuerpo monoclonal HERCEPTIN® (trastuzumab) se prepara contra el receptor de factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) que se sobreexpresa en algunos tumores de mama incluyendo el cáncer de mama metastásico. La sobreexpresión de la proteína HER2 está asociada con una enfermedad más agresiva y un peor pronóstico en la clínica. HERCEPTIN® se usa como agente individual para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico cuyos tumores sobreexpresan la proteína HER2. La terapia de combinación que incluye un inhibidor de cinasa y HERCEPTIN® puede tener efectos terapéuticos sinérgicos sobre tumores, especialmente sobre cánceres metastásicos.

Otro ejemplo de anticuerpos monoclonales contra antígenos tumorales es RITUXAN® (rituximab) que se prepara contra CD20 en células de linfoma y reduce selectivamente células pre-B y B maduras CD20+ normales y malignas. RITUXAN® se usa como agente individual para el tratamiento de pacientes con linfoma no Hodgkin de células B, CD20+, folicular o de grado bajo, con recidiva o que no responde al tratamiento. La terapia de combinación que incluye un inhibidor de cinasa y RITUXAN® puede tener efectos terapéuticos sinérgicos no sólo sobre linfoma sino también sobre otras formas o tipos de tumores malignos.

Los genes supresores tumorales son genes que funcionan para inhibir los ciclos de división y crecimiento celular, evitando así el desarrollo de neoplasia. Mutaciones en genes supresores tumorales provocan que la célula ignore uno o más de los componentes de la red de señales inhibitoras, superando los puntos de comprobación del ciclo celular y dando como resultado una tasa superior de crecimiento celular controlado - cáncer. Los ejemplos de los genes supresores tumorales incluyen, pero no se limitan a, DPC-4, No-1, NF-2, RB, p53, WT1, BRCA1 y BRCA2.

DPC-4 está implicado en el cáncer pancreático y participa en una ruta citoplásmica que inhibe la división celular. NF-1 codifica para una proteína que inhibe Ras, una proteína inhibidora citoplásmica. NF-1 está implicado en neurofibroma y feocromocitomas del sistema nervioso y leucemia mieloide. NF-2 codifica para una proteína nuclear que está implicada en meningioma, schwannoma y ependimoma del sistema nervioso. RB codifica para la proteína pRB, una proteína nuclear que es un inhibidor principal del ciclo celular. RB está implicado en retinoblastoma así como cáncer de hueso, de vejiga, de pulmón de células pequeñas y de mama. P53 codifica para la proteína p53 que regula la división celular y puede inducir apoptosis. Se encuentra mutación y/o inacción de p53 en una amplia variedad de cánceres. WT1 está implicado en el tumor de Wilms de los riñones. BRCA1 está implicado en cáncer de mama y de ovarios, y BRCA2 está implicado en cáncer de mama. El gen supresor tumoral puede transferirse al interior de las células tumorales en las que ejerce sus funciones supresoras tumorales. La terapia de combinación que incluye un inhibidor de cinasa y un supresor tumoral puede tener efectos terapéuticos sinérgicos sobre pacientes que padecen diversas formas de cánceres.

Las vacunas contra el cáncer son un grupo de agentes que inducen la respuesta inmunitaria específica del cuerpo frente a tumores. La mayoría de las vacunas contra el cáncer en investigación y desarrollo y en ensayos clínicos son antígenos asociados a tumores (TAA). Los TAA son estructuras (es decir proteínas, enzimas o hidratos de carbono) que están presentes en células tumorales y relativamente ausentes o reducidos en células normales. Gracias a ser bastante únicos para la célula tumoral, los TAA proporcionan dianas para que el sistema inmunitario reconozca y provoque su destrucción. Los ejemplos de TAA incluyen, pero no se limitan a, gangliósidos (GM2), antígeno específico de la próstata (PSA), alfa-fetoproteína (AFP), antígeno carcinoembrionario (CEA) (producido por cánceres de colon y otros adenocarcinomas, por ejemplo cánceres de mama, pulmón, gástrico y de páncreas), antígenos asociados con melanoma (MART-1, gp100, MAGE 1,3 tirosinasa), fragmentos E6 y E7 del virus del papiloma,

células completas o porciones/lisados de células tumorales autólogas y células tumorales alogénicas.

Puede usarse un adyuvante para aumentar la respuesta inmunitaria frente a TAA. Los ejemplos de adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, bacilo de Calmette-Guerin (BCG), lipopolisacáridos de endotoxinas, hemocianina de lapa californiana (GKLH), interleucina 2 (IL-2), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y citoxano, un agente quimioterápico que se cree que reduce la supresión inducida por el tumor cuando se administra en dosis bajas.

### Ejemplos

#### Preparación de inhibidores de cinasa

Pueden desarrollarse diversos métodos para sintetizar compuestos según la presente invención. En los ejemplos se proporcionan métodos representativos para sintetizar estos compuestos. Sin embargo, se indica que los compuestos de la presente invención también pueden sintetizarse por otras rutas de síntesis que pueden diseñar otros.

Se reconocerá fácilmente que determinados compuestos según la presente invención tienen átomos con enlaces a otros átomos que confieren una estereoquímica particular al compuesto (por ejemplo, centros quirales). Se reconoce que la síntesis de los compuestos según la presente invención puede dar como resultado la creación de mezclas de estereoisómeros diferentes (es decir, enantiómeros y diastereómeros). A menos que se especifique una estereoquímica particular, se pretende que la mención de un compuesto abarque todos los posibles estereoisómeros diferentes.

En la técnica se conocen diversos métodos para separar mezclas de estereoisómeros diferentes. Por ejemplo, puede hacerse reaccionar una mezcla racémica de un compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de los compuestos diastereoisoméricos. Entonces pueden separarse los diastereómeros con el fin de recuperar los enantiómeros ópticamente puros. También pueden usarse complejos disociables para resolver enantiómeros (por ejemplo, sales diastereoisoméricas cristalinas). Los diastereómeros tienen normalmente propiedades físicas suficientemente diferenciadas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y pueden separarse fácilmente aprovechando estas diferencias. Por ejemplo, normalmente pueden separarse diastereómeros mediante cromatografía o mediante técnicas de separación/resolución basadas en diferencias de solubilidad. Puede encontrarse una descripción más detallada de técnicas que pueden usarse para resolver estereoisómeros de los compuestos a partir de su mezcla racémica en Jean Jacques Andre Collet, Samuel H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, John Wiley & Sons, Inc. (1981).

También pueden prepararse compuestos según la presente invención como una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido orgánico o inorgánico farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, puede prepararse una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto haciendo reaccionar la forma de ácido libre del compuesto con una base orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable. Los ácidos y las bases orgánicos e inorgánicos adecuados para la preparación de las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos se exponen en la sección de definiciones de esta solicitud. Alternativamente, pueden prepararse las formas de sal de los compuestos usando sales de los materiales de partida o productos intermedios.

Las formas de ácido libre o de base libre de los compuestos pueden prepararse a partir de la correspondiente forma de sal de adición de base o sal de adición de ácido. Por ejemplo, un compuesto en una forma de sal de adición de ácido puede convertirse en la correspondiente base libre mediante tratamiento con una base adecuada (por ejemplo, disolución de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio y similares). Un compuesto en una forma de sal de adición de base puede convertirse en el correspondiente ácido libre mediante tratamiento con un ácido adecuado (por ejemplo, ácido clorhídrico, etc.).

Los N-óxidos de los compuestos según la presente invención pueden prepararse mediante métodos conocidos por los expertos habituales en la técnica. Por ejemplo, pueden prepararse N-óxidos tratando una forma no oxidada del compuesto con un agente oxidante (por ejemplo, ácido trifluoroperacético, ácido permaleico, ácido perbenzoico, ácido peracético, ácido meta-cloroperóxibenzoico o similares) en un disolvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, un hidrocarburo halogenado tal como diclorometano) a aproximadamente 0°C. Alternativamente, los N-óxidos de los compuestos pueden prepararse a partir del N-óxido de un material de partida apropiado.

Pueden prepararse compuestos en una forma no oxidada a partir de N-óxidos de los compuestos mediante tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenilfosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro o similares) en un disolvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso o similares) a de 0 a 80°C.

Pueden prepararse derivados protegidos de los compuestos mediante métodos conocidos por los expertos habituales en la técnica. Puede encontrarse una descripción detallada de las técnicas aplicables para la creación de grupos protectores y su eliminación en T.W. Greene, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 3ª edición, John Wiley

& Sons, Inc. 1999.

Los compuestos según la presente invención pueden prepararse convenientemente, o formarse durante los procedimientos de la invención, como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente mediante recristalización en una mezcla de disolventes acuoso/orgánico, usando disolventes orgánicos tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.

También pueden prepararse compuestos según la presente invención como sus estereoisómeros individuales haciendo reaccionar una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de los compuestos diastereoisoméricos, separando los diastereómeros y recuperando el enantiómero ópticamente puro. Aunque la resolución de enantiómeros puede llevarse a cabo usando derivados diastereoméricos covalentes de los compuestos, se prefieren complejos disociables (por ejemplo, sales diastereoisoméricas cristalinas). Los diastereómeros tienen propiedades físicas diferenciadas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y pueden separarse fácilmente aprovechando estas diferencias. Los diastereómeros pueden separarse mediante cromatografía o, preferiblemente, mediante técnicas de separación/resolución basadas en diferencias de solubilidad. Entonces se recupera el enantiómero ópticamente puro, junto con el agente de resolución, mediante cualquier medio práctico que no dé como resultado racemización. Puede encontrarse una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de estereoisómeros de los compuestos a partir de su mezcla racémica en Jean Jacques Andre Collet, Samuel H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, John Wiley & Sons, Inc. (1981).

Tal como se usan en el presente documento los símbolos y convenios usados en estos procedimientos, esquemas y ejemplos concuerdan con los usados en la bibliografía científica contemporánea, por ejemplo, el *Journal of the American Chemical Society* o el *Journal of Biological Chemistry*. Generalmente se usan abreviaturas convencionales de una única letra o de tres letras para designar residuos de aminoácido, que se supone que están en la configuración L a menos que se indique lo contrario. A menos que se indique lo contrario, todos los materiales de partida se obtuvieron a partir de proveedores comerciales y se usan sin purificación adicional. Específicamente, pueden usarse las siguientes abreviaturas en los ejemplos y a lo largo de toda la memoria descriptiva:

μl (microlitros)	Ac (acetilo)
atm (atmósfera)	ATP (adenosina trifosfatasa)
BOC (terc-butiloxicarbonilo)	BOP (cloruro bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfínico)
BSA (albúmina de suero bovino)	CBZ (benciloxicarbonilo)
CDI (1,1-carbonildiimidazol)	DCC (diciclohexilcarbodiimida)
DCE (dicloroetano)	DCM (diclorometano)
DMAP (4-dimetilaminopiridina)	DME (1,2-dimetoxietano)
DMF (N,N-dimetilformamida)	DMPU (N,N'-dimetilpropilenurea)
DMSO (dimetilsulfóxido)	EDCI (clorhidrato de etilcarbodiimida)
EDTA (ácido etilenediaminatetraacético)	Et (etilo)
Et <sub>2</sub> O (dietil éter)	EtOAc (acetato de etilo)
Fmoc (9-fluorenilmetoxicarbonilo)	g (gramos)
h (horas)	HOAc o AcOH (ácido acético)
HOBT (1-hidroxibenzotriazol)	HOSu (N-hidroxisuccinimida)
HPLC (cromatografía de líquidos a alta presión)	Hz (hercios)
i.v. (intravenoso)	IBCF (cloroformiato de isobutilo)
i-PrOH (isopropanol)	l (litros)
M (molar)	mCPBA (ácido meta-cloroperbenzoico)
Me (metilo)	MeOH (metanol)
mg (miligramos)	MHz (megahercios)
min (minutos)	ml (mililitros)
mM (milimolar)	mmol (milimoles)
mol (moles)	MOPS (ácido morfolinpropanosulfónico)

p.f. (punto de fusión)	NaOAc (acetato de sodio)
OMe (metoxilo)	psi (libras por pulgada cuadrada)
RP (fase inversa)	TA (temperatura ambiente)
SPA (ensayo de proximidad de centelleo)	TBAF (fluoruro de tetra-n-butilamonio)
TBS (t-butildimetilsililo)	tBu (terc-butilo)
TEA (trietilamina)	TFA (ácido trifluoroacético)
TFAA (anhídrido trifluoroacético)	THF (tetrahidrofurano)
TIPS (triisopropilsililo)	CCF (cromatografía de capa fina)
TMS (trimetilsililo)	TMSE (2-(trimetilsilil)etilo)
Tr (tiempo de retención)	

Todas las referencias a éter o Et<sub>2</sub>O son a dietil éter; y la salmuera se refiere a una disolución acuosa saturada de NaCl. A menos que se indique lo contrario, todas las temperaturas se expresan en °C (grados centígrados). Todas las reacciones se realizan a una atmósfera inerte a TA a menos que se indique lo contrario.

5 Se registraron espectros de <sup>1</sup>H-RMN en un instrumento Bruker Avance 400. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm). Las constantes de acoplamiento están en unidades de hercios (Hz). Los patrones de división describen las multiplicidades aparentes y se denominan s (singlete), d (doblete), t (tripleto), q (cuartete), m (multiplete), a (ancho).

10 Se adquirieron espectros de masas de baja resolución (EM) y datos de pureza de los compuestos en un sistema de cuadrupolo individual de CL/EM Waters ZQ equipado con una fuente de ionización por electrospray (ESI), detector de UV (220 y 254 nm) y detector de dispersión de la luz por evaporación (ELSD). Se realizó cromatografía de capa fina sobre placas de gel de sílice de E. Merck de 0,25 mm (60F- 254), visualizadas con luz UV, ácido fosfomolibdico etanólico al 5%, disolución de ninhidrina o p-anisaldehído. Se realizó cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (230-400 de malla, Merck).

15 Los materiales de partida y los reactivos usados en la preparación de estos compuestos o bien están disponibles a partir de proveedores comerciales tales como Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI), Bachem (Torrance, CA), Sigma (St. Louis, MO), o bien pueden prepararse mediante métodos bien conocidos por un experto habitual en la técnica, siguiendo procedimientos descritos en referencias convencionales tales como Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, vol. 1-17, John Wiley and Sons, Nueva York, NY, 1991; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, vol. 1-5 y sup., Elsevier Science Publishers, 1989; Organic Reactions, vol. 1-40, John Wiley and Sons, Nueva York, NY, 1991; March J.: Advanced Organic Chemistry, 4<sup>a</sup> ed., John Wiley and Sons, Nueva York, NY; y Larock: Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Nueva York, 1989.

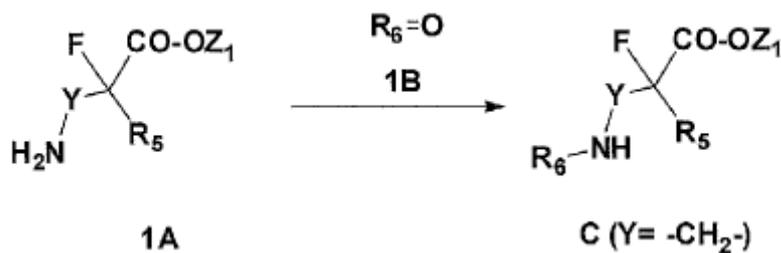
#### Esquemas de síntesis para compuestos de la presente invención

30 Los compuestos según la presente invención pueden sintetizarse según los esquemas de reacción mostrados a continuación. Los expertos en la técnica pueden diseñar fácilmente otros esquemas de reacción. También debe apreciarse que puede variarse una variedad de diferentes disolventes, temperaturas y otras condiciones de reacción para optimizar los rendimientos de las reacciones.

35 En las reacciones descritas a continuación en el presente documento puede ser necesario proteger grupos funcionales reactivos, por ejemplo grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxilo, cuando se desean estos en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Pueden usarse grupos protectores convencionales según la práctica convencional, para ejemplos véase T.W. Greene y P. G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry" John Wiley and Sons, 1991.

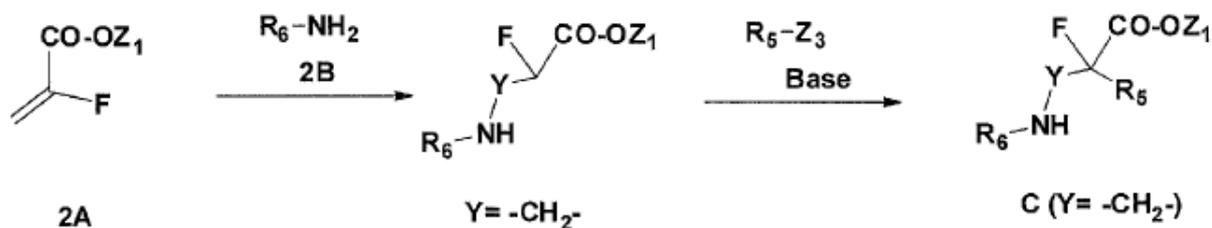
40 En los siguientes esquemas se muestran rutas de síntesis generales para producir compuestos de la presente invención.

Esquema 1:



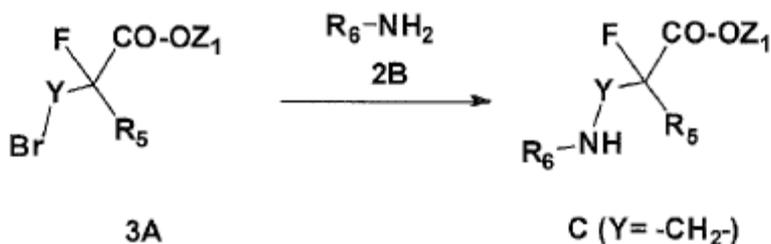
Haciendo referencia al esquema 1, el compuesto C se obtiene mediante aminación reductora del compuesto 1B por el compuesto 1A usando, por ejemplo, triacetoxiborohidruro de sodio o cianoborohidruro de sodio. En el esquema 1, OZ<sub>1</sub> es un grupo saliente. En realizaciones particulares, Z<sub>1</sub> es Me o Et; y R<sub>6</sub> es ciclopentilo o isopropilo. En otras realizaciones particulares, el compuesto 1B es ciclopentanona, ciclohexanona o cetona.

Esquema 2:



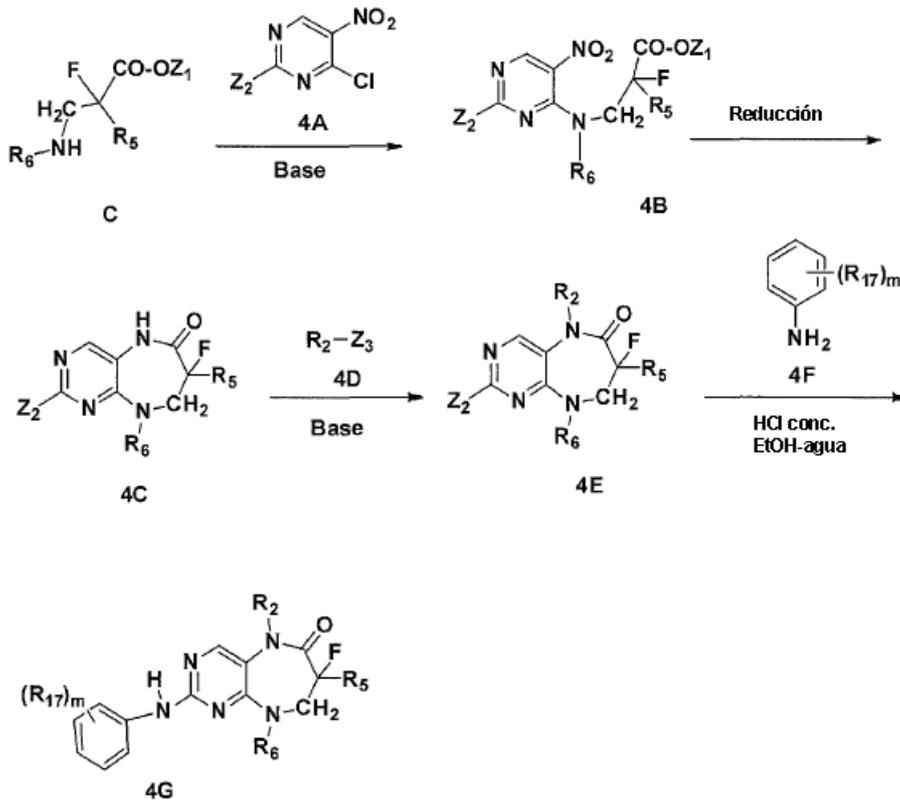
Haciendo referencia al esquema 2, el compuesto C se prepara mediante adición de Michael del compuesto 2A (es decir, acrilato de etilo) con el compuesto 2B (es decir, ciclopropilamina o ciclopentilamina) seguido por alquilación con R<sub>5</sub>-Z<sub>3</sub>, en el que R<sub>5</sub> es un grupo alquilo (C<sub>1-3</sub>) y Z<sub>3</sub> es un grupo saliente.

