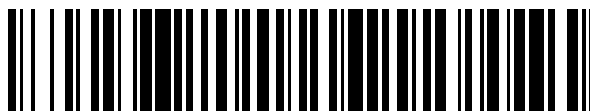


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 316**

51 Int. Cl.:

C07D 221/12 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

C07D 495/04 (2006.01)

C07D 513/04 (2006.01)

A61K 31/473 (2006.01)

A61K 31/4738 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.08.2007 E 07841767 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.10.2014 EP 2061765**

54 Título: **Moduladores de la serina-treonina proteína quinasa y de PARP**

30 Prioridad:

01.09.2006 US 842061 P

13.09.2006 US 844542 P

22.09.2006 US 846683 P

07.12.2006 US 873936 P

19.03.2007 US 895716 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.02.2015

73 Titular/es:

SENHWA BIOSCIENCES, INC. (100.0%)
9F, No. 205-1, Peishin Road, Section 3
Hsintien, New Taipei City, TW

72 Inventor/es:

CHUA, PETER C.;
PIERRE, FABRICE y
WHITTEN, JEFFREY P.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 528 316 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

Moduladores de la serina-treonina proteína quinasa y de PARP

5 Referencias cruzada con solicitudes relacionadas

Esta solicitud reclama prioridad con respecto a la 35 U.S.C. § 119(e) para la solicitud provisional de EE. UU. con N.º de serie 60/842.061 presentada el 1 de septiembre de 2006, la solicitud provisional de EE. UU. con N.º de serie 60/844.542 presentada el 13 de septiembre de 2006; la solicitud provisional de EE. UU. con N.º de serie 60/846.683 presentada el 22 de septiembre de 2006; la solicitud provisional de EE. UU. con N.º de serie 60/873.936 presentada el 7 de diciembre de 2006 y la solicitud provisional de EE. UU. con N.º de serie 60/859.716 presentada el 19 de marzo de 2007.

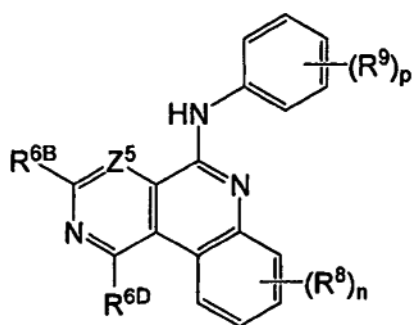
Campo de la invención

15 La invención se refiere en parte a moléculas que tienen determinadas actividades biológicas que incluyen, sin limitaciones, inhibición de la proliferación celular, modulación de la actividad serina-treonina proteína quinasa y modulación de la actividad polimerasa. Las moléculas de la invención pueden modular la actividad caseína quinasa (CK) (p. ej., actividad CK2) y/o la actividad poli(ADP-ribosa)polimerasa (PARP). La invención también se refiere en parte a los procedimientos para el uso de estas moléculas. Cherubim y col., Anti-Cancer Drug Design, 8 (1993), 429-438 describen cardoxamidas derivadas de fenantreno como agentes citotóxicos.

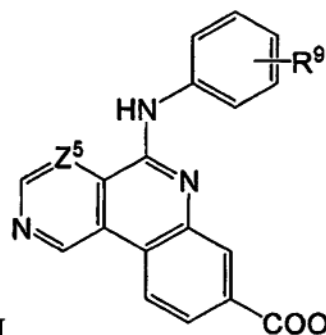
Descripción de la invención

25 La presente invención en parte proporciona compuestos químicos que tienen determinadas actividades biológicas que incluyen, sin limitaciones, inhibición de la proliferación celular, inhibición de la angiogénesis, modulación de la actividad serina-treonina proteína quinasa y modulación de la actividad polimerasa. Determinadas moléculas pueden modular la actividad caseína quinasa 2 (CK2) y/o la actividad poli(ADP-ribosa)polimerasa (PARP) y pueden afectar a funciones biológicas que incluyen, sin limitaciones, la inhibición de la transferencia de fosfato gamma de ATP a un sustrato proteico o peptídico, inhibición de la angiogénesis, inhibición de la proliferación celular e inducción de la apoptosis celular, por ejemplo. También se describen en este documento procedimientos para preparar nuevos compuestos químicos, y análogos de los mismos, y procedimientos para el uso de los compuestos precedentes. También se describen en este documento composiciones que comprenden las moléculas descritas anteriormente en combinación con otros agentes, y los procedimientos para el uso de dichas moléculas en combinación con otros agentes.