Esquema 3:



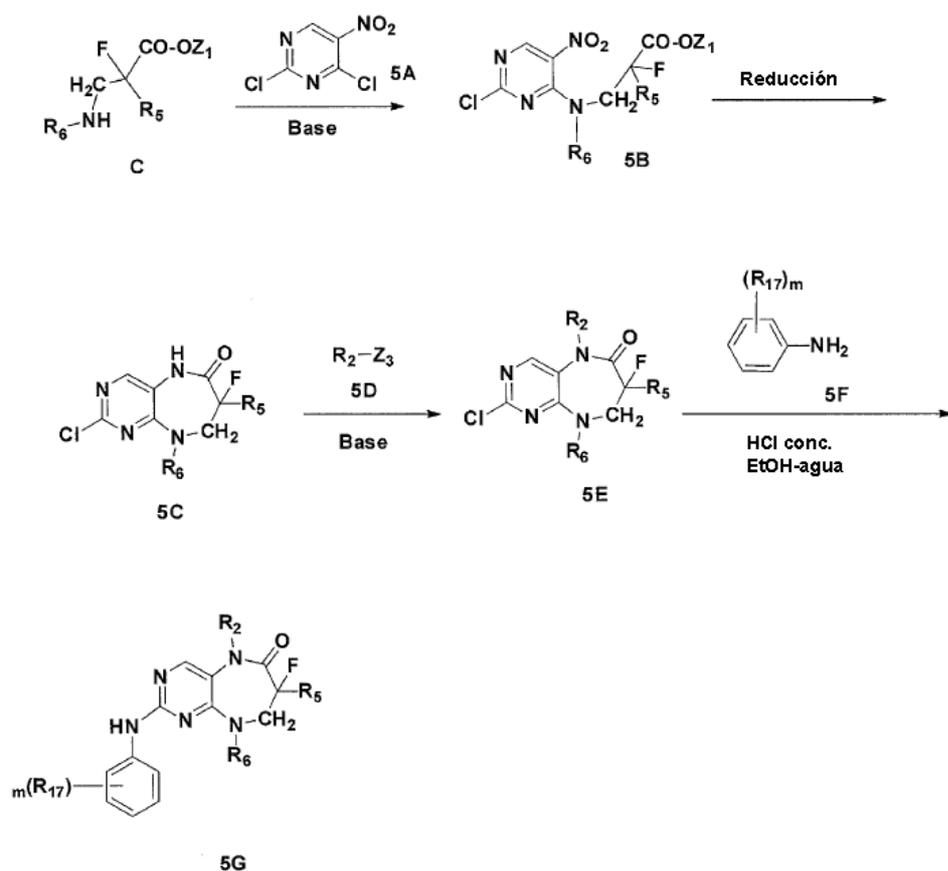
Haciendo referencia al esquema 3, el compuesto 3A se convierte en el compuesto C usando el compuesto 2B (es decir, ciclopropilamina o ciclopentilamina) en presencia de base (es decir, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) y yoduro de sodio.

Esquema 4:



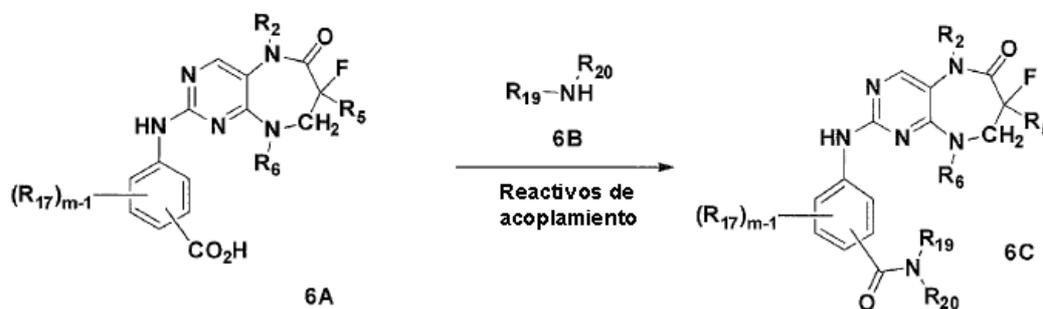
Haciendo referencia al esquema 4, en el que Z<sub>2</sub> es un grupo saliente, el compuesto C se trata con el compuesto 4A en presencia de base (es decir, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> o diisopropiletilamina) para dar el compuesto 4B. El compuesto 4B se transforma mediante reducción usando hierro reducido y reacción de ciclación posterior para proporcionar el compuesto 4C. El compuesto 4E se prepara mediante N-alkilación del compuesto 4C con el compuesto 4D (por ejemplo, haluro de alquilo (por ejemplo, yodometano)). El compuesto 4E se trata con el compuesto 4F en presencia de una cantidad catalítica de ácido (es decir, HCl conc. o cloruro de piridinio) (aproximadamente de 0,1 a 10 equivalentes) para obtener el compuesto 4G. El compuesto 4F es uno que o bien tiene R<sub>17</sub> tal como se desea en el producto final o bien da lugar a R<sub>17</sub> tal como se desea en el producto final.

Esquema 5:



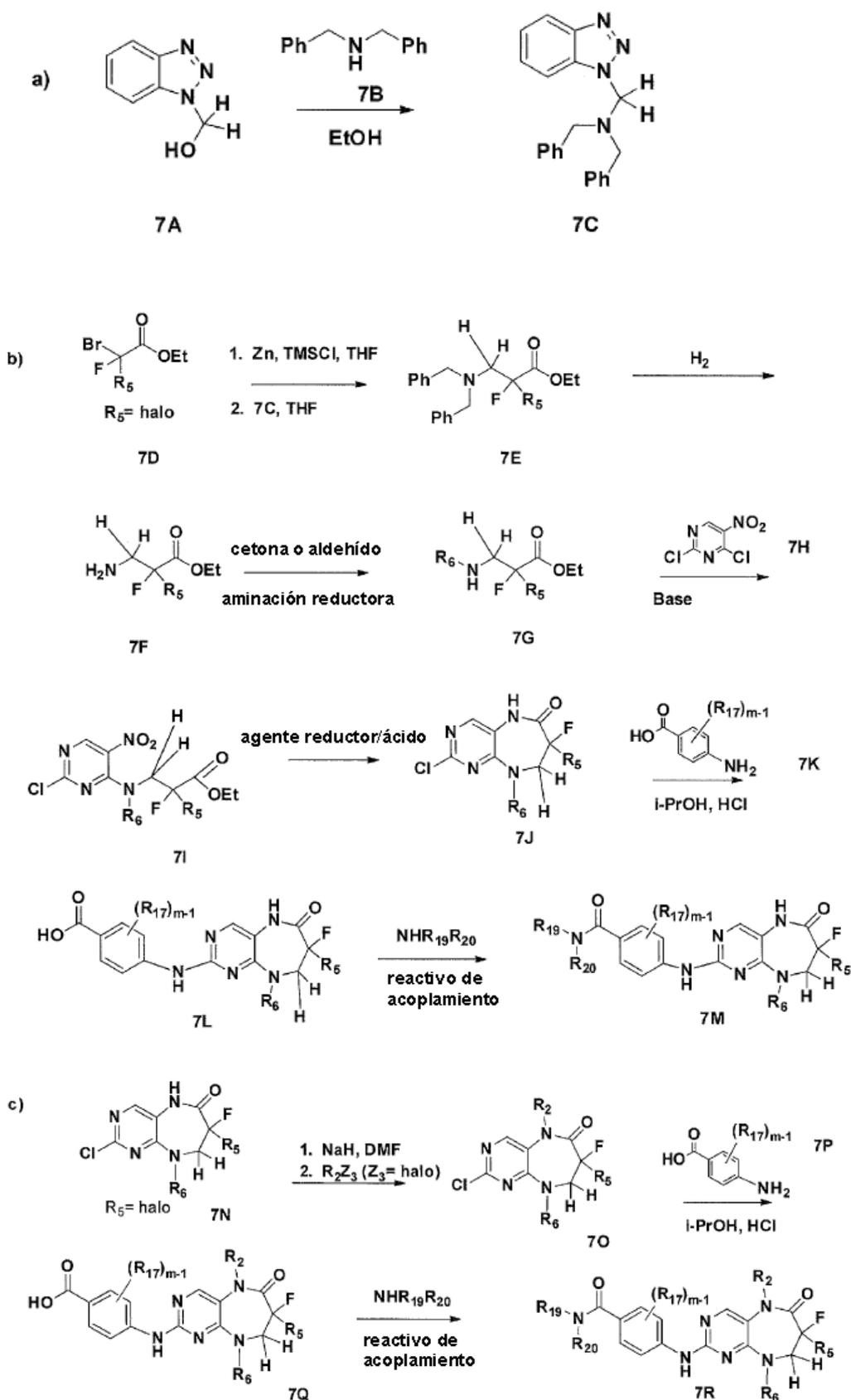
Haciendo referencia al esquema 5, el compuesto C se trata con el compuesto 5A en presencia de base (es decir,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  o diisopropiletilamina) para dar el compuesto 5B. El compuesto 5B se transforma mediante reducción usando hierro reducido y reacción de ciclación posterior para proporcionar el compuesto 5C. El compuesto 5E se prepara mediante N-alquilación del compuesto 5C con haluro de alquilo 5D (es decir, yodometano). El compuesto 5E se trata con anilina (compuesto 5F) en presencia de una cantidad catalítica de ácido (es decir, HCl conc. o cloruro de piridinio) para obtener el compuesto 5G.

10 Esquema 6:



Se lleva a cabo la reacción de acoplamiento del compuesto 6A con amina (compuesto 6B, es decir, metilamina o 1-metilpiperidin-4-amina) usando reactivos de acoplamiento apropiados (es decir, HATU, TBTU, etc.) para dar el compuesto 6C. En el esquema 6,  $\text{R}_{19}$  y  $\text{R}_{20}$  son tal como se definieron anteriormente para  $\text{R}_{25}$  y  $\text{R}_{26}$ .

Esquema 7:

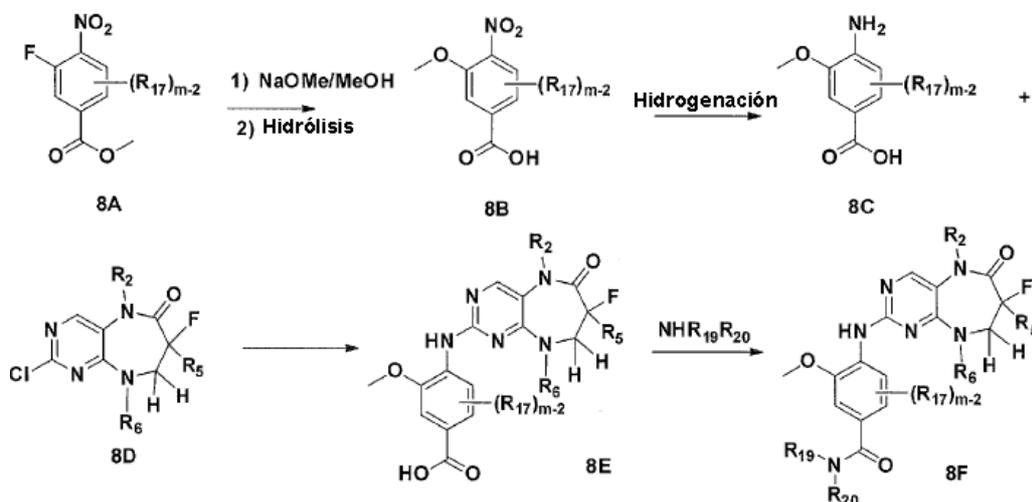


5 Haciendo referencia al esquema 7, en el que  $R_{19}$  y  $R_{20}$  son tal como se definieron anteriormente para  $R_{25}$  y  $R_{26}$ , el compuesto 7A se trata con dibencilamina (7B) en etanol para conseguir 7C. La reacción de Reformatsky de  $\alpha$ -bromoacetato de etilo (7D) con 7C en presencia de polvo de zinc, cloruro de trimetilsililo produce el compuesto 7E,

que se somete a hidrogenación en presencia de un catalizador de paladio (es decir, Pd(OH)<sub>2</sub> sobre carbono) para producir 7F. La aminación reductora del compuesto 7F con aldehído o cetona (es decir, ciclopentanona o ciclohexanona) en presencia de triacetoxiborohidruro de sodio y acetato de sodio proporciona 7G. El compuesto 7G se somete a reacción de S<sub>N</sub>Ar con pirimidina sustituida 7H (es decir, 2,4-dicloro-5-nitropirimidina) en presencia de base (es decir, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) para proporcionar el compuesto 7I, que con ciclación reductora usando un catalizador de metal/ácido (es decir, Fe/HCl o Sn/HCl) obtiene el compuesto 7J. El compuesto 7J se somete a reflujo con el compuesto 7K (es decir, ácido 4-amino-3-metoxibenzoico) en presencia de un catalizador ácido (es decir, HCl conc. o TsOH) para obtener el compuesto 7L, que se acopla con una amina (es decir, metilamina o 1-metilpiperidin-4-amina) para obtener el compuesto 7M.

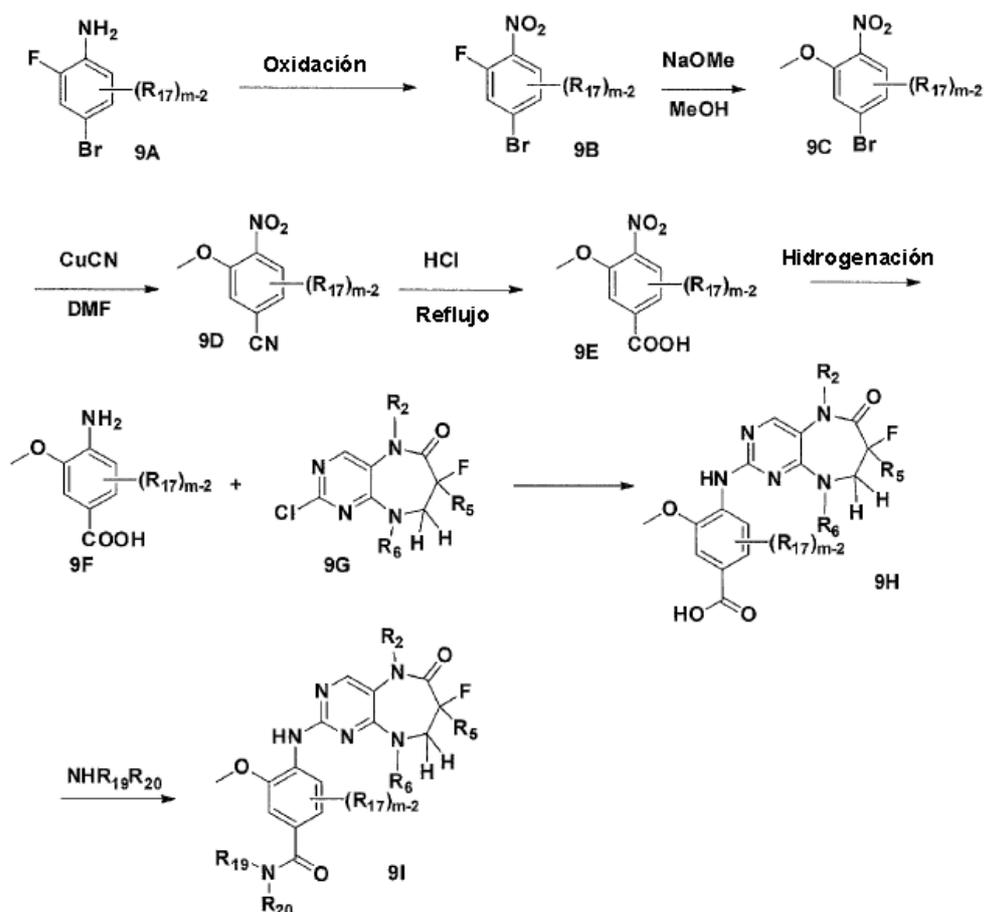
El compuesto 7N se somete a N-alquilación usando un agente alquilante (es decir, yoduro de metilo) para proporcionar el compuesto 7O. El compuesto 7O se somete a reflujo con el compuesto 7P (es decir, ácido 4-amino-3-metoxibenzoico) en presencia de un catalizador ácido (es decir, HCl conc. o TsOH) para producir el compuesto 7Q, que se somete a una amina (es decir, metilamina o 1-metilpiperidin-4-amina) usando reactivos de acoplamiento apropiados (es decir, HATU, TBTU etc.) para dar el compuesto 7R.

Esquema 8:



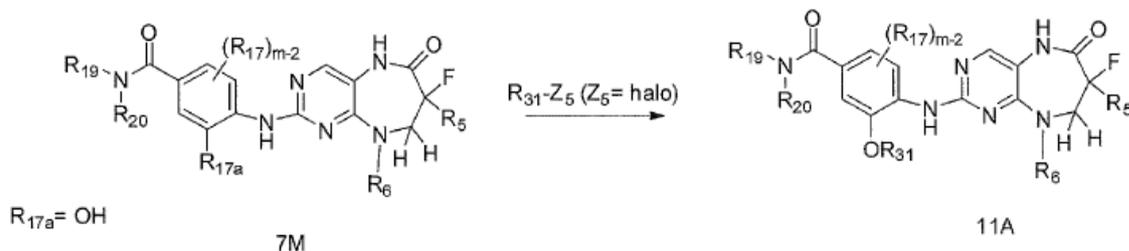
Haciendo referencia al esquema 8, en el que R<sub>19</sub> y R<sub>20</sub> son tal como se definieron anteriormente para R<sub>25</sub> y R<sub>26</sub>, el compuesto 8A se trata con una base (es decir, metóxido de sodio) en metanol para proporcionar el compuesto 8B, que se hidrogena en presencia de un catalizador (es decir, Pd/C) para producir el compuesto 8C. El compuesto 8D se somete a reflujo con el compuesto 8C en presencia de catalizador ácido (es decir, HCl conc. o TsOH) para dar el compuesto 8E. El compuesto 8E se condensa con una amina (es decir, metilamina o 1-metilpiperidin-4-amina) usando reactivos de acoplamiento apropiados (es decir, HATU, TBTU etc.) para dar el compuesto 8F.

Esquema 9:



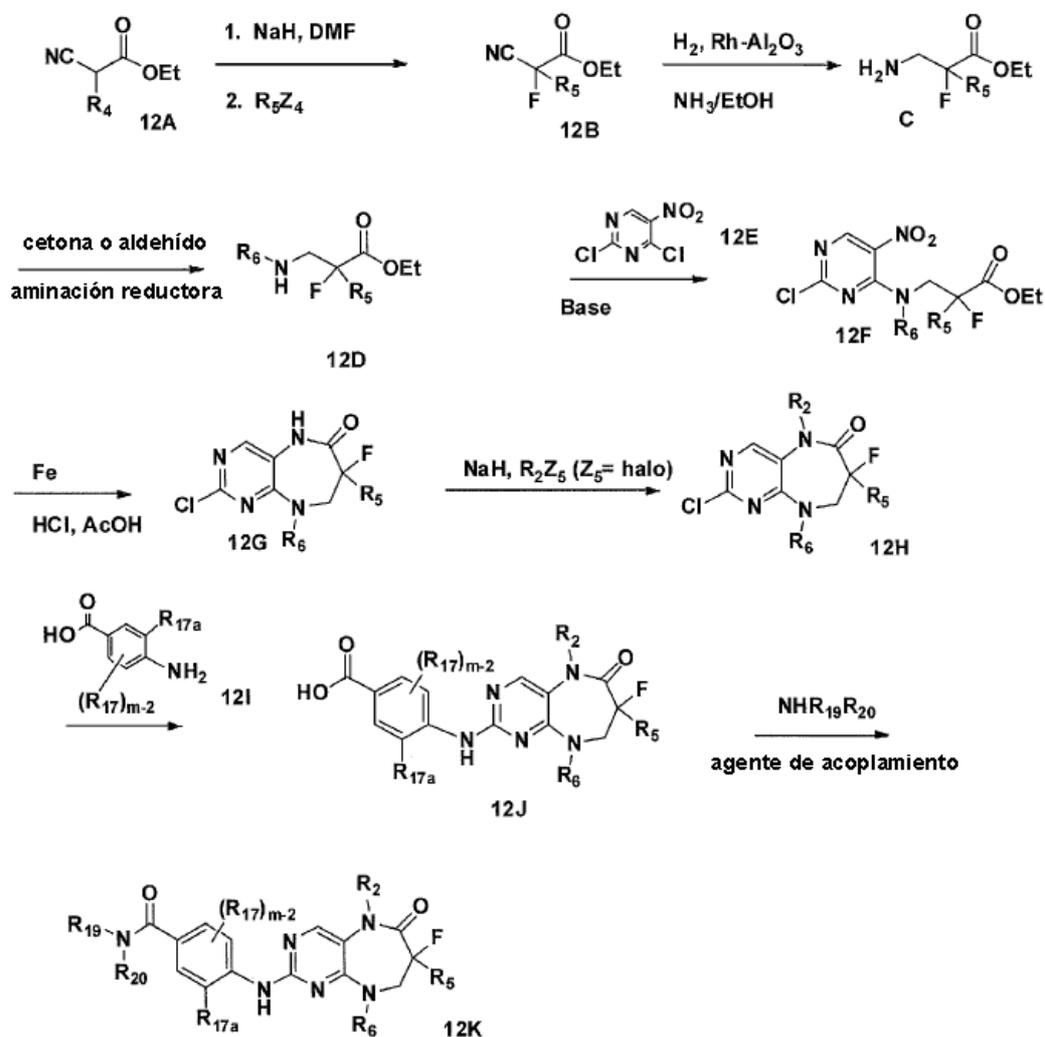
Haciendo referencia al esquema 9, en el que  $R_{19}$  y  $R_{20}$  son tal como se definieron anteriormente para  $R_{25}$  y  $R_{26}$ , el compuesto 9A se trata con un agente de oxidación (por ejemplo, perborato de sodio en ácido acético) para proporcionar el compuesto 9B, que se convierte en su metil éter usando una base (es decir, NaOMe) en metanol para dar el compuesto 9C. El compuesto 9C se somete a una reacción de sustitución nucleófila en presencia de CuCN para producir el compuesto 9D, que se hidroliza para dar su ácido 9E en presencia de ácido fuerte (es decir, HCl conc.). El compuesto 9E se hidrogena en presencia de un catalizador (es decir, Pd/C) y ácido acético en alcohol tal como metanol para producir el compuesto 9F. El compuesto 9F se somete a reflujo con el compuesto 9G en presencia de catalizador ácido (es decir, HCl conc. o TsOH) para dar el compuesto 9H. El compuesto 9H se trata con una amina (es decir, metilamina o 1-metilpiperidin-4-amina) usando reactivos de acoplamiento apropiados (es decir, HATU, TBTU etc.) para dar el compuesto 9I.

Esquema 11:



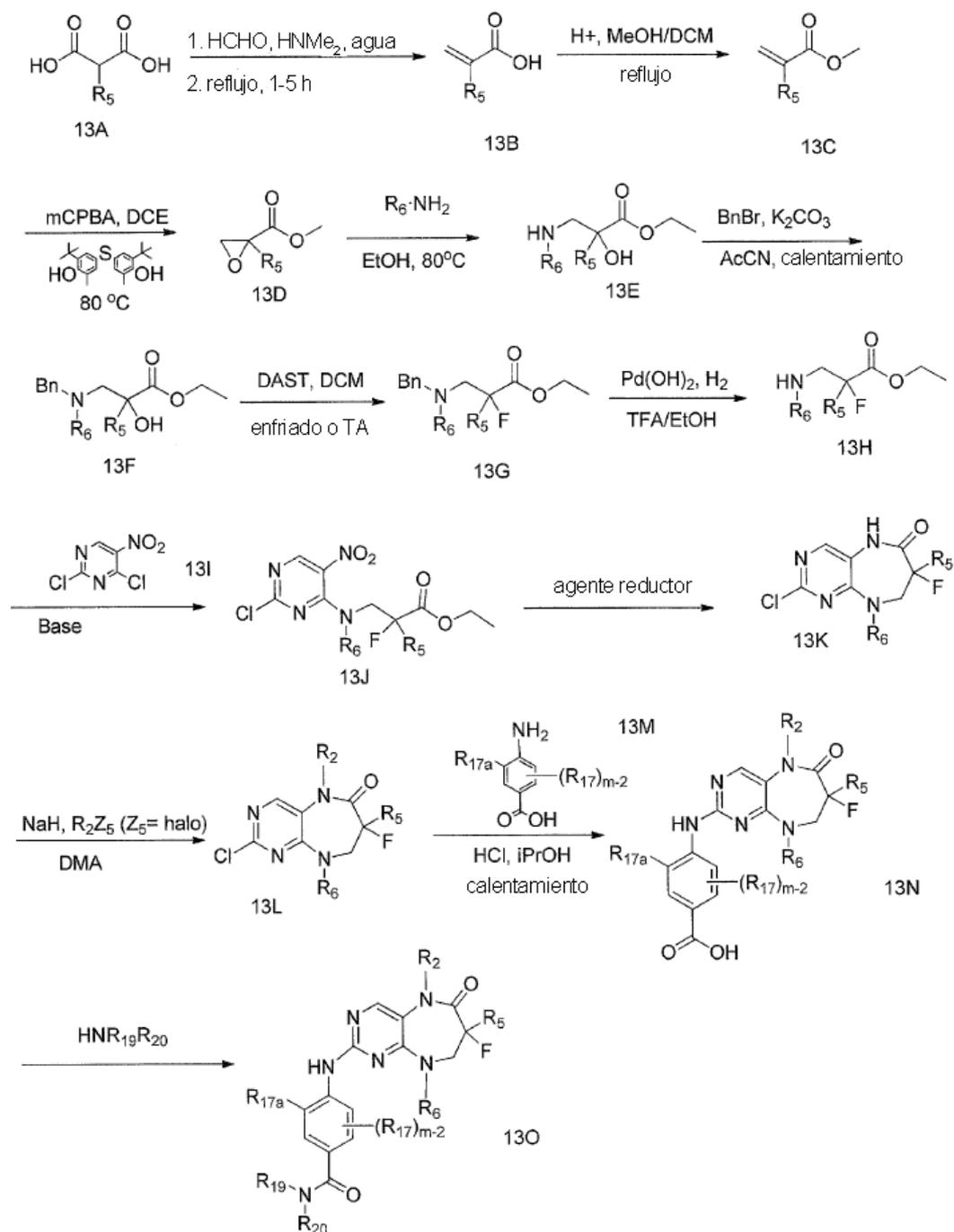
Haciendo referencia al esquema 11, en el que  $R_{19}$  y  $R_{20}$  son tal como se definieron anteriormente para  $R_{25}$  y  $R_{26}$ , el compuesto 7M se somete a O-alkilación usando un agente alquilante (es decir, yoduro de metilo) para proporcionar el compuesto 11A.

Esquema 12:



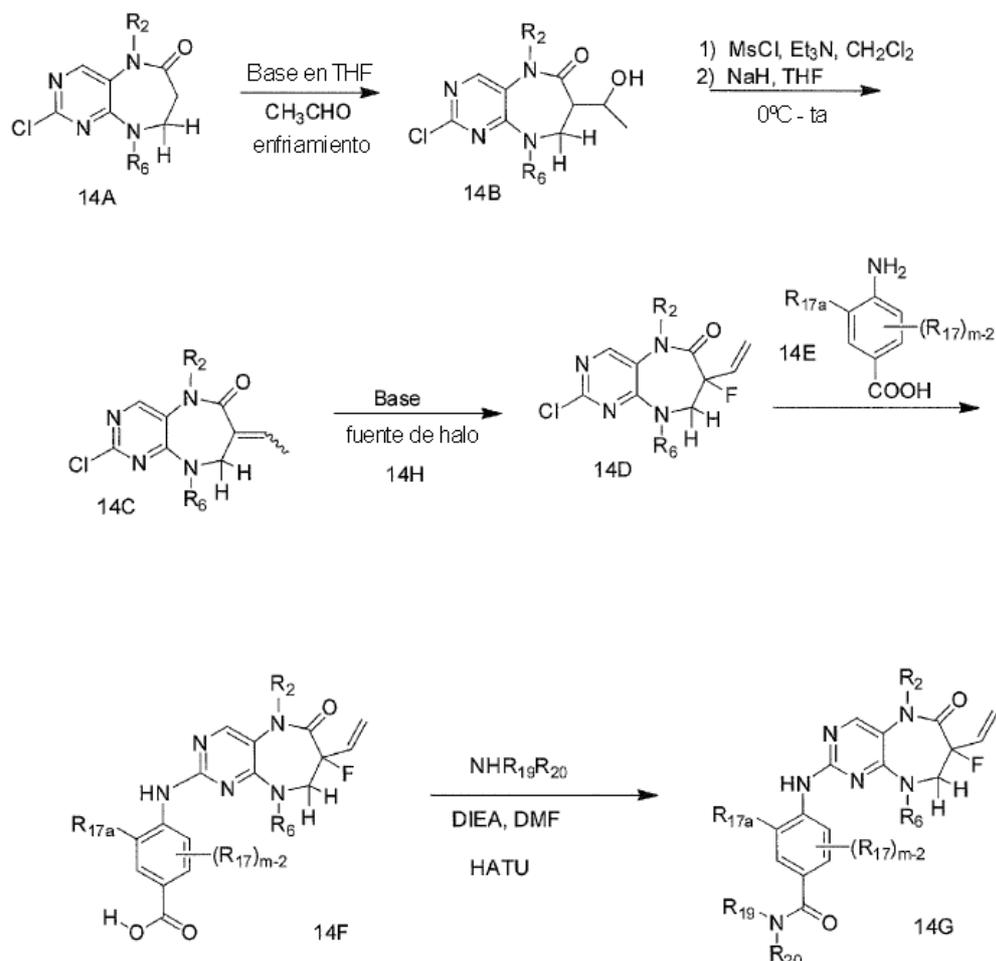
- Haciendo referencia al esquema 12, en el que  $R_{19}$  y  $R_{20}$  son tal como se definieron anteriormente para  $R_{25}$  y  $R_{26}$ , el compuesto 12A se alquila con un agente alquilante (es decir, yodometano) en presencia de una base fuerte (es decir, NaH al 60% en aceite mineral) para obtener el compuesto 12B, que se reduce para dar su amina 12C mediante hidrogenación en presencia de un catalizador (es decir, Rh-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) en medio básico, NH<sub>3</sub> en etanol. El compuesto 12C se somete a aminación reductora con un aldehído o una cetona (es decir, ciclopentanona o ciclohexanona) en presencia de triacetoxiborohidruro de sodio y acetato de sodio para proporcionar 12D. El compuesto 12D se somete a reacción de S<sub>N</sub>Ar con 12E (es decir, 2,4-dicloro-5-nitropirimidina) en presencia de una base (es decir, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) para proporcionar el compuesto 12F, que con ciclación reductora usando un catalizador de metal/ácido en ácido acético (es decir, Fe/HCl o Sn/HCl) obtiene el compuesto 12G. El compuesto 12G se alquila con un haluro de alquilo (es decir, yodometano) para obtener el compuesto 12H. El compuesto 12H se somete a reflujo con el compuesto 12I en presencia de un catalizador ácido (es decir, HCl conc. o TsOH) en isopropanol para obtener el compuesto 12J, que se acopla con una amina (es decir, metilamina o 1-metilpiperidin-4-amina) usando reactivos de acoplamiento apropiados (es decir, HATU, TBTU etc.) para dar el compuesto 12K.

Esquema 13:



Haciendo referencia al esquema 13, en el que  $R_{19}$  y  $R_{20}$  son tal como se definieron anteriormente para  $R_{25}$  y  $R_{26}$ , 13B puede prepararse con tratamiento de 13A con formaldehído y dimetilamina en condiciones de refujo. Tras la conversión de 13B para dar el éster metílico 13C, se oxida el doble enlace para dar un epóxido 13D, que se transforma en amino-alcohol 13E con alquilamina. El grupo hidroxilo puede convertirse en un fluoruro 13G tras proteger el secundario con un grupo bencilo. 13G se desprotege mediante hidrogenación catalítica para dar 13H, que se trata adicionalmente con 13I en presencia de base para dar 13J. Tras la reducción del grupo nitro con un agente reductor en condiciones de calentamiento ácido, el compuesto 13K puede obtenerse fácilmente. El compuesto 13L se prepara mediante N-alquilación del compuesto 13K con  $R_2\text{-Z}_4$  (es decir, yodometano). El compuesto 13L se trata con anilina o bencilamina en presencia de una cantidad catalítica de ácido (es decir, HCl conc. o cloruro de piridinio) para obtener el compuesto 13N. Se lleva a cabo la reacción de acoplamiento del compuesto 13N con amina (es decir, metilamina o 1-metilpiperidin-4-amina) usando reactivos de acoplamiento apropiados (es decir, HATU, TBTU etc.) para dar el compuesto 13O.

Esquema 14:



- 5 Haciendo referencia al esquema 14, en el que R<sub>19</sub> y R<sub>20</sub> son tal como se definieron anteriormente para R<sub>25</sub> y R<sub>26</sub>, el compuesto 14A se trata con acetaldehído en presencia de base (es decir LDA) para dar 14B. Entonces se mesila el grupo hidroxilo en 14B a baja temperatura seguido por tratamiento con base (es decir NaH) para producir el producto eliminado, compuesto 14C. En condiciones de enfriamiento, el compuesto 14C se hace reaccionar adicionalmente con una fuente de halógeno 14H (por ejemplo, N-fluorobencenesulfonamida) en presencia de base tal como LDA para dar fluoruro de vinilo 14D, compuesto 14D. El compuesto 14D se somete a refujo con el compuesto 14E en presencia de un catalizador ácido (es decir, HCl conc. o TsOH) en isopropanol para obtener el compuesto 14F, que se acopla con una amina (es decir, metilamina o 1-metilpiperidin-4-amina) usando reactivos de acoplamiento apropiados (es decir, HATU, TBTU etc.) para dar el compuesto 14G.

- 15 Pueden separarse y purificarse componentes quirales usando cualquiera de una variedad de técnicas conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, pueden purificarse componentes quirales usando cromatografía de fluido supercrítico (SFC). En una variación particular, se realizan análisis de SFC/EM analítica quiral usando un sistema de SFC analítico Berger (AutoChem, Newark, DE) que consiste en un módulo de control de fluido de doble bomba de SFC Berger con una bomba de fluido supercrítico Berger FCM 1100/1200 y una bomba de fluido modificadora FCM 1200, un horno Berger TCM 2000, y un inyector automático Alcott 718. El sistema integrado puede controlarse mediante el software BI-SFC Chemstation versión 3.4. La detección puede lograrse con un detector Waters ZQ 2000 que se hace funcionar en modo positivo con una interfaz de ESI y un intervalo de barrido de desde 200-800 Da con 0,5 segundos por barrido. Pueden realizarse separaciones cromatográficas con una columna ChiralPak AD-H, ChiralPak AS-H, ChiralCel OD-H o ChiralCel OJ-H (5 μ, 4,6 x 250 mm; Chiral Technologies, Inc. West Chester, PA) con metanol a del 10 al 40% como modificador y con o sin acetato de amonio (10 mM). Puede usarse cualquiera de una variedad de velocidades de flujo incluyendo, por ejemplo, 1,5 ó 3,5 ml/min con una presión de entrada fijada a 100 bares. Adicionalmente, puede usarse una variedad de condiciones de inyección de muestra incluyendo, por ejemplo, inyecciones de muestra de o bien 5 o bien 10 μl en metanol a una concentración de 0,1 mg/ml.

- 30 En otra variación, se realizan separaciones quirales preparativas usando un sistema de purificación por SFC Berger MultiGram II. Por ejemplo, pueden cargarse muestras en una columna ChiralPak AD (21 x 250 mm, 10 μ). En variaciones particulares, la velocidad de flujo para la separación puede ser de 70 ml/min, el volumen de inyección de

hasta 2 ml, y la presión de entrada fijada a 130 bares. Pueden aplicarse inyecciones apiladas para aumentar la eficacia.

5 En cada uno de los procedimientos o esquemas de reacción anteriores, los diversos sustituyentes pueden seleccionarse de los diversos sustituyentes enseñados de otro modo en el presente documento.

En el presente documento se exponen descripciones de las síntesis de compuestos particulares según la presente invención basándose en el esquema de reacción anterior.

#### 10 Ejemplos de inhibidores de cinasa

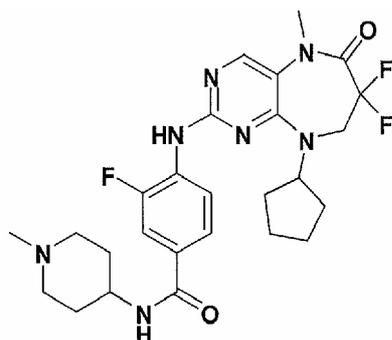
La presente invención se muestra a modo del ejemplo adicionalmente, pero no se limita, mediante los siguientes ejemplos que describen la síntesis de compuestos particulares según la invención.

#### 15 *Procedimiento general para la síntesis de enlace amida*

A una mezcla de ácido carboxílico (0,2 mmol), amina (0,3 mmol), DIEA (0,054 ml, 0,3 mmol) en 3 ml de DMF anhidra se le añadió HATU (114 mg, 0,3 mmol). Tras 30 minutos o bien se purificó directamente la mezcla de reacción mediante HPLC o bien se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera, después se secó la fase orgánica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se purificó con HPLC. Entonces se convirtió la sal de TFA obtenida en su base libre mediante lavado con disolución sat. de NaHCO<sub>3</sub>.

20 Compuesto 22: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluoro-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida

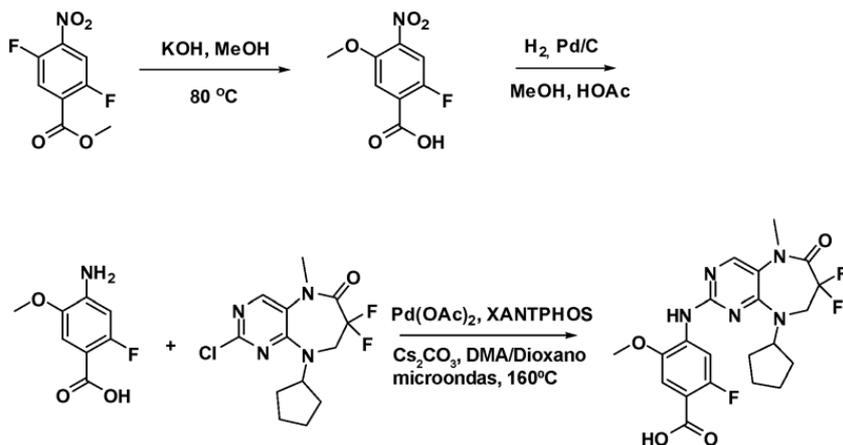
25



30 Se sintetizó el compuesto del título a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluorobenzoico tal como se describe en el procedimiento general para la síntesis de enlace amida usando HATU y 1-metilpiperidin-4-amina. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,50-1,75 (m, 12 H) 1,99 (m, 3 H) 2,19 (s, 3 H) 2,79 (m, 2 H) 3,74 (m, 1 H) 4,01 (t, J=14,0 Hz, 2 H) 4,68 (m, 1 H) 7,67 (d, J=8,6 Hz, 1 H) 7,72 (d, J=12,4 Hz, 1 H) 7,99 (t, J=8,2 Hz, 1 H) 8,20 (d, J=7,3 Hz, 1 H) 8,23 (s, 1 H) 9,08 (s, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub>, 532; hallado 532.