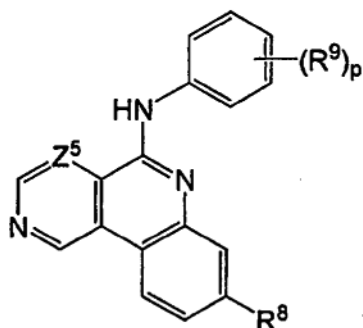
35 Los compuestos de la invención tienen las fórmulas generales XIII, XIV, XV y XVI:



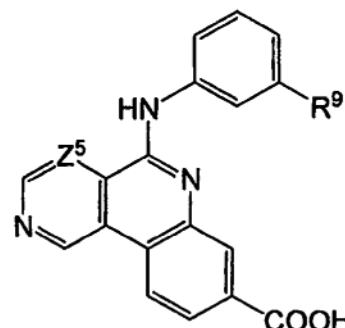
Fórmula XIII



Fórmula XIV



Fórmula XV



Fórmula XVI

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, donde:

5 Z^5 es N o CR^{6A} ;

cada R^{6A} , R^{6B} , R^{6D} y R^8 independientemente es H o un grupo alquilo C1-C8, cicloalquilo C3-C8, heteroalquilo C2-C8, heterocicloalquilo C3-C8, alquelino C2-C8, cicloalqueno C3-C8, heteroalqueno C2-C8, heterocicloalqueno C3-C8, alquinilo C2-C8, heteroalquinilo C2-C8, acilo C1-C8, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C12, arilalquilo C7-C12 o heteroarilalquilo C6-C12 opcionalmente sustituido.

o cada R^{6A} , R^{6B} , R^{6D} y R^8 independientemente es halo, CF_3 , OR, NR_2 , NROR, $NRNR_2$, SR, SOR, SO_2R , SO_2NR_2 , $NRSO_2R$, $NRCONR_2$, $NRCOOR$, $NRCOR$, CN, COOR, carboxi bioisótero, $CONR_2$, OOCR, COR o NO_2 ,

15 R^9 es independientemente un grupo alquilo C1-C8, cicloalquilo C3-C8, heteroalquilo C2-C8, heterocicloalquilo C3-C8, alquelino C2-C8, cicloalqueno C3-C8, heteroalqueno C2-C8, heterocicloalqueno C3-C8, alquinilo C2-C8, heteroalquinilo C2-C8, acilo C1-C8, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C12, arilalquilo C7-C12 o heteroarilalquilo C6-C12 opcionalmente sustituido o

20 R^9 es independientemente halo, OR, NR_2 , NROR, $NRNR_2$, SR, SOR, SO_2R , SO_2NR_2 , $NRSO_2R$, $NRCONR_2$, $NRCOOR$, $NRCOR$, CN, COOR, $CONR_2$, OOCR, COR o NO_2 ,

donde cada R es independientemente H o un grupo alquilo C1-C8, cicloalquilo C3-C8, heteroalquilo C2-C8, heterocicloalquilo C3-C8, alquelino C2-C8, cicloalqueno C3-C8, heteroalqueno C2-C8, heterocicloalqueno C3-C8, alquinilo C2-C8, heteroalquinilo C2-C8, acilo C1-C8, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C10, arilalquilo C7-C12 o heteroarilalquilo C6-C12,

y donde dos R en el mismo átomo o en átomos adyacentes pueden estar unidos para formar un anillo de 3-8 átomos, que opcionalmente contiene uno o más N, O o S;

30

y cada grupo R, y cada anillo formado por la unión de dos grupos R conjuntamente, está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados a partir de halo, =O, =N-CN, N-OR', =NR', OR', NR'_2 , SR', SO_2R' , $SO_2NR'_2$, $NR'SO_2R'$, $NR'CONR'_2$, $NR'COOR'$, $NR'COR'$, CN, COOR', $CONR'_2$, OOCR', COR' y NO_2 ,

35 donde cada R' es independientemente H, alquilo C1-C6, cicloalquilo C3-C6, heteroalquilo C2-C6, heterocicloalquilo C3-C6, acilo C1-C6, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C10, arilalquilo C7-12 o heteroarilalquilo C6-12, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados a partir de halo, alquilo C1-C4,

cicloalquilo C3-C4, heteroalquilo C1-C4, heterocicloalquilo C3-C4, acilo C1-C6, hidroxilo, amino y =O;

y donde dos R' pueden estar unidos para formar un anillo de 3-7 átomos que opcionalmente contenga hasta tres heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S;

5

n es de 0 a 4; y

p es de 0 a 4; y

10 el sustituyente opcional