35

Compuesto 31: Ácido 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico

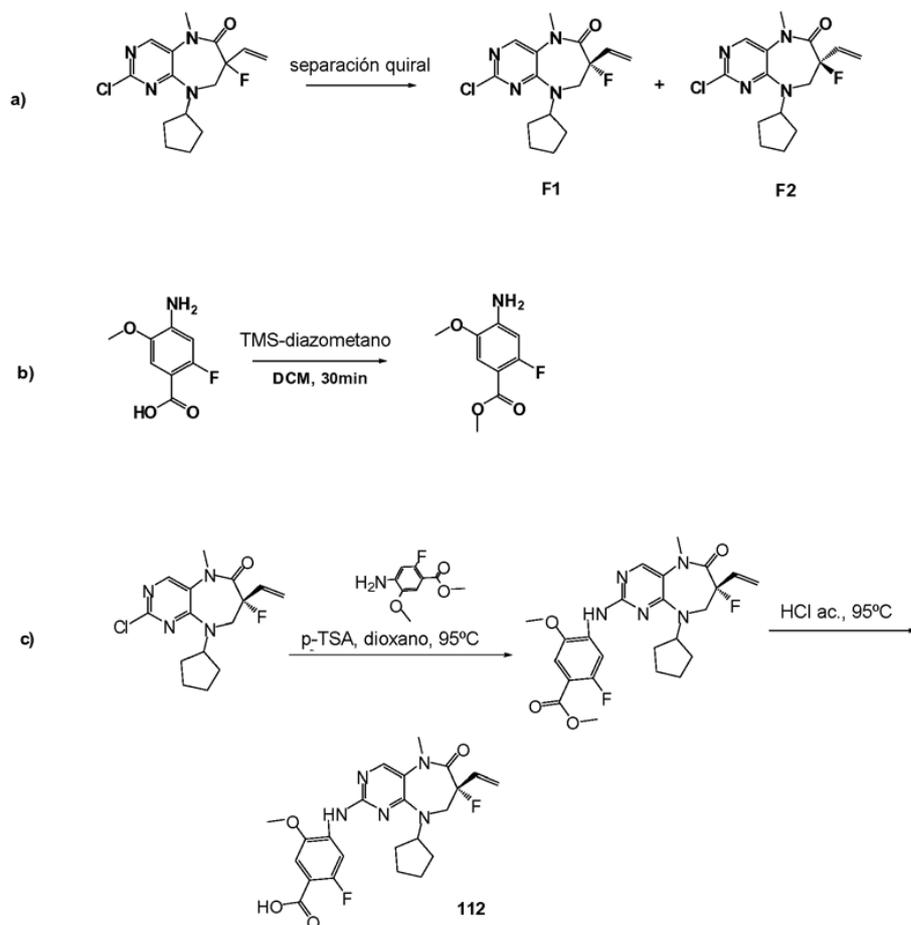


5      Ácido 2-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzoico: A una disolución de 2,5-difluoro-4-nitrobenzoato de metil (10 g, 46 mmol) en metanol (100 ml) se le añadió hidróxido de potasio (7,73 g, 184 mmol) en dos lotes. Se agitó la mezcla de reacción en un baño de aceite a 80°C durante 1 h. Entonces se concentró, se acidificó con HCl. Se filtró el sólido, se lavó con agua y se secó para dar el producto como polvo amarillo claro (10 g, rendimiento cuantitativo). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 3,95 (s, 3 H) 7,66 (d, *J* = 4 Hz, 1 H) 8,01 (d, *J* = 8 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>FNO<sub>5</sub>, 216; hallado 216.

10     Ácido 4-amino-2-fluoro-5-metoxibenzoico: Se hidrogenó una disolución de ácido 2-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzoico (10 g, 46 mmol), HOAc (50 ml) y MeOH (50 ml) usando un globo de hidrógeno durante la noche. Entonces se filtró la disolución a través de Celite y se concentró para dar un residuo, que se trituroó con éter y acetato de etilo. Se filtró el sólido y se secó para dar el producto como polvo amarillo claro (8,3 g, 98%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 3,76 (s, 3 H) 5,88 (s. a., 2 H) 6,36 (d, *J* = 16 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J* = 8 Hz, 1 H) 12,32 (s. a., 1 H). [M+H] calculado para C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>FNO<sub>3</sub>, 186; hallado 186.

15     Ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico: Se llevaron a cabo once lotes de las mismas reacciones a escala de la siguiente manera: Se disolvió una mezcla de la cloropirimidina (1,1 g, 3,48 mmol), ácido 4-amino-2-fluoro-5-metoxibenzoico (676 mg, 3,65 mmol), el catalizador Pd(OAc)<sub>2</sub> (78 mg, 0,35 mmol), el ligando XANTPHOS (405 mg, 0,7 mmol) y Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4,5 g, 13,9 mmol) en dioxano y N,N-dimetilacetamida (1:3, 5 ml/15 ml, 0,2 M). Se sometió la mezcla de reacción a reacción con microondas a 160°C durante 15 min. Se combinaron los once lotes de mezclas de reacción y se vertieron en agua con hielo, se filtraron a través de Celite. Se acidificó el filtrado acuoso con HCl cuidadosamente y se agitó a ta durante 2 h. Después de eso, se filtró el sólido, se lavó con agua. Entonces se disolvió el sólido oscuro en una cantidad mínima de metanol, se trituroó con acetato de etilo y éter y se concentró para dar una suspensión espesa que se filtró y se lavó con éter para dar un sólido de color tostado claro (8,5 g). Entonces se concentró el filtrado y se trituroó de nuevo para dar un segundo lote de sólido (2,5 g). Se purificó el filtrado final mediante HPLC preparativa para dar otros 500 mg de producto. El rendimiento total fue de 11,5 g (65%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,61 (m, 3H) 1,73 (m, 2H) 1,84 - 2,04 (m, 3H) 3,34 (s, 2H) 3,85 - 3,99 (m, 3H) 4,12 (t, *J*=113,8 Hz, 2 H) 4,84 (d, *J*=8,1 Hz, 2 H) 7,38 (d, *J*=6,8 Hz, 1 H) 8,27 (d, *J*=13,6 Hz, 1 H) 8,33 (s, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>, 466; hallado 466.

30     Compuesto 112: Ácido (R)-4-(9-ciclopentil-7-fluoro-5-metil-6-oxo-7-vinil-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin- 2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico



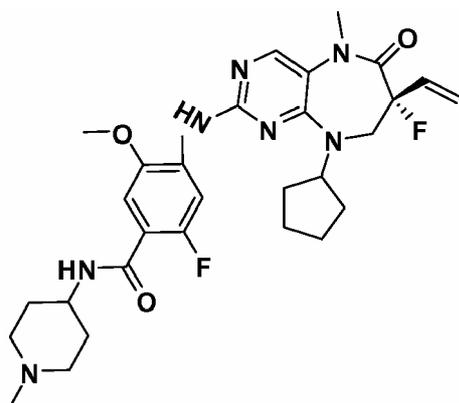
(R)- y (S)-2-cloro-9-ciclopentil-7-fluoro-5-metil-7-vinil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona: Se sintetizó la forma racémica de los compuestos del título a partir de cloro-9-ciclopentil-7-(1-hidroxietil)-5- metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona tal como se describe en el procedimiento general. Se separaron los enantiómeros usando SFC (CHIRAPAK AS 50 mm de D.I. x 500 mmL, fase móvil: n-hexano/2-propanol = 900/100 v/v). La fracción 1 (F1) fue (R)-2-cloro-9-ciclopentil-7-fluoro-5-metil-7-vinil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona. Se separó el compuesto ácido 4-(9-ciclopentil-7-fluoro-5-metil-6-oxo-7-vinil-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4] diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico en sus enantiómeros usando SFC (ChiralPak OD-H en CO<sub>2</sub> supercrítico). Se determinó la quiralidad absoluta mediante co-cristalización de uno de los componentes enantioméricos tras conversión en una amida con enzima PLK1. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,48 - 1,79 (m, 8 H) 1,81 - 1,99 (m, 2 H) 3,30 (s, 3 H) 3,77 - 3,95 (m, 2 H) 4,83 (quin, J=8,27 Hz, 1 H) 5,32 - 5,52 (m, 2 H) 6,0 (ddd, J=17,43, 12,38, 11,12 Hz, 1 H) 8,21 (s, 1 H) [M+H] calculado para C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>ClFN<sub>4</sub>O 325; hallado 325. La fracción 2 (F2) fue (S)-2-cloro-9-ciclopentil-7-fluoro-5-metil-7-vinil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,48 - 1,79 (m, 8 H) 1,81 - 1,99 (m, 2 H) 3,30 (s, 3 H) 3,77 - 3,95 (m, 2 H) 4,83 (quin, J=8,27 Hz, 1 H) 5,32 - 5,52 (m, 2 H) 6,01 (ddd, J= 17,43, 12,38, 11,12 Hz, 1 H) 8,21 (s, 1 H) [M+H] calculado para C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>ClFN<sub>4</sub>O 325; hallado 325.

4-Amino-2-fluoro-5-metoxibenzoato de metilo: A una cantidad de ácido 4-amino-2-fluoro-5-metoxibenzoico (4 g, 21,62 mmol) que se disolvió en DCM (40 ml) y MeOH (1 ml), se le añadió TMS-diazometano (16,2 ml, 32,43 mmol) lentamente. Se agitó la mezcla a ta durante 30 min. Tras la eliminación del disolvente, se llevó el sólido de color tostado resultante (4,0 g, el 93%) a la siguiente reacción sin purificación. [M+H] calculado para C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>FNO<sub>3</sub>, 200; hallado 200.

(R)-4-(9-Ciclopentil-7-fluoro-5-metil-6-oxo-7-vinil-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoato de metilo: Se disolvió una mezcla de (R)-2-cloro-9-ciclopentil-7-fluoro-5-metil-7-vinil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (1,0 g, 3,086 mmol) y 4-amino-2-fluoro-5-metoxibenzoato de metilo (3,07 g, 15,43 mmol) en dioxano (20 ml), y se añadió ácido p-toluenosulfónico, monohidratado (2,99 g, 15,74 mmol). Se agitó la mezcla a 95°C durante 24-48 h. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa para dar 400 mg de producto como sólido blanco (40%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,48 - 1,82 (m, 4 H) 1,93-1,98 (m, 4 H) 3,29 (s, 3 H) 3,51 (s. a., 2 H) 3,61 (m, 3 H), 3,86 (m, 3 H) 3,94 (s, 3 H) 4,88 (t, J=8,08 Hz, 1 H) 5,30 - 5,47 (m, 2 H) 6,01 (ddd, J=17,43, 12,63, 10,86 Hz, 1 H) 7,41 - 7,57 (m, 1 H) 7,82 (s, 1 H) 8,12 (s, 1 H) 8,31 (d, J=8,08 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>, 488; hallado 488.

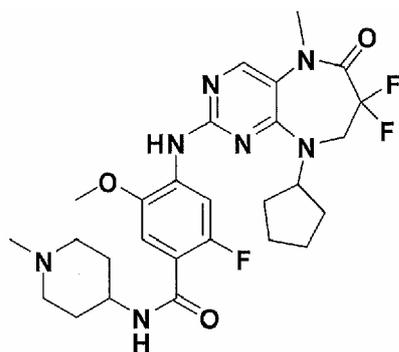
Ácido (R)-4-(9-ciclopentil-7-fluoro-5-metil-6-oxo-7-vinil-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico: Se suspendió una mezcla de (R)-4-(9-ciclopentil-7-fluoro-5-metil-6-oxo-7-vinil-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoato de metilo (400 mg, 0,821 mmol) en HCl conc. (1,0 ml) y se agitó a 95°C durante 3-4 h. En este momento se enfrió la reacción hasta temperatura ambiente y se filtró para revelar el producto como un sólido de color tostado (295 mg, el 77%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,48 - 1,82 (m, 4 H) 1,98-2,02 (m, 4 H) 3,29 (s, 3 H) 3,51 (s. a., 2 H) 3,94 (s, 3 H) 4,88 (t, J=8,08 Hz, 1 H) 5,30 - 5,47 (m, 2 H) 6,01 (ddd, J=17,43, 12,63, 10,86 Hz, 1 H) 7,41 - 7,57 (m, 1 H) 7,82 (s, 1 H) 8,12 (s, 1 H) 8,31 (d, J=8,08 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>F<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>, 474; hallado 474.

Compuesto 113: (R)-4-(9-ciclopentil-7-fluoro-5-metil-6-oxo-7-vinil-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida



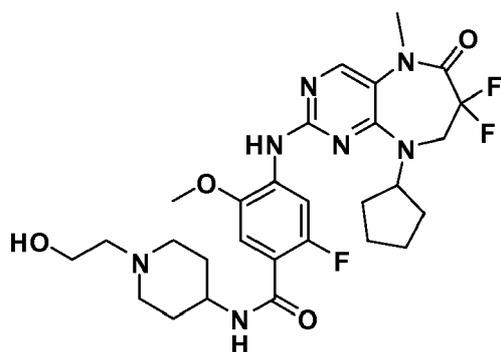
Se sintetizó el compuesto del título a partir de ácido (R)-4-(9-ciclopentil-7-fluoro-5-metil-6-oxo-7-vinil-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico tal como se describe en el procedimiento general para la síntesis de enlace amida usando HATU y 4-amino-1-metilpiperidina. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ ppm 1,19 - 1,90 (m, 8 H) 2,05 (dd, J=4,29, 1,52 Hz, 4 H) 2,16 - 2,28 (m, 2 H) 2,34 (s, 3 H) 2,83 (s. a., 2 H) 3,39 (s, 3 H) 3,69 - 3,89 (m, 2 H) 3,96 (s, 3 H) 4,00 - 4,10 (m, 1 H) 4,97 (quin, J=8,46 Hz, 1 H) 5,37 (d, J=11,12 Hz, 1 H) 5,50 (dd, J=17,30, 1,89 Hz, 1 H) 6,02 (ddd, J=17,30, 14,53, 10,86 Hz, 1 H) 6,67 (d, J=7,07 Hz, 1 H) 7,56 (d, J=7,07 Hz, 1 H) 7,76 (s, 1 H) 7,96 (s, 1 H) 8,37 (d, J=15,16 Hz, 1 H), [M+H] calculado para C<sub>29</sub>H<sub>37</sub>F<sub>2</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub> 570; hallado 570.

Compuesto 116: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida



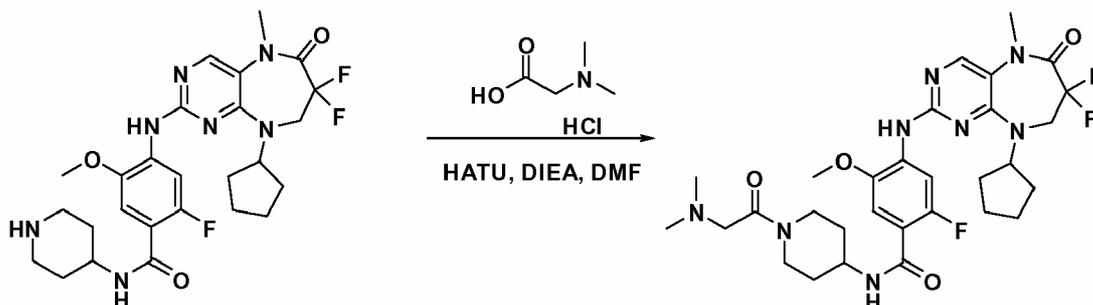
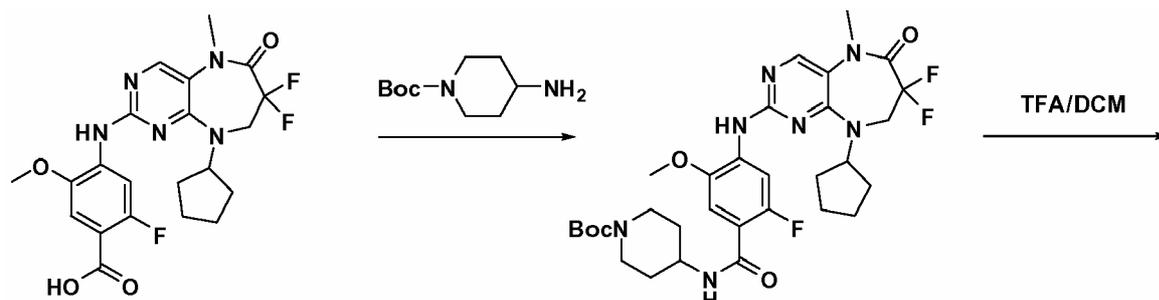
Se sintetizó el compuesto del título a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico y 1-metilpiperidin-4-amina tal como se describe en el procedimiento general para la síntesis de enlace amida. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,60-1,73 (m, 11 H), 1,88 - 2,21 (m, 8 H) 2,78 (s. a., 2 H) 3,73 (s. a., 1 H) 3,91 (s, 3 H) 4,08 (t, J=13,8 Hz, 2 H) 4,81 (d, J=8,1 Hz, 1 H) 7,18 (d, J=6,6 Hz, 1 H) 7,91 (s. a., 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,24 (d, J=113,4 Hz, 1 H) 8,30 (s, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 562; hallado 562.

Compuesto 117: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-N-(1-(2-hidroxietil)piperidin-4-il)-5-metoxibenzamida



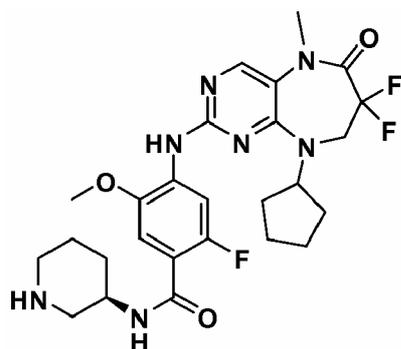
Se sintetizó el compuesto del título a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico y 2-(4-aminopiperidin-1-il)etanol tal como se describe en el procedimiento general para la síntesis de enlace amida. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre.  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,40 - 1,86 (m, 12 H) 1,88 - 2,10 (m, 5 H) 2,33 - 2,42 (m, 2 H) 2,84 (d,  $J=11,4$  Hz, 2 H) 3,48 (q,  $J=6,2$  Hz, 2 H) 3,73 (d,  $J=4,6$  Hz, 1 H) 4,08 (t,  $J=14,0$  Hz, 2 H) 4,37 (t,  $J=5,4$  Hz, 1 H) 4,82 (t,  $J=8,2$  Hz, 1 H) 7,18 (d,  $J=6,6$  Hz, 1 H) 7,90 (dd,  $J=7,7$ , 3,4 Hz, 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,18 - 8,34 (m, 2 H).  $[\text{M}+\text{H}]$  calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{N}_7\text{O}_4$ , 592; hallado 592.

Compuesto 118: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-(2-(dimetilamino)acetil)piperidin-4-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida



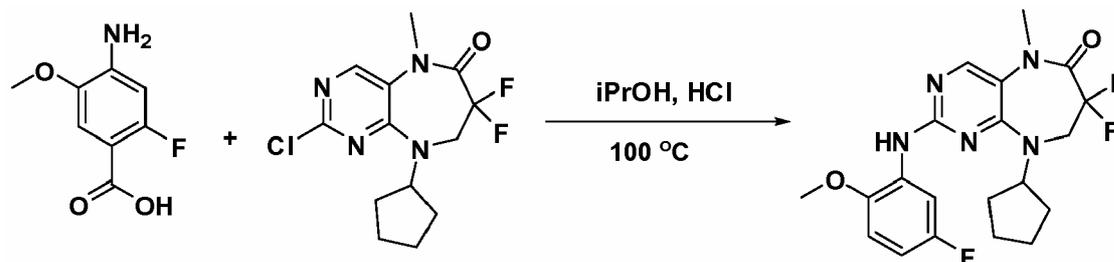
Usando el procedimiento general para la síntesis de enlace amida, en primer lugar se hizo reaccionar ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico con 4-aminopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo. Se diluyó el producto en acetato de etilo, se lavó con disolución acuosa de bicarbonato de sodio y salmuera. Se secó el extracto orgánico y se concentró para dar un residuo. Entonces se disolvió en una mezcla de TFA y MeOH (1:1) y se agitó durante 1 h. Después de eso, se concentró a vacío, se separó entre acetato de etilo y disolución acuosa de bicarbonato de sodio. Se secó el extracto orgánico y se concentró para dar un residuo, que se sometió a síntesis de enlace amida con ácido 2-(dimetilamino)acético. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre.  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,38 (m, 2 H) 1,61 (m, 4 H) 1,73 (s. a., 4 H) 1,99 (s, 3 H) 2,19 (s, 6H) 2,73 (m, 1H) 3,14 (m, 3H) 3,80 - 3,95 (m, 3H) 3,95 - 4,20 (m, 4H) 4,26 (m., 1H) 4,81 (d,  $J=8,1$  Hz, 1 H) 7,19 (d,  $J=6,8$  Hz, 1 H) 7,92 - 8,10 (m, 2 H) 8,18 - 8,35 (m, 2 H).  $[\text{M}+\text{H}]$  calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_4$ , 633; hallado 633.

Compuesto 119: (R)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(piperidin-3-il)benzamida



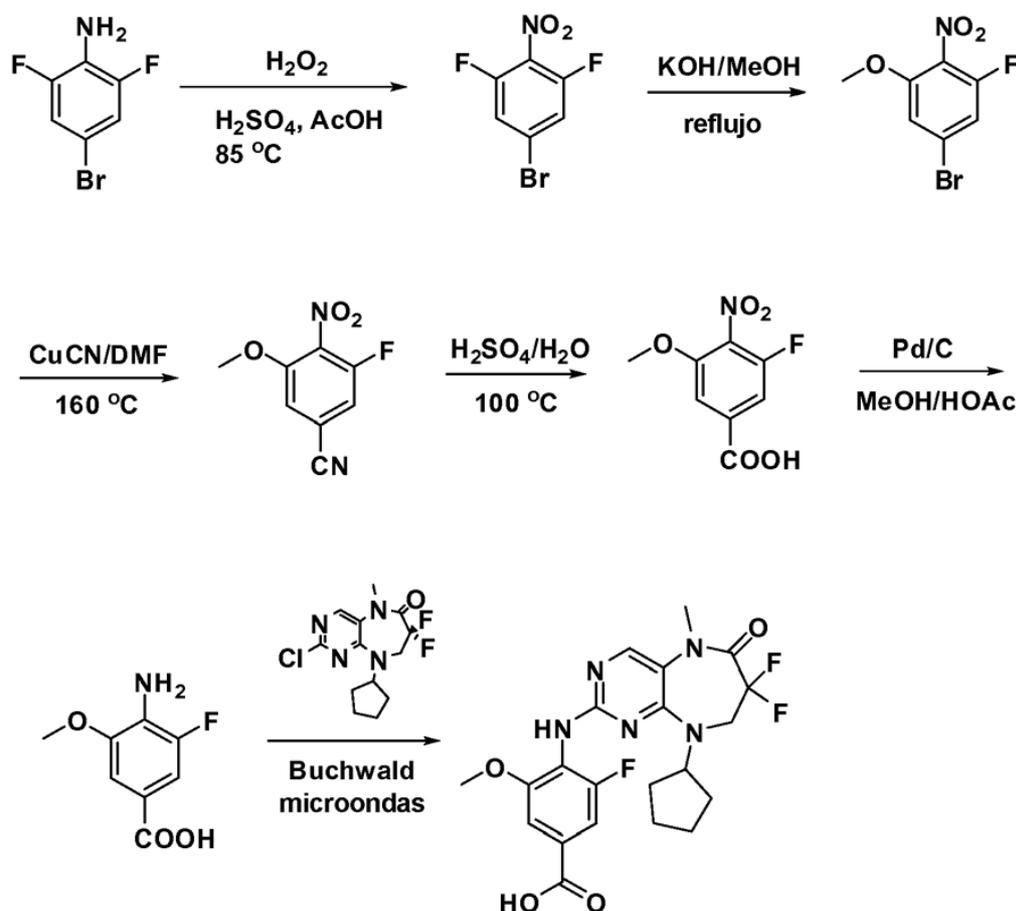
5 Se sintetizó el compuesto del título a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico y (R)-3-aminopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo tal como se describe en el procedimiento general para la síntesis de enlace amida. Entonces se desprotegió el grupo Boc usando TFA. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,47 (m, 3 H) 1,61 (m, 9 H) 1,99 (s, 3 H) 2,73 (m, 1 H) 2,93 (m, 1 H) 3,92 (s, 4 H) 4,01 - 4,20 (t, J=14 Hz, 2 H) 4,82 (m, 1 H) 7,24 (d, J=6,8 Hz, 1 H) 7,71 - 7,90 (m, 1 H) 8,05 (s, 1 H) 8,14 - 8,38 (m, 2 H). [M+H] calculado para C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 548; hallado 548.

Compuesto 120: 9-Ciclopentil-7,7-difluoro-2-(5-fluoro-2-metoxifenilamino)-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona



15 El compuesto del título fue un subproducto de la reacción entre la cloropirimidina y ácido 4-amino-2-fluoro-5-metoxibenzoico cuando se calentaron en disolución de isopropanol en presencia de cantidad catalítica de HCl concentrado a 100°C. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,26 (d, J=6,3 Hz, 2 H) 1,57 (m, 4 H) 1,70 (m, 2 H) 1,92 (m, 2 H) 3,80 - 3,93 (m, 3 H) 4,05 (t, J=13,9 Hz, 2 H) 4,62 - 4,85 (m, 1 H) 6,76 (td, J=8,5, 2,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, J=8,8, 5,3 Hz, 1 H) 7,91 (s, 1 H) 8,11 (dd, J=11,4, 2,8 Hz, 1 H) 8,26 (s, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>, 422; hallado 422.

25 Compuesto 121: Ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluoro-5-metoxibenzoico



5-Bromo-1,3-difluoro-2-nitrobenzene: A una mezcla de ácido acético (30 ml),  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% (20 ml) y ácido sulfúrico concentrado (1 ml) se le añadió 1-bromo-2,6-difluoroanilina (5 g, 24 mmol) en ácido acético (10 ml) gota a gota a  $85^\circ\text{C}$ . Se calentó la mezcla de reacción durante 1 h. Entonces se enfrió, se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica y se concentró para dar un residuo rojo, que se purificó mediante columna ultrarrápida (EtOAc en hexano al 2-5%) para dar el producto como sólido amarillo (2,7 g, el 47%).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, cloroformo-d)  $\delta$  ppm 7,33 (m, 2 H).

5-Bromo-1-fluoro-3-metoxi-2-nitrobenzene: A una disolución de 5-bromo-1,3-difluoro-2-nitrobenzene (2,7 g, 11,3 mmol) en metanol (20 ml) se le añadió hidróxido de potasio (680 mg, 12 mmol). Se sometió la mezcla de reacción a reflujo a  $90^\circ\text{C}$  durante 1 h. Entonces se concentró, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. Entonces se purificó la mezcla mediante columna ultrarrápida para dar el producto como aceite rojo (1,8 g, 63%).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, cloroformo-d)  $\delta$  ppm 3,94 (s, 3 H) 7,01 (s, 1 H) 7,04 (d,  $J = 8$  Hz, 1 H).

3-Fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzonitrilo: Se calentó una mezcla de 5-bromo-1-fluoro-3-metoxi-2-nitrobenzene (1,5 g, 6 mmol), y  $\text{CuCN}$  (698 mg, 7,8 mmol) en 10 ml de DMF en un tubo sellado a  $160^\circ\text{C}$  durante la noche. Entonces se enfrió, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera y agua. Se lavó el extracto orgánico y se concentró para dar un sólido rojo (1 g, el 85%) que se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, cloroformo-d)  $\delta$  ppm 4,01 (s, 3 H) 7,14 (s, 1 H) 7,17 (d,  $J = 8$  Hz, 1 H).

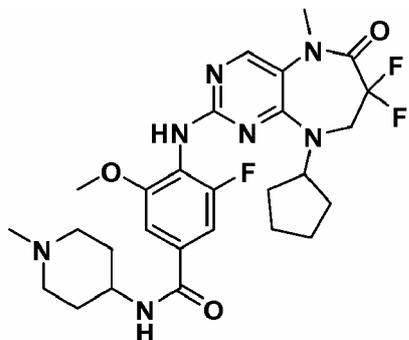
Ácido 3-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzoico. Se calentó una suspensión de 3-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzonitrilo (940 mg, 4,8 mmol) en una mezcla de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado y agua (2 ml/2 ml) a  $100^\circ\text{C}$  durante la noche. Entonces se enfrió la mezcla de reacción, se filtró el sólido y se secó para dar el producto como sólido marrón (770 mg, el 75%).

Ácido 4-amino-3-fluoro-5-metoxibenzoico. Se hidrogenó una disolución de ácido 3-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzoico (obtenido anteriormente), HOAc (5 ml) y MeOH (5 ml) usando un globo de hidrógeno durante la noche. Entonces se filtró la disolución a través de Celite y se concentró para dar un sólido rojo (590 mg, el 66%).  $[\text{M}+\text{H}]$  calculado para  $\text{C}_8\text{H}_8\text{FNO}_3$ , 186; hallado 186.

Ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluoro-5-metoxibenzoico: Se disolvió una mezcla de la cloropirimidina (158 mg, 0,5 mmol), ácido 4-amino-3-fluoro-5-metoxibenzoico (139 mg, 0,75 mmol), el catalizador  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (12 mg, 0,05 mmol), el ligando XANTPHOS (58 mg, 0,1 mmol) y  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (652 mg, 2 mmol) en dioxano y N,N-dimetilacetamida (1 ml/1 ml). Se sometió la mezcla de

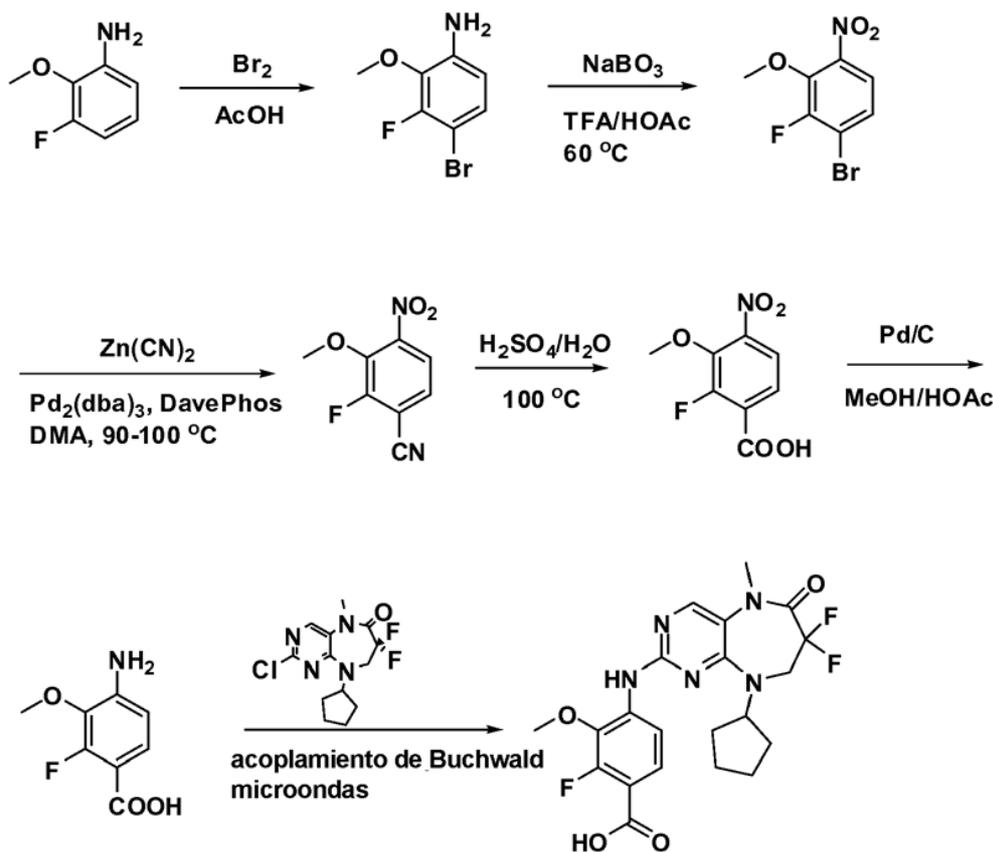
reacción a reacción con microondas a 160°C durante 30 min. Entonces se vertió en agua con hielo, se filtró a través de Celite. Se acidificó el filtrado acuoso con HCl y se extrajo con acetato de etilo. Se lavó el extracto orgánico y se concentró para dar un residuo que se purificó mediante HPLC de fase inversa (68 mg, el 30%). [M+H] calculado para  $C_{21}H_{22}F_3N_5O_4$ , 46, hallado 466.

5 Compuesto 122: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida



10 Se sintetizó el compuesto del título a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluoro-5-metoxibenzoico y 1-metilpiperidin-4-amina tal como se describe en el procedimiento general para la síntesis de enlace amida. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre.  $^1H$ -RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,33 (m, 4 H) 1,58 (d,  $J=14,4$  Hz, 6 H) 1,75 (m, 2 H) 1,93 (m, 2 H) 1,99 (s, 1 H) 2,16 (s, 3 H) 2,78 (d,  $J=10,6$  Hz, 2 H) 3,29 (s, 3 H) 3,83 (s, 2 H) 3,89 - 4,01 (t,  $J=12$  Hz, 2 H) 4,32 (m, 1 H) 7,24 - 7,48 (m, 2 H) 8,10 (s, 1 H) 8,26 (d,  $J=7,6$  Hz, 1 H) 8,53 (s, 1 H). [M+H] calculado para  $C_{27}H_{34}F_3N_7O_3$ , 562; hallado 562.

20 Compuesto 123: Ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-3-metoxibenzoico



25 4-Bromo-3-fluoro-2-metoxianilina: A 3-fluoro-2-metoxianilina (2,8 g, 20 mmol) en 10 ml de ácido acético se le añadió bromo (0,82 ml, 16 mmol) en ácido acético (10 ml) gota a gota. Se agitó la mezcla de reacción a ta durante 30 min.

Se filtró el sólido y se lavó con ácido acético para dar la sal de HBr. Entonces se disolvió en agua, se basificó mediante adición de KOH, se extrajo con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica y se concentró para dar un sólido blanco (2,8 g, 80 %).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, cloroformo-*d*)  $\delta$  ppm 3,93 (s, 3 H) 6,42 (dd,  $J=8,6$ , 1,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd,  $J=8,6$ , 7,1 Hz, 1 H). [M+H] calculado para  $\text{C}_7\text{H}_7\text{BrFNO}$ , 222; hallado 222.

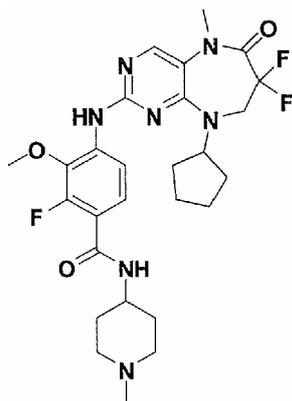
5 1-Bromo-2-fluoro-3-metoxi-4-nitrobenzoceno: A 4-bromo-3-fluoro-2-metoxianilina (1 g, 4,5 mmol) en una mezcla de TFA y ácido acético (10 ml/10 ml) se le añadió perborato de sodio tetrahidratado (3,2 g, 21 mmol). Se calentó la mezcla de reacción hasta 60°C y se calentó durante 24 h. Entonces se diluyó con agua, se extrajo con acetato de etilo. Se obtuvo el producto mediante columna ultrarrápida como un sólido amarillo (450 mg, el 40%).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, cloroformo-*d*)  $\delta$  ppm 4,11 (s, 3 H) 7,40 (dd,  $J=9,0$ , 6,2 Hz, 1 H) 7,54 (dd,  $J=9,0$ , 1,9 Hz, 1H).

15 2-Fluoro-3-metoxi-4-nitrobenzonitrilo: Se agitó una mezcla de 1-bromo-2-fluoro-3-metoxi-4-nitrobenzoceno (250 mg, 1 mmol) y cianuro de zinc (70 mg, 0,6 mmol) en DMA (5 ml) y se purgó con nitrógeno. Se añadieron el catalizador de paladio,  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (92 mg, 0,1 mmol), y el ligando, Davephos (79 mg, 0,2 mmol), y se agitó la mezcla de reacción a 90°C durante la noche. Entonces se enfrió hasta ta, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con salmuera. Se secó la fase orgánica, se concentró y se purificó mediante columna ultrarrápida (EtOAc/Hexano=1:20) para dar 170 mg de producto (87%).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, cloroformo-*d*)  $\delta$  ppm 4,15 (s, 3 H) 7,42 (dd,  $J=9,0$ , 6,2 Hz, 1 H) 7,65 (dd,  $J=9,0$ , 1,9 Hz, 1 H).

20 Ácido 4-amino-2-fluoro-3-metoxibenzoico: Se calentó una disolución de 2-fluoro-3-metoxi-4-nitrobenzonitrilo (170 mg) en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y  $\text{H}_2\text{O}$  (0,5 ml/0,5 ml) a 100°C durante 18 h. Después de eso, se separó entre acetato de etilo y agua. Se secó el extracto orgánico y se concentró para dar un residuo, que entonces se disolvió en una mezcla de metanol y ácido acético (2 ml/2 ml) y se hidrogenó usando un globo de hidrógeno durante la noche. Se filtró la disolución a través de Celite, y se concentró el filtrado para dar un sólido rojo como producto. [M+H] calculado para  $\text{C}_8\text{H}_8\text{FNO}_3$ , 186; hallado 186.

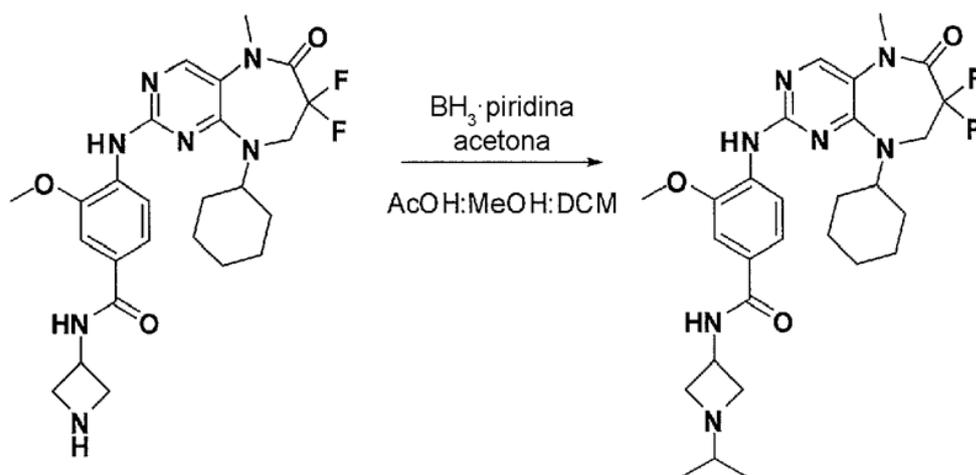
30 Ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-3-metoxibenzoico: Se disolvió una mezcla de la cloropirimidina (145 mg, 0,46 mmol), ácido 4-amino-2-fluoro-3-metoxibenzoico (85 mg, 0,46 mmol), el catalizador  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (11 mg, 0,05 mmol), el ligando XANTPHOS (58 mg, 0,1 mmol) y  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (652 mg, 2 mmol) en dioxano y N,N-dimetilacetamida (1,5 ml/1,5 ml). Se sometió la mezcla de reacción a reacción con microondas a 160°C durante 30 min. Entonces se purgó con agua con hielo, se filtró a través de Celite. Se acidificó el filtrado acuoso con HCl cuidadosamente y se filtró el sólido, se lavó con agua. Entonces se usó el sólido oscuro para el acoplamiento de la siguiente etapa sin purificación adicional [M+H] calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_4$ , 466; hallado 466.

35 Compuesto 124: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-3-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida



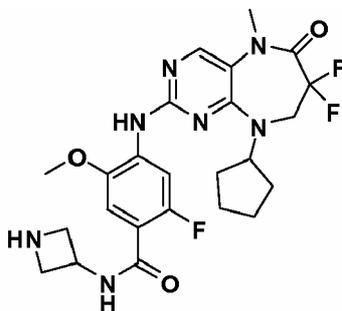
40 Se sintetizó el compuesto del título a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-3-metoxibenzoico y 1-metilpiperidin-4-amina tal como se describe en el procedimiento general para la síntesis de enlace amida. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre.  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm 1,37-1,66 (m, 7H) 1,75 (m, 4H) 1,82-2,04 (m, 4H) 2,15 (m, 3H) 2,66-2,81 (m, 2H) 3,16 (s, 1 H) 3,70 (m, 1 H) 3,90 (s, 3 H) 4,05 (t,  $J=13,8$  Hz, 2 H) 4,77 (m, 1 H) 7,24 (t,  $J=8,1$  Hz, 1 H) 7,96 - 8,13 (m, 2 H) 8,26 (s, 1 H) 8,35 (s, 1 H). [M+H] calculado para  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{F}_3\text{N}_7\text{O}_3$ , 562; hallado 562.

50 Compuesto 125 (referencia): 4-(9-Ciclohexil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-isopropilazetidín-3-il)-3-metoxibenzamida



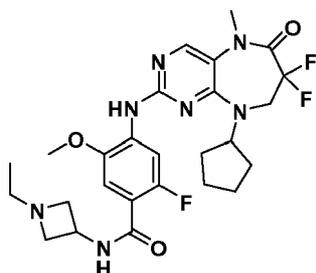
Se sintetizó el compuesto del título mediante solubilización de *N*-(azetidin-3-il)-4-(9-ciclohexil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-pirimido[4,5-*b*][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzamida (33 mg, 0,07 mmol) en ácido acético : metanol : diclorometano (1 ml de 1:2:2) y tratamiento con acetona (58 mg, 1,0 mmol), y borano-piridina (100  $\mu$ l, ~0,8 mmol). Se dejó agitar la reacción durante 3 horas. Se eliminó el disolvente de reacción y se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre (5,7 mg, rendimiento del 16%).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 0,87 (d,  $J=6,06$  Hz, 6 H) 1,48 - 1,78 (m, 8 H) 1,93 (s. a., 2 H) 2,24 - 2,36 (m, 1 H) 2,94 (t,  $J=6,82$  Hz, 2 H) 3,33 (s, 3 H) 3,51 (t,  $J=6,82$  Hz, 2 H) 3,94 (s, 3 H) 4,05 (t,  $J=14,02$  Hz, 2 H) 4,39 (q,  $J=6,99$  Hz, 1 H) 4,70 - 4,83 (m, 1 H) 7,49 (d, 0 H) 7,51 (s, 1 H) 7,98 (s, 1 H) 8,26 (s, 1 H) 8,29 (d, 1 H) 8,61 (d,  $J=6,82$  Hz, 1 H).  $[\text{M}+\text{H}]$  calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{F}_2\text{N}_7\text{O}_3$ , 574; hallado 574.

Compuesto 130: *N*-(azetidin-3-il)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-pirimido[4,5-*b*][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida



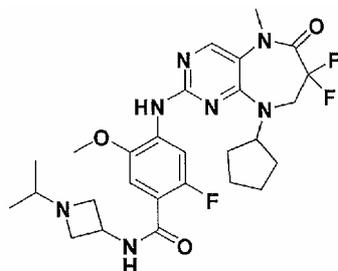
Se sintetizó el compuesto del título a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-pirimido[4,5-*b*][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico tal como se describe en el procedimiento general para la síntesis de enlace amida usando HATU y 3-amino-*N*-Boc-azetidina. Entonces se eliminó el grupo Boc mediante tratamiento con ácido trifluoroacético y diclorometano 1:1 durante 1 hora. En este momento se eliminó el disolvente y se añadieron  $\text{NaHCO}_3$  (sat.) y  $\text{EtOAc}$  al residuo. Se separaron las fases, entonces se secó la fase orgánica sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró, se eliminó el disolvente y se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre.  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,48 - 1,77 (m, 6 H) 1,96 (s. a., 2 H) 3,56 (dd,  $J=7,45, 4,42$  Hz, 4 H) 3,91 (s, 3 H) 4,08 (t,  $J=14,02$  Hz, 2 H) 4,62 - 4,73 (m, 1 H) 4,76 - 4,90 (m, 1 H) 7,20 (d,  $J=6,82$  Hz, 1 H) 8,05 (s, 1 H) 8,26 (d,  $J=13,39$  Hz, 1 H) 8,30 (s, 1 H) 8,51 (d,  $J=3,54$  Hz, 1 H).  $[\text{M}+\text{H}]$  calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{N}_7\text{O}_3$ , 520; hallado 520.

Compuesto 131: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-pirimido[4,5-*b*][1,4]diazepin-2-ilamino)-*N*-(1-etilazetidin-3-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida



5 Se sintetizó el compuesto del título siguiendo el procedimiento de aminación reductora del ejemplo 125 usando *N*-(azetidín-3-il)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida y acetaldehído. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0,87 (t, *J*=7,20 Hz, 3 H) 1,61 (s. a., 6 H) 1,96 (s. a., 2 H) 2,40 (q, 2 H) 2,88 (t, *J*=6,32 Hz, 2 H) 3,52 (t, *J*=5,81 Hz, 2 H) 3,91 (s, 3 H) 4,08 (t, *J*=13,77 Hz, 2 H) 4,33 - 4,48 (m, 1 H) 4,71 - 4,89 (m, 1 H) 7,20 (d, *J*=4,04 Hz, 1 H) 8,05 (s, 1 H) 8,26 (d, *J*=13,39 Hz, 1 H) 8,31 (d, *J*=3,28 Hz, 1 H) 8,43 (d, *J*=7,07 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 548; hallado 548.

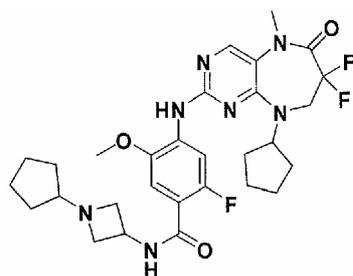
10 Compuesto 132: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-*N*-(1-isopropilazetidín-3-il)-5-metoxibenzamida



15 Se sintetizó el compuesto del título siguiendo el procedimiento de aminación reductora del ejemplo 125 usando *N*-(azetidín-3-il)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida y acetona. <sup>1</sup>H-RMN(400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0,85 (d, *J*=6,06 Hz, 6 H) 1,44 - 1,80 (m, 6 H) 1,95 (s. a., 2 H) 2,27 (m, 6,09 Hz, 1 H) 2,89 (t, *J*=7,33 Hz, 2 H) 3,50 (t, *J*=7,33 Hz, 2 H) 3,92 (s, 3 H) 4,08 (t, *J*=13,89 Hz, 2 H) 4,29 - 4,42 (m, 1 H) 4,72 - 4,89 (m, 1 H) 7,19 (d, *J*=6,82 Hz, 1 H) 8,05 (s, 1 H) 8,25 (d, *J*=13,39 Hz, 1 H) 8,29 - 8,32 (m, 1 H) 8,40 (d, *J*=7,07 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 562; hallado 562.

20

Compuesto 133: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-*N*-(1-ciclopentilazetidín-3-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida

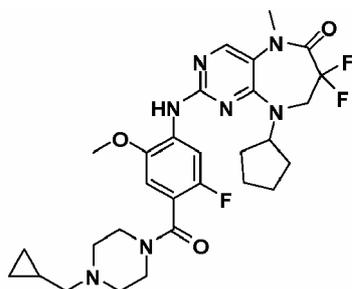


25

30 Se sintetizó el compuesto del título siguiendo el procedimiento de aminación reductora del ejemplo 125 usando *N*-(azetidín-3-il)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida y ciclopentanona. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,23 - 1,35 (m, 2 H) 1,38 - 1,78 (m, 11 H) 1,96 (s. a., 2 H) 2,67 (s. a., 1 H) 2,87 (t, *J*=7,33 Hz, 2 H) 3,49 (t, *J*=7,33 Hz, 2 H) 3,91 (s, 3 H) 4,08 (t, *J*=13,77 Hz, 2 H) 4,33 - 4,44 (m, 1 H) 4,78 - 4,88 (m, 1 H) 7,19 (d, *J*=6,57 Hz, 1 H) 8,05 (s, 1 H) 8,25 (d, *J*=13,39 Hz, 1 H) 8,30 (s, 1 H) 8,41 (dd, *J*=6,82, 3,03 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 588; hallado 588.

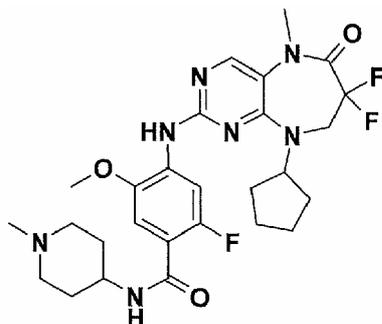
30

35 Compuesto 135: 9-Ciclopentil-2-(4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-carbonil)-5-fluoro-2-metoxifenilamino)-7,7-difluoro-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona



Se sintetizó el compuesto del título a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico tal como se describe en el procedimiento general para la síntesis de enlace amida usando HATU y 1-(ciclopropilmetil)piperazina. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0,07 (d, J=4,55 Hz, 2 H) 0,45 (d, J=8,08 Hz, 2 H) 0,75 - 0,87 (m, 1 H) 1,47 - 1,77 (m, 6 H) 1,92 (s. a., 2 H) 2,20 (d, J=6,57 Hz, 2 H) 2,32 - 2,43 (m, 2 H) 3,22 - 3,31 (m, 2 H) 3,64 (s. a., 2 H) 3,88 (s, 3 H) 4,06 (t, J=13,77 Hz, 3 H) 4,70 - 4,84 (m, 1 H) 6,97 (d, J=6,06 Hz, 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,16 (d, J=11,87 Hz, 1 H) 8,28 (s, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub> 588; hallado 588.

Compuesto 142: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida



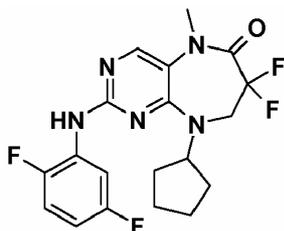
Ácido 2-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzoico: A una disolución de 2,5-difluoro-4-nitrobenzoato de metilo (1 g, 4,6 mmol) en metanol (10 ml) se le añadió metóxido de sodio (al 95%, 393 mg, 6,9 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche. Entonces se concentró, se acidificó con HCl. Se filtró el sólido y se secó para dar el producto como polvo amarillo claro (728 mg, el 70%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 3,95 (s, 3 H) 7,66 (d, J= 4 Hz, 1 H) 8,01 (d, J= 8 Hz, 1 H).

Ácido 4-amino-2-fluoro-5-metoxibenzoico: Se hidrogenó una disolución de ácido etil-2-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzoico (217 mg, 1 mmol), HOAc (cat.) y MeOH (10 ml) usando un hidrogenador H-cube. Entonces se concentró la disolución y se secó para dar el producto que puede usarse para la siguiente etapa sin purificación adicional. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 3,76 (s, 3 H) 5,88 (s. a., 2 H) 6,36 (d, J = 16 Hz, 1 H) 7,13 (d, J = 8 Hz, 1 H) 12,32 (s. a., 1H).

Ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico: Se calentaron 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (158 mg, 0,5 mmol), ácido 4-amino-2-fluoro-5-metoxi benzoico (obtenido anteriormente), i-PrOH (5 ml) y HCl conc. (10 gotas) hasta 100°C durante la noche. Entonces se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción contiene producto deseado más una gran cantidad de subproducto de descarboxilación, que se separaron mediante RP-HPLC para dar el producto como un sólido blanco (12 mg). [M+H] calculado para C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>, 466; hallado 466.

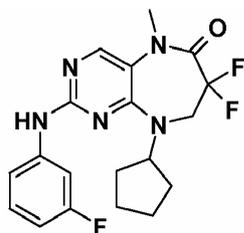
Se sintetizó el compuesto del título a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico (obtenido anteriormente, 12 mg) tal como se describe en el procedimiento general para la síntesis de enlace amida usando HATU y 1-metilpiperidin-4-amina. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre (8 mg, el 55%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,60-1,73 (m, 11 H), 1,88 - 2,21 (m, 8 H) 2,78 (s. a., 2 H) 3,73 (s. a., 1 H) 3,91 (s, 3 H) 4,08 (t, J = 14 Hz, 2 H) 4,81 (d, J = 8 Hz, 1 H) 7,18 (d, J = 7 Hz, 1 H) 7,91 (s. a., 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,24 (d, J = 13 Hz, 1 H) 8,30 (s, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 562; hallado 562.

Compuesto 143: 9-Ciclopentil-2-(2,5-difluorofenilamino)-7,7-difluoro-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona



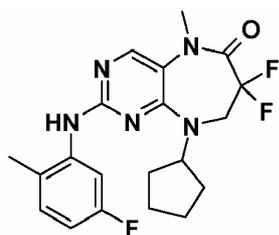
5 Se calentaron 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (50 mg, 0,16 mmol), 2,5-difluoroanilina (31 mg, 0,24 mmol), *i*-PrOH (2 ml) y HCl conc. (5 gotas) hasta 100°C durante la noche para dar el compuesto del título. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre (20 mg, el 31%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,23-1,85 (m, 11 H) 4,02 (t, *J* = 14 Hz, 2 H) 4,68 (d, *J* = 8 Hz, 1 H) 6,88 (t, *J* = 8 Hz, 1 H) 7,26 (td, *J* = 10, 6 Hz, 1 H) 7,74 - 7,96 (m, 1 H) 8,24 (s, 1 H) 9,04 (s. a., 1 H). [M+H] calculado para C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>F<sub>4</sub>N<sub>5</sub>O, 410; hallado 410.

10 Compuesto 144: 9-Ciclopentil-7,7-difluoro-2-(3-fluorofenilamino)-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona



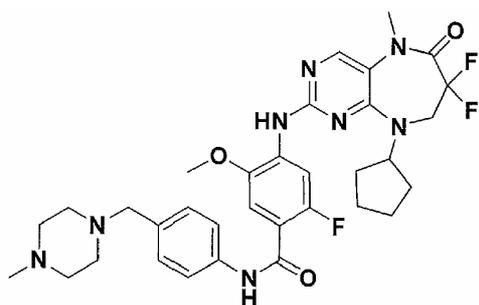
15 Se calentaron 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (100 mg, 0,32 mmol), 3-fluoroanilina (54 mg, 0,48 mmol), *i*-PrOH (2 ml) y HCl conc. (5 gotas) hasta 100°C durante la noche para dar el compuesto del título. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre (50 mg, el 40%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,58-1,96 (m, 8 H) 4,04 (t, *J* = 14 Hz, 2 H) 4,78 (m, 1 H) 6,59 - 6,87 (m, 1 H) 7,16 - 7,33 (m, 1 H) 7,38 (d, *J* = 8 Hz, 1 H) 7,79 (d, *J* = 12 Hz, 1 H) 8,26 (s, 1 H) 9,66 (s. a., 1 H). [M+H] calculado para C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O, 392; hallado 392.

20 Compuesto 145: 9-Ciclopentil-7,7-difluoro-2-(5-fluoro-2-metilfenilamino)-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona



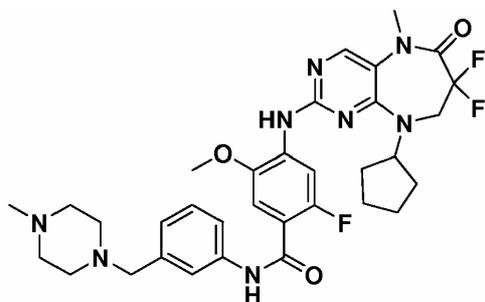
25 Se calentaron 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (100 mg, 0,32 mmol), 5-fluoro-2-metilfenilamina (60 mg, 0,48 mmol), *i*-PrOH (2 ml) y HCl conc. (5 gotas) hasta 100°C durante la noche para dar el compuesto del título. Se purificó el compuesto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre (50 mg, el 39%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,40 - 1,96 (m, 9 H) 2,22 (s, 3 H) 3,99 (t, *J* = 14 Hz, 2 H) 4,62 (t, *J* = 8 Hz, 1 H) 6,81 (td, *J* = 8, 3 Hz, 1 H) 7,19 (t, *J* = 8 Hz, 1 H) 7,58 (dd, *J* = 12, 3 Hz, 1 H) 8,20 (s, 1 H) 8,57 (s, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O, 406; hallado 406.

30 Compuesto 152: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)fenil)benzamida



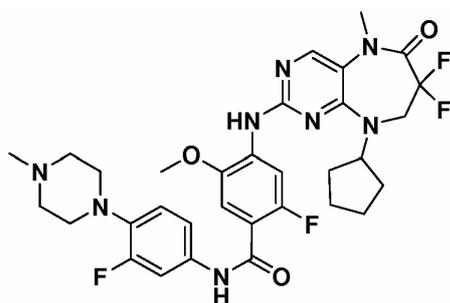
5 Se preparó el compuesto del título de una manera análoga al compuesto 149 a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico y clorhidrato de 4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)anilina con un rendimiento de 48 mg (37%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,62 (s. a., 4 H) 1,73 (s. a., 2 H) 1,98 (m, 2 H) 2,14 (s, 3 H) 2,17 - 2,45 (m, 8 H) 3,40 (s, 2 H) 3,94 (s, 3 H) 4,09 (t, *J*=12 Hz, 2 H) 4,84 (t, *J*=8,08 Hz, 1 H) 7,16 - 7,37 (m, 3 H) 7,66 (d, *J*=8,34 Hz, 2 H) 8,10 (s, 1 H) 8,19 - 8,39 (m, 2 H) 10,13 (s, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>F<sub>3</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub> 653; hallado 653.

10 Compuesto 153: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(3-((4-metilpiperazin-1-il)metil)fenil)benzamida



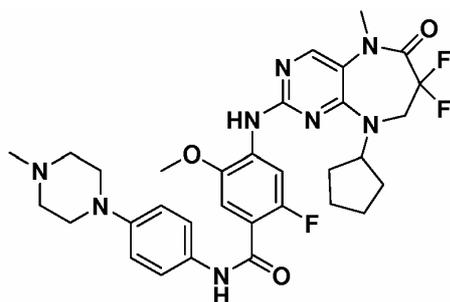
15 Se preparó el compuesto del título de una manera análoga al compuesto 149 a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico y clorhidrato de 3-((4-metilpiperazin-1-il)metil)anilina con un rendimiento de 43 mg (33%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,62 (s. a., 6 H) 1,99 (s. a., 2 H) 2,14 (s, 3 H) 2,33 (s. a., 8 H) 3,43 (s, 2 H) 3,94 (s, 3 H) 4,09 (t, *J*=13,89 Hz, 2 H) 4,84 (s. a., 1 H) 7,01 (d, *J*=7,58 Hz, 1 H) 7,20 - 7,35 (m, 2 H) 7,61 (s. a., 1 H) 7,67 (s. a., 1 H) 8,10 (s, 1 H) 8,23 - 8,40 (m, 2 H) 10,14 (s, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>F<sub>3</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, 653; hallado 653.

Compuesto 154: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-N-(3-fluoro-4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)-5-metoxibenzamida



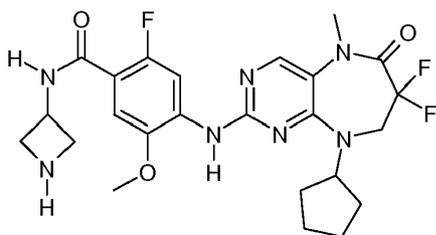
25 Se preparó el compuesto del título de una manera análoga al compuesto 149 a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico y 3-fluoro-4-(4-metilpiperazin-1-il)anilina con un rendimiento de 70 mg (53%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,42 - 1,73 (m, 6 H) 1,86 - 2,06 (m, 2 H) 2,22 (s, 3 H) 2,35 - 2,49 (m, 4 H) 2,97 (s. a., 4 H) 3,94 (s, 3 H) 4,09 (t, *J*=13,89 Hz, 2 H) 4,82 (t, *J*=7,83 Hz, 1 H) 7,01 (t, *J*=9,35 Hz, 1 H) 7,26 (d, *J*=6,82 Hz, 1 H) 7,32 - 7,45 (m, 1 H) 7,63 (dd, *J*=15,03, 1,89 Hz, 1 H) 8,10 (s, 1 H) 8,19 - 8,46 (m, 2 H) 10,16 (s, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>32</sub>H<sub>36</sub>F<sub>4</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, 657; hallado 657.

35 Compuesto 155: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[5,4-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)benzamida



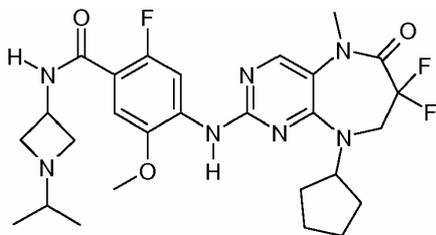
5 Se preparó el compuesto del título de una manera análoga al compuesto 149 a partir de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5H-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico y 4-(4-metilpiperazin-1-il)anilina con un rendimiento de 82 mg (53%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,61 (s. a., 4 H) 1,73 (s. a., 2 H) 1,99 (s. a., 2 H) 2,22 (s, 3 H) 2,45 (s. a., 4 H) 3,09 (s. a., 4 H) 3,94 (s, 3 H) 4,08 (t, *J*=13,89 Hz, 2 H) 4,84 (s. a., 1 H) 6,91 (d, *J*=8,84 Hz, 2 H) 7,26 (d, *J*=6,32 Hz, 1 H) 7,56 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 8,08 (s, 1 H) 8,18 - 8,41 (m, 2 H) 9,91 (s. a., 1 H). [M+H] calculado para C<sub>32</sub>H<sub>37</sub>F<sub>3</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, 639; hallado 639.

10 Compuesto 156: N-(Azetidin-3-il)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5H-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida



15 A una disolución de ácido 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5H-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzoico (1 g, 2,2 mmol) en DMF (4 ml) se le añadieron 3-aminoazetidin-1-carboxilato de terc-butilo (413 mg, 2,4 mmol), HATU (1,43 g, 3,75 mmol) y DIEA (973 μl, 5,5 mmol). Se agitó la mezcla de reacción durante 1 h. Entonces se vertió en 100 ml de agua con agitación rápida. Se formó un sólido marrón oscuro y se filtró, se lavó con agua y se secó para dar 884 mg del producto intermedio protegido con Boc. Se trató este sólido con TFA en DCM (10 ml 1:1) durante 30 minutos. Entonces se eliminó el disolvente, y se repartió el residuo entre acetato de etilo y bicarbonato de sodio (ac. sat.). Se separaron las fases y se extrajo adicionalmente la fase acuosa con una porción de DCM con el 3% de MeOH. Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron para producir un alquitrán marrón (568 mg, rendimiento del 50%) que se usó en bruto en reacciones posteriores. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,48 - 1,77 (m, 6 H) 1,96 (s. a., 2 H) 3,56 (dd, *J*=7,45, 4,42 Hz, 3 H) 3,91 (s, 2 H) 4,08 (t, *J*=14,02 Hz, 2 H) 4,62 - 4,73 (m, 1 H) 4,76 - 4,90 (m, 1 H) 7,20 (d, *J*=6,82 Hz, 1 H) 8,05 (s, 1 H) 8,26 (d, *J*=13,39 Hz, 1 H) 8,30 (s, 1 H) 8,51 (d, *J*=3,54 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 520; hallado 520.

30 Compuesto 157: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5H-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-N-(1-isopropilazetidin-3-il)-5-metoxibenzamida

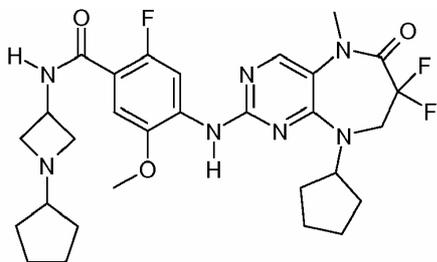


35 A una disolución de N-(azetidin-3-il)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5H-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida (100 mg, 0,19 mmol) en AcOH:DCM:MeOH (2,5 ml, 1:2:2) se le añadieron acetona (100 μl, 1,36 mmol), complejo de borano-piridina (100 μl, 0,8 mmol), y se dejó agitar durante 3 h. Entonces se eliminó el disolvente y se purificó el producto mediante HPLC de fase inversa, se liberó la base y se liofilizó para producir un sólido blanco (3,3 mg, el 3%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0,85 (d, *J*=6,06 Hz, 4 H) 1,05 (d, *J*=6,57 Hz, 2 H) 1,44 - 1,80 (m, 6 H) 1,95 (s. a., 2 H) 2,27 (dt, *J*=12,32, 6,09 Hz, 1 H) 2,89 (t, *J*=7,33 Hz, 2 H) 3,50 (t, *J*=7,33 Hz, 1 H) 3,92 (s, 3 H) 4,08 (t, *J*=13,89 Hz, 2 H) 4,29 - 4,42 (m, 1 H) 4,72 - 4,89 (m, 1 H) 7,19 (d,

40

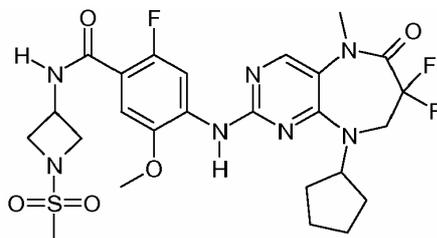
$J=6,82$  Hz, 1 H) 8,05 (s, 1 H) 8,25 (d,  $J=13,39$  Hz, 1 H) 8,29 - 8,32 (m, 1 H) 8,40 (d,  $J=7,07$  Hz, 1 H). [M+H] calculado para  $C_{27}H_{34}F_3N_7O_3$ , 562; hallado 562.

Compuesto 158: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-ciclopentilazetidín-3-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida



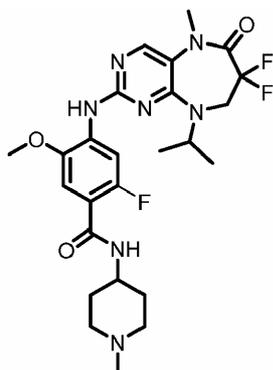
A una disolución de N-(azetidín-3-il)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida (100 mg, 0,19 mmol) en AcOH:DCM:MeOH (2,5 ml, 1:2:2) se le añadieron ciclopentanona (100  $\mu$ l, 1,09 mmol), complejo de borano-piridina (100  $\mu$ l, 0,8 mmol) y se dejó agitar durante 3 h. Entonces se eliminó el disolvente y se purificó el producto mediante HPLC de fase inversa, se liberó la base y se liofilizó para producir un sólido blanco (5,0 mg, el 9%).  $^1$ H-RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,23 - 1,35 (m, 2 H) 1,38 - 1,78 (m, 11 H) 1,96 (s. a., 2 H) 2,67 (s. a., 1 H) 2,87 (t,  $J=7,33$  Hz, 2 H) 3,49 (t,  $J=7,33$  Hz, 2 H) 3,91 (s, 3 H) 4,08 (t,  $J=13,77$  Hz, 2 H) 4,33 - 4,44 (m, 1 H) 4,78 - 4,88 (m, 1 H) 7,19 (d,  $J=6,57$  Hz, 1 H) 8,05 (s, 1 H) 8,25 (d,  $J=13,39$  Hz, 1 H) 8,30 (s, 1 H) 8,41 (dd,  $J=6,82$ , 3,03 Hz, 1 H). [M+H] calculado para  $C_{29}H_{36}F_3N_7O_3$ , 588; hallado 588.

Compuesto 160: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-(metilsulfonil)azetidín-3-il)benzamida



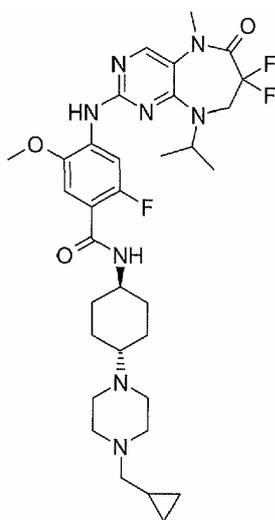
A una disolución de N-(azetidín-3-il)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida (100 mg, 0,19 mmol) en DCM (2,5 ml, 1:2:2) se le añadió DIEA (50  $\mu$ l, 0,285 mmol), seguido por cloruro de metanosulfonilo (23  $\mu$ l, 0,21 mmol). Tras agitar durante la noche se eliminó el disolvente y se purificó el producto mediante HPLC de fase inversa, se liberó la base y se liofilizó para producir un sólido blanco (9,3 mg, 9%).  $^1$ H-RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,54 - 1,79 (m, 6 H) 1,96 (s. a., 2 H) 3,05 (s, 3 H) 3,92 (s, 3 H) 3,94 (d,  $J=1,77$  Hz, 2 H) 4,03 - 4,15 (m, 4 H) 4,61 - 4,72 (m, 1 H) 4,76 - 4,87 (m, 1 H) 7,24 (d,  $J=6,57$  Hz, 1 H) 8,08 (s, 1 H) 8,27 (d, 1 H) 8,31 (s, 1 H) 8,73 (d,  $J=3,79$  Hz, 1 H). [M+H] calculado para  $C_{25}H_{30}F_3N_7O_5S$ , 598; hallado 598.

Compuesto 164: 4-(7,7-Difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidín-4-il)benzamida



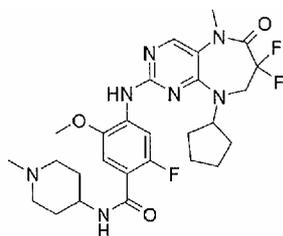
Se suspendieron 2-cloro-7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (100 mg, 0,344 mmol) y 4-amino-2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida (100 mg, 0,355 mmol) en agua (2 ml) y se añadió ácido sulfúrico (118 mg, 1,20 mmol). Se agitó la mezcla de reacción en un vial cerrado a 100°C durante 18 h, se enfrió, se diluyó con agua (5 ml) y se llevó a pH=7 usando carbonato de sodio sólido. Se diluyó la mezcla resultante con etanol (0,5 ml) y se agitó durante 5 min. Se filtró el precipitado, se lavó con agua (5 ml) y se secó en aire durante 20-30 min. Entonces se suspendió en etanol (~10 ml), se trató con bicarbonato de sodio sólido (130 mg) y se agitó vigorosamente durante 45 min. Se eliminaron las sales insolubles por filtración y se concentró el filtrado a vacío. Se cristalizó el residuo en etanol-agua (1:7; 8 ml) y se secó a vacío para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (65 mg, el 35%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,26 (d, J=6,82 Hz, 6 H) 1,49 - 1,62 (m, 2 H) 1,77 (d. a., 2 H) 1,95 (t ap. J=11,2 Hz, 2 H) 2,15 (s, 3 H) 2,73 (d. a., J=11,12 Hz, 2 H) 3,33 (s, 3 H) 3,71 (m, J=7,83 Hz, 1 H) 3,91 (s, 3 H) 4,07 (t, J=13,52 Hz, 2 H) 4,90 (m, 1 H) 7,19 (d, J=6,57 Hz, 1 H) 7,88 (dd, J=7,33, 3,03 Hz, 1 H) 7,97 (s, 1 H) 8,20 - 8,32 (m, 2 H); [M+H] calculado para C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 536; hallado 536.

Compuesto 165: N-((1r,4r)-4-(4-(Ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-4-(7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida



Se preparó el compuesto del título usando una reacción de Buchwald a partir de 2-cloro-7,7-difluoro-9-isopropil-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirido[5,4-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (573 mg, 1,98 mmol) y 4-amino-N-((1r,4r)-4-(4-(ciclopropilmetil) piperazin-1-il)ciclohexil)-2-fluoro-5-metoxibenzamida (958 mg, 2,372 mmol) y se purificó el producto final mediante HPLC de fase inversa y se basificó para dar la base libre. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ ppm 0,53 (s. a., 2 H) 0,88 (s. a., 2 H) 1,34 (d, J= 6,82 Hz, 8 H) 1,57 (s, 6 H) 1,98 (s. a., 2 H) 2,19 (s. a., 6 H) 2,67 (s. a., 6 H) 3,41 (s, 3 H) 3,80 - 4,10 (m, 4 H) 4,88 - 5,09 (m, 1 H) 6,60 (dd, J= 15,16, 7,83 Hz, 1 H) 7,56 (d, J= 7,07 Hz, 1 H) 7,78 (s, 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,37 (d, J= 15,16 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>33</sub>H<sub>45</sub>F<sub>3</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, 659; hallado 659.

Compuesto 168: 4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida



Ácido 2-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzoico: A una disolución de ácido 2,5-difluoro-4-nitrobenzoico (55 g, 291 mmol) en metanol (800 ml) a 80°C se le añadió una disolución metanólica de hidróxido de potasio (48,9 g, 873 mmol en 175 ml de MeOH, previamente calentada a 80°C para la disolución) gota a gota en un periodo de 2 h usando un embudo de adición. Se agitó continuamente la mezcla de reacción durante 1 h tras completarse la adición. Entonces se concentró, se acidificó con HCl a pH=1-2. Entonces se agitó vigorosamente la mezcla de reacción durante la noche. Se filtró el polvo fino, se lavó con más agua y se secó para dar el producto como polvo amarillo claro (55,4 g, el 90%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 3,95 (s, 3 H) 7,66 (d, J= 4 Hz, 1 H) 8,01 (d, J= 8 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>FNO<sub>5</sub>, 216; hallado 216. 2-Fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)-4-nitrobenzamida: A una mezcla de ácido 2-fluoro-5-metoxi-4-nitrobenzoico (53,8 g, 250 mmol), 1-metilpiperidin 4-amina (31,4 g, 275 mmol),

DIEA (134 ml, 750 mmol) en 1 l de DCM a 0°C se le añadió HATU (114 g, 300 mmol) en cuatro lotes. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 16 h. Después de eso, se concentró y se diluyó hasta 1 l de una mezcla de MeOH en agua (5%). Se agitó vigorosamente la suspensión durante 2 h hasta que se observó una suspensión de polvo fino. Se filtró el sólido, se lavó con más agua y se secó para dar 55 g de producto amarillo claro. Se extrajo el filtrado con EtOAc, se concentró y volvió a suspenderse en agua (al 5% de MeOH) y se repitió el mismo procedimiento que anteriormente, tras lo cual se obtuvo otro lote de sólido (total de 67 g, el 86%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,53 (m, 2 H) 1,81 (m, 2 H) 2,04 (m, 2 H) 2,19 (s, 3 H) 2,77 (d, J = 8 Hz, 2 H) 3,73 (m, 1H) 3,94 (s, 3 H) 7,42 (d, J = 5,6 Hz, 1 H) 7,98 (d, J = 8,8 Hz, 1 H) 8,51 (d, J = 7,6 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 312; hallado 312.

4-Amino-2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida: A una disolución de 2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)-4-nitrobenzamida (55 g, 177 mmol) en EtOH (450 ml) se le añadió el 10% de Pd/C (11 g), seguido por 4,4 ml de HCl concentrado. Se hidrogenó la mezcla de reacción usando un globo de hidrógeno durante 22 h. Se filtró la disolución a través de Celite y se concentró hasta un volumen mínimo, tras lo cual se filtró el sólido, se lavó con éter. Se concentró de nuevo el filtrado y se trituró con EtOH y se repitió varias veces para conseguir más productos. Se combinó el sólido y se secó adicionalmente para dar 50 g totales de producto como polvo amarillo claro (> 98%). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1,64 - 2,02 (m, 4 H) 2,61 (s, 3 H) 2,90 (t, J = 11,0 Hz, 2 H) 3,24 (m, 2H) 3,72-3,81 (m, 3 H) 3,84 - 4,03 (m, 1 H) 5,60 (s, 2 H) 6,29 - 6,50 (m, 1 H) 7,01 (d, J = 6,8 Hz, 1 H) 7,69 (dd, J = 7,3, 4,8 Hz, 1 H). [M+H] calculado para C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, 282; hallado 282.

4-(9-Ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida: Se agitó una mezcla de 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (25 g, 79,1 mmol), 4-amino-2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida (23,3 g, 83 mmol), isopropanol (197 ml), y ácido clorhídrico concentrado (8 ml) en un baño de aceite a 100°C (la temperatura dentro del matraz era de 83°C) durante 3 días (apareció mucho precipitado tras el primer día de agitación). Se enfrió la mezcla de reacción y se filtró el sólido blanco y se lavó con más iPrOH, finalmente se secó para dar 40 g de sólido de color tostado como sal de HCl.

Se disolvió la sal de HCl obtenida anteriormente (40 g) en 1 l de MeOH con una barra de agitación eficaz. Se enfrió hasta 0°C, se añadió lentamente bicarbonato de sodio sólido (28,1 g, 0,33 mol). Entonces se agitó la mezcla de reacción a ta durante 4 h. Después de eso, se filtró a través de un lecho de Celite. Se concentró el filtrado a vacío hasta un volumen de 500 ml, y se cargaron 500 ml de agua en el matraz. Entonces se mantuvo la mezcla en un evaporador rotatorio a 20°C. Apareció mucho precipitado rosáceo. Cuando quedaron aproximadamente 100 ml de MeOH, se añadieron 500 ml más de agua al matraz. Se filtró el conjunto, se lavó el sólido con más agua (500 ml) y se secó para dar 35 g de producto como sólido rosáceo claro (pureza de >99% mediante CL). A un matraz de fondo redondo de 500 ml se le añadieron 60 g de la base libre y EtOH (200 ml). Se calentó a 85°C durante 0,5 h. Entonces se enfrió, se filtró el sólido y se lavó con más EtOH (200 ml). Cuando se secó, se obtuvieron aproximadamente 48 g de sólido blanquecino (el filtrado contenía color y algunas impurezas). Entonces se disolvió completamente el sólido en 4 l de MeOH, se filtró sobre papel. Se concentró el filtrado para dar un sólido. Entonces se disolvió en 200 ml de EtOH. Entonces se calentó la suspensión a 60°C con agitación eficaz durante 24 h. Entonces se enfrió gradualmente la suspensión espesa hasta temperatura ambiente, se filtró. Se lavó el sólido con más EtOH (200 ml), se secó en un horno de vacío (60°C) durante 3 días. Finalmente, se obtuvieron 44 g de producto como sólido blanco (recuperación del 73%). Se concentró el filtrado combinado (que contenía principalmente producto) y se apartó para su purificación adicional mediante HPLC preparativa. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,47 - 1,82 (m, 10 H) 1,90 - 2,04 (m, 4 H) 2,16 (s, 3 H) 2,74 (d, J = 11,6 Hz, 2 H) 3,63 - 3,77 (m, 1 H) 3,92 (s, 3 H) 4,09 (t, J =13,9 Hz, 2 H) 4,82 (m, 1 H) 7,19 (d, J = 6,8 Hz, 1 H) 7,91 (dd, J = 7,7, 3,4 Hz, 1 H) 8,04 (d, J = 1,3 Hz, 1 H) 8,25 (d, J = 13,4 Hz, 1 H) 8,31 (s, 1 H). Punto de fusión de 194,5-195,5°C. [M+H] calculado para C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>, 562; hallado 562.

### Pruebas biológicas

#### *Actividad de PLK*

La actividad de los compuestos como inhibidores de PLK puede someterse a ensayo *in vitro*, *in vivo* o en una línea celular. A continuación se proporciona un ensayo de actividad enzimática *in vitro* para determinar la actividad contra PLK1.

Puede obtenerse PLK1 purificada de la siguiente manera. Se aisló ADNc que codifica para PLK1 humana (SEQ ID NO: 1, número de registro: NM\_005030) mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con cebadores (SEQ ID NO: 2 y 3) y se clonó en pcDNA4/His-Max-TOPO (Invitrogen, EE.UU.) según el manual del fabricante. Se realizó la PCR usando el vector como molde. En la PCR, se usaron cebadores que contenían secuencias que codificaban para una etiqueta FLAG (DYKDDDDK) en la región amino-terminal (SEQ ID NO: 4) y secuencia de vector (SEQ ID NO: 5). Tras la digestión con XbaI y XhoI del producto de PCR, se subclonó el fragmento en pFASTBAC1 (Invitrogen, EE.UU.). Se prepararon baculovirus recombinantes según el procedimiento del sistema de expresión en baculovirus Bac-to-Bac (Invitrogen, EE.UU.). Se adquirieron células Sf21 de Invitrogen y se hicieron crecer en medio Sf-900 II SFM que contenía suero bovino fetal al 10%, gentamicina 50 µg/ml y Pluronic F-68 0,1% (Invitrogen, EE.UU.) a 28°C. Para la preparación de enzima PLK1, se infectaron células Sf21 con baculovirus recombinantes y

se cultivaron a 28°C durante 72 h. Se lisaron las células y se purificó proteína PLK1 con etiqueta FLAG (SEQ ID NO: 6) mediante cromatografía de afinidad usando gel de afinidad anti-FLAG M2 (Sigma, EE.UU.).

5 Debe indicarse que también son adecuados una variedad de otros sistemas de expresión y huéspedes para la expresión de PLK1, tal como apreciará fácilmente un experto en la técnica.

10 Se determinó la inhibición de PLK1 por los compuestos con el siguiente ensayo que mide la fosforilación de alfa-caseína mediante PLK1 recombinante. Se realizaron reacciones de cinasa a temperatura ambiente durante 40 min en el tampón de reacción de cinasa (HEPES 25 mmol/l, pH 7,5, acetato de magnesio 10 mmol/l, ditioneitol 1 mmol/l) que contenía 50 ng de enzima PLK1, 0,1 µCi de [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P]ATP, ATP 500 nmol/l y 3 mg de alfa-caseína (MP Biomedicals Inc., EE.UU.) en un volumen final de 50 µl. Se terminó la incubación mediante la adición de ácido tricloroacético al 10% (Wako, Japón). Se filtraron proteínas fosforiladas en placas de filtro GF/C (Packard, EE.UU.) con un colector de células (Packard, EE.UU.) y se eliminó mediante lavado [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P]-ATP libre con ácido fosfórico 250 mmol/l. Entonces, se secaron con aire las placas durante 60 min a 45°C, seguido por la adición de 20 µl de MicroScint-O (Packard, EE.UU.). Se contó la radiactividad mediante un contador de centelleo Top-count (Packard, EE.UU.). Se calcularon los valores de CI<sub>50</sub> para los compuestos de prueba mediante Prism 3.02 (software GraphPad, EE.UU.).

20 El ensayo de cultivo y proliferación celular puede llevarse a cabo de la siguiente manera: se mantuvo la línea celular de adenocarcinoma colorrectal humana HT29 (ATCC, EE.UU.) en medio de Eagle modificado por Dulbecco (Invitrogen, EE.UU.) complementado con suero bovino fetal al 10% (JRH, EE.UU.). Se llevó a cabo el ensayo de proliferación celular con el ensayo de viabilidad celular luminiscente Cell Titer-Glo (Promega, EE.UU.) según las instrucciones del fabricante tras el tratamiento durante 72 h de las células en presencia de los compuestos. Se mostró la viabilidad celular como porcentaje de células tratadas con DMSO. Se calcularon los valores de CI<sub>50</sub> para los compuestos mediante Prism 4 (software GraphPad, EE.UU.).

30 Para el análisis de la distribución del ciclo celular y la fosforilación de histona H3, se recogieron las células y se fijaron con etanol al 70% helado tras el tratamiento durante 48 h de las células en presencia de los compuestos. Se lavaron dos veces las células con PBS que contenía FCS al 2% (JRH), después se incubaron con anticuerpo anti-fosfo-histona H3 conjugado con Alexa Flour 647 (Cell signaling, EE.UU.) y ARNasa (Invitrogen) durante 30 min a temperatura ambiente. Tras lavar dos veces con PBS que contenía FCS al 2%, se contratiñeron las células con yoduro de propidio. Se analizaron la distribución del ciclo celular y la fosforilación de histona H3 usando el sistema FACSCalibur (BD Bioscience, San Jose, CA, EE.UU.).

35 La actividad de los compuestos como inhibidores de PLK puede evaluarse *in vivo* usando ratones BALB/cA Jcl-nu/nu que llevan las células HCT116 o HT29 inoculadas por vía subcutánea en la zona axilar. Puede determinarse el retardo en el crecimiento, por ejemplo, mediante mediciones con calibre del volumen tumoral.

40 Pueden calcularse valores de pCI<sub>50</sub> mediante ajuste de curva no lineal de las concentraciones de compuestos e intensidades de fluorescencia con la ecuación de pCI<sub>50</sub> convencional. En la tabla 1 se facilitan valores de pCI<sub>50</sub> para el ensayo de proliferación celular de compuestos seleccionados de la presente invención.

TABLA 1

Compuesto	pCI <sub>50</sub> (PLK1)
22	≥ 8,7
28	< 8,7
113	≥ 8,7
116	≥ 8,7
117	≥ 8,7
118	< 8,7
119	< 8,7
120	< 8,7
122	< 8,7
123	< 8,7
124	< 8,7
125 (ref)	≥ 8,7
130	≥ 8,7

131	$\geq 8,7$
132	$\geq 8,7$
133	$\geq 8,7$
135	$< 8,7$

#### Resistencia a fármacos

5 Se ha mostrado que la sobreexpresión de P-glicoproteína (PgP, MDR1) está correlacionada con la resistencia a agentes anticancerosos tales como taxanos y antraciclinas. Por consiguiente, el desarrollo de los compuestos que no son sensibles a PgP puede que pueda superar la resistencia a fármacos en el cáncer (Nat Rev Drug Discov., marzo de 2006; 5(3): 219-34).

10 Para evaluar si los compuestos son sensibles a PgP, se realizaron ensayos inhibidores del crecimiento *in vitro* usando MES-SA y su derivado MES-SA/Dx5, que se sabe que son líneas celulares resistentes a antraciclina que sobreexpresan PgP (Anticancer Res., enero-febrero de 2005; 25(1A): 383-9). Se sembraron células a 1000 células/pocillo en medio 5A de McCoy (Invitrogen) con FCS al 10% en placas de 96 pocillos (Falcon). Tras 24 horas, se añadieron compuestos al medio de cultivo celular a las concentraciones finales de 1000, 300, 100, 30, 10, 3, 1, 0,3 y 0,1 nM. Se cuantificó la viabilidad celular usando kits Cell Titer-Glo (Promega) tras tres días de incubación. Se calculó la  $CI_{50}$  de cada compuesto usando software GraphPad (Prism). En la tabla 2 se muestran los valores de  $CI_{50}$  para ejemplos seleccionados. Los datos se notifican como la razón del valor de  $CI_{50}$  para el ensayo de MES-SA/Dx5 con respecto al valor de  $CI_{50}$  para el ensayo de MES-SA.

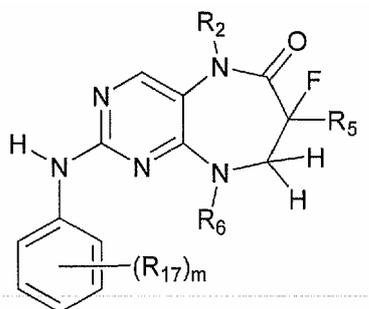
TABLA 2

N.º de compuesto	$CI_{50}$ (MES-SA/Dx5; nM) / $CI_{50}$ (MES-SA; nM)
116	1,9
117	12,5
113	2,5
131	2,5

20 Resultará evidente para los expertos en la técnica que pueden realizarse diversas modificaciones y variaciones en los compuestos, las composiciones, los kits y los métodos de la presente invención sin apartarse del alcance de la invención. Por tanto, se pretende que la presente invención cubra las modificaciones y variaciones de esta invención siempre que entren dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

## REIVINDICACIONES

## 1. Compuesto de fórmula



5

o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo (C<sub>1-3</sub>);

10

R<sub>5</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halo, alquilo (C<sub>1-3</sub>), y alqueno (C<sub>2-3</sub>);

R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo (C<sub>1-10</sub>) y cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>);

15

m se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5;

al menos un R<sub>17</sub> es fluoro y cada uno de los otros R<sub>17</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, carbamoiloxilo, carbonilo, oxicarbonilo, amido, amino, alquilamino (C<sub>1-10</sub>), sulfonamido, carboxiamino, ureido, imino, sulfonilo, aminosulfonilo, sulfinilo, alquilo (C<sub>1-10</sub>), haloalquilo (C<sub>1-10</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilalquilo (C<sub>1-3</sub>), tiocarbonilalquilo (C<sub>1-3</sub>), sulfonilalquilo (C<sub>1-3</sub>), sulfinilalquilo (C<sub>1-3</sub>), azaalquilo (C<sub>1-10</sub>), iminoalquilo (C<sub>1-3</sub>), cicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterocicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), arilalquilo (C<sub>1-10</sub>), heteroarilalquilo (C<sub>1-5</sub>), bicicloaril (C<sub>9-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterobicicloaril (C<sub>8-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), bicicloalquilo (C<sub>9-12</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), arilo (C<sub>4-12</sub>), heteroarilo (C<sub>1-10</sub>), bicicloarilo (C<sub>9-12</sub>) y heterobicicloarilo (C<sub>4-12</sub>), cada uno no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo A;

20

25

el grupo A consiste en halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo (C<sub>1-10</sub>), ariloxilo (C<sub>4-12</sub>), heteroariloxilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilo, oxicarbonilo, amido, amino, alquilamino (C<sub>1-10</sub>), sulfonamido, imino, sulfonilo, sulfinilo, alquilo (C<sub>1-10</sub>), haloalquilo (C<sub>1-10</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), tiocarbonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), sulfonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), sulfinilalquilo (C<sub>1-10</sub>), azaalquilo (C<sub>1-10</sub>), iminoalquilo (C<sub>1-10</sub>), cicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterocicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-10</sub>), arilalquilo (C<sub>1-10</sub>), heteroaril (C<sub>1-10</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), bicicloaril (C<sub>9-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterobicicloaril (C<sub>8-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), bicicloalquilo (C<sub>9-12</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), arilo (C<sub>4-12</sub>), heteroarilo (C<sub>1-10</sub>), bicicloarilo (C<sub>9-12</sub>) y heterobicicloarilo (C<sub>4-12</sub>), cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con un sustituyente adicional seleccionado del grupo B; y el grupo B

30 consiste en halo, nitro, ciano, tio, oxi, hidroxilo, carboniloxilo, alcoxilo (C<sub>1-10</sub>), ariloxilo (C<sub>4-12</sub>), heteroariloxilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilo, oxicarbonilo, amido, amino, alquilamino (C<sub>1-10</sub>), sulfonamido, imino, sulfonilo, sulfinilo, alquilo (C<sub>1-10</sub>), haloalquilo (C<sub>1-10</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1-10</sub>), carbonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), tiocarbonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), sulfonilalquilo (C<sub>1-10</sub>), sulfinilalquilo (C<sub>1-10</sub>), azaalquilo (C<sub>1-10</sub>); iminoalquilo (C<sub>1-10</sub>), cicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterocicloalquil (C<sub>3-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-10</sub>), arilalquilo (C<sub>1-10</sub>), heteroaril (C<sub>1-10</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), bicicloaril (C<sub>9-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), heterobicicloaril (C<sub>8-12</sub>)-alquilo (C<sub>1-5</sub>), cicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), heterocicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), bicicloalquilo (C<sub>9-12</sub>), heterobicicloalquilo (C<sub>3-12</sub>), arilo (C<sub>4-12</sub>), heteroarilo (C<sub>1-10</sub>), bicicloarilo (C<sub>9-12</sub>) y heterobicicloarilo (C<sub>4-12</sub>).

30

35

40

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R<sub>2</sub> es metilo.

45

3. Compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que R<sub>5</sub> es fluoro.

4. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R<sub>6</sub> se selecciona del grupo que consiste en isopropilo, ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

50

5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que al menos un R<sub>17</sub> es metoxilo.

6. Compuesto según la reivindicación 1 seleccionado del grupo que consiste en:

4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluoro-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida;

55

- 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida;
- 5 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-(2-(dimetilamino)acetil)piperidin-4-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida;
- (R)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(piperidin-3-il)benzamida;
- 10 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-N-(1-(2-hidroxietil)piperidin-4-il)-5-metoxibenzamida;
- 15 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida;
- 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-3-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida;
- 20 N-(azetidín-3-il)-4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxibenzamida;
- 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-etilazetidín-3-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida;
- 25 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-N-(1-isopropilazetidín-3-il)-5-metoxibenzamida; y
- 30 4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-ciclopentilazetidín-3-il)-2-fluoro-5-metoxibenzamida;
- o una sal farmacéuticamente aceptable de cada uno de los compuestos mencionados anteriormente.
- 35 7. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto es 4-(9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-2-fluoro-5-metoxi-N-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
8. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 40 9. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso como medicamento.
- 45 10. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en cáncer, enfermedad inflamatoria, enfermedad autoinmunitaria, mucositis y alopecia inducida por agentes quimioterápicos, enfermedad cardiovascular, enfermedad infecciosa, enfermedades nefrológicas, enfermedad neurodegenerativa, enfermedad de la piel y enfermedad ósea.

# FIGURA 1A

## Secuencia de ADNc que codifica para PLK1 humana [SEQ ID NO: 1]

```

atgagtgctg cagtgactgc agggaagctg gcaocgggac cggccgaccc tgggaaagcc 60
ggggtccccg gagttgcagc tcccggagct ccggcggcgg ctccaccggc gaaagagatc 120
ccggagggtcc tagtggaccc acgcagccgg cggcgctatg tgcggggccg ctttttgggc 180
aagggcggct ttgccaagtg cttcgagatc tccgacgcgg acaccaagga ggtggtcgcg 240
ggcaagattg tgcctaagtc tctgctgctc aagccgcacc agagggagaa gatgtccatg 300
gaaatatcca ttcaccgcag cctcgcccac cagcacgtcg taggattcca cggctttttc 360
gaggacaacg acttcgtggt cgtggtggtg gagctctgcc gccggaggtc tctcctggag 420
ctgcacaaga ggaggaaagc cctgactgag cctgaggccc gatactacct acggcaaatt 480
gtgcttggct gccagtacct gcaccgaaac cgagttatc atcgagacct caagctgggc 540
aaccttttcc tgaatgaaga tctggaggtg aaaatagggg attttggact ggcaacccaa 600
gtcgaatatg acggggagag gaagaagacc ctggtgggga ctctaatta catagctccc 660
gaggtgctga gcaagaaagg gcacagtttc gaggtggatg tgtggtccat tgggtgtatc 720
atgtatacct tgttagtggg caaaccacct tttgagactt cttgcctaaa agagacctac 780
ctccggatca agaagaatga atacagtatt cccaagcaca tcaaccccgt ggccgcctcc 840
ctcatccaga agatgcttca gacagatccc actgcccgcc caaccattaa cgagctgctt 900
aatgacgagt tctttacttc tggctatatc cctgcccgtc tccccatcac ctgcctgacc 960
attccaccaa ggttttcgat tgcctccagc agcctggacc ccagcaaccg gaagcccctc 1020
acagtctca ataaaggctt ggagaacccc ctgctgagc gtccccggga aaaagaagaa 1080
ccagtggttc gagagacagg tgaggtggtc gactgccacc tcagtgacat gctgcagcag 1140
ctgcacagtg tcaatgcctc caagccctcg gagcgtgggc tggtcaggca agaggaggct 1200
gaggtactcg cctgcacccc catcttctgg gtcagcaagt ggggtgacta ttcggacaag 1260
tacggccttg ggtatcagct ctgtgataac agcgtggggg tgctcttcaa tgactcaaca 1320
cgctcatcc tctacaatga tggtgacagc ctgcagtaca tagagcgtga cggcactgag 1380
tctacacctc ccgtgagttc ccatcccac tctttgatga agaagatcac cctccttaa 1440
tatttccgca attacatgag cgagcacttg ctgaaggcag gtgccaacat cacgcccgcg 1500
gaaggtgatg agctgcgccg gctgcctac ctaocggaact ggttccgcac ccgcagcgc 1560
atcatctgac acctcagcaa cggcagcgtg cagatcaact tcttccagga tcacaccaag 1620
ctcatcttgt gccactgat ggcagccgtg acctacatcg acgagaagcg ggacttccgc 1680
acataccgcc tgagtctcct ggaggagtac ggctgctgca aggagctggc cagccggctc 1740
cgctacgccc gcactatggt ggacaagctg ctgagctcac gctcggccag caaccgtctc 1800
aagcctcc
    
```

## Secuencia de ADN que codifica para cebador de PCR [SEQ ID NO: 2]

```

agtgctgcag tgactgcagg gaagctg 27
    
```

## Secuencia de ADN que codifica para cebador de PCR [SEQ ID NO: 3]

```

ttaggaggcc ttgagacggt tgctggccc 29
    
```

## Secuencia de ADN que codifica para cebador de PCR [SEQ ID NO: 4]

```

aaatctagag ccaccatgga ctacaaggac gacgatgaca agagtgctgc agtgactgca 60
gggaagctg
    
```

# FIGURA 1B

## Secuencia de ADN que codifica para cebador de PCR [SEQ ID NO: 5]

tggcaactag aaggcacagt cgaggct

27

## Secuencia de proteína que codifica para PLK1 con etiqueta FLAG [SEQ ID NO: 6]

Met	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	Ser	Ala	Ala	Val	Thr	Ala	Gly
				5					10					15	
Lys	Leu	Ala	Arg	Ala	Pro	Ala	Asp	Pro	Gly	Lys	Ala	Gly	Val	Pro	Gly
			20					25					30		
Val	Ala	Ala	Pro	Gly	Ala	Pro	Ala	Ala	Ala	Pro	Pro	Ala	Lys	Glu	Ile
			35				40					45			
Pro	Glu	Val	Leu	Val	Asp	Pro	Arg	Ser	Arg	Arg	Arg	Tyr	Val	Arg	Gly
						55					60				
Arg	Phe	Leu	Gly	Lys	Gly	Gly	Phe	Ala	Lys	Cys	Phe	Glu	Ile	Ser	Asp
					70					75					80
Ala	Asp	Thr	Lys	Glu	Val	Phe	Ala	Gly	Lys	Ile	Val	Pro	Lys	Ser	Leu
				85					90					95	
Leu	Leu	Lys	Pro	His	Gln	Arg	Glu	Lys	Met	Ser	Met	Glu	Ile	Ser	Ile
			100					105					110		
His	Arg	Ser	Leu	Ala	His	Gln	His	Val	Val	Gly	Phe	His	Gly	Phe	Phe
			115				120					125			
Glu	Asp	Asn	Asp	Phe	Val	Phe	Val	Val	Leu	Glu	Leu	Cys	Arg	Arg	Arg
			130			135					140				
Ser	Leu	Leu	Glu	Leu	His	Lys	Arg	Arg	Lys	Ala	Leu	Thr	Glu	Pro	Glu
					150					155					160
Ala	Arg	Tyr	Tyr	Leu	Arg	Gln	Ile	Val	Leu	Gly	Cys	Gln	Tyr	Leu	His
				165					170					175	
Arg	Asn	Arg	Val	Ile	His	Arg	Asp	Leu	Lys	Leu	Gly	Asn	Leu	Phe	Leu
			180					185					190		
Asn	Glu	Asp	Leu	Glu	Val	Lys	Ile	Gly	Asp	Phe	Gly	Leu	Ala	Thr	Lys
			195				200					205			
Val	Glu	Tyr	Asp	Gly	Glu	Arg	Lys	Lys	Thr	Leu	Cys	Gly	Thr	Pro	Asn
			210			215					220				
Tyr	Ile	Ala	Pro	Glu	Val	Leu	Ser	Lys	Lys	Gly	His	Ser	Phe	Glu	Val
					230					235					240
Asp	Val	Trp	Ser	Ile	Gly	Cys	Ile	Met	Tyr	Thr	Leu	Leu	Val	Gly	Lys
				245					250					255	
Pro	Pro	Phe	Glu	Thr	Ser	Cys	Leu	Lys	Glu	Thr	Tyr	Leu	Arg	Ile	Lys
			260					265					270		
Lys	Asn	Glu	Tyr	Ser	Ile	Pro	Lys	His	Ile	Asn	Pro	Val	Ala	Ala	Ser
			275				280					285			
Leu	Ile	Gln	Lys	Met	Leu	Gln	Thr	Asp	Pro	Thr	Ala	Arg	Pro	Thr	Ile
			290			295					300				
Asn	Glu	Leu	Leu	Asn	Asp	Glu	Phe	Phe	Thr	Ser	Gly	Tyr	Ile	Pro	Ala
				310						315					320
Arg	Leu	Pro	Ile	Thr	Cys	Leu	Thr	Ile	Pro	Pro	Arg	Phe	Ser	Ile	Ala
				325					330					335	

# FIGURA 1C

Pro	Ser	Ser	Leu	Asp	Pro	Ser	Asn	Arg	Lys	Pro	Leu	Thr	Val	Leu	Asn
			340					345					350		
Lys	Gly	Leu	Glu	Asn	Pro	Leu	Pro	Glu	Arg	Pro	Arg	Glu	Lys	Glu	Glu
		355					360					365			
Pro	Val	Val	Arg	Glu	Thr	Gly	Glu	Val	Val	Asp	Cys	His	Leu	Ser	Asp
	370					375					380				
Met	Leu	Gln	Gln	Leu	His	Ser	Val	Asn	Ala	Ser	Lys	Pro	Ser	Glu	Arg
385					390					395					400
Gly	Leu	Val	Arg	Gln	Glu	Glu	Ala	Glu	Asp	Pro	Ala	Cys	Ile	Pro	Ile
				405					410					415	
Phe	Trp	Val	Ser	Lys	Trp	Val	Asp	Tyr	Ser	Asp	Lys	Tyr	Gly	Leu	Gly
			420					425					430		
Tyr	Gln	Leu	Cys	Asp	Asn	Ser	Val	Gly	Val	Leu	Phe	Asn	Asp	Ser	Thr
		435					440					445			
Arg	Leu	Ile	Leu	Tyr	Asn	Asp	Gly	Asp	Ser	Leu	Gln	Tyr	Ile	Glu	Arg
	450					455					460				
Asp	Gly	Thr	Glu	Ser	Tyr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	His	Pro	Asn	Ser	Leu
465					470					475					480
Met	Lys	Lys	Ile	Thr	Leu	Leu	Lys	Tyr	Phe	Arg	Asn	Tyr	Met	Ser	Glu
				485					490					495	
His	Leu	Leu	Lys	Ala	Gly	Ala	Asn	Ile	Thr	Pro	Arg	Glu	Gly	Asp	Glu
			500					505					510		
Leu	Ala	Arg	Leu	Pro	Tyr	Leu	Arg	Thr	Trp	Phe	Arg	Thr	Arg	Ser	Ala
		515					520					525			
Ile	Ile	Leu	His	Leu	Ser	Asn	Gly	Ser	Val	Gln	Ile	Asn	Phe	Phe	Gln
	530					535					540				
Asp	His	Thr	Lys	Leu	Ile	Leu	Cys	Pro	Leu	Met	Ala	Ala	Val	Thr	Tyr
545					550					555					560
Ile	Asp	Glu	Lys	Arg	Asp	Phe	Arg	Thr	Tyr	Arg	Leu	Ser	Leu	Leu	Glu
				565					570					575	
Glu	Tyr	Gly	Cys	Cys	Lys	Glu	Leu	Ala	Ser	Arg	Leu	Arg	Tyr	Ala	Arg
			580					585					590		
Thr	Met	Val	Asp	Lys	Leu	Leu	Ser	Ser	Arg	Ser	Ala	Ser	Asn	Arg	Leu
		595					600						605		
Lys	Ala	Ser													
	610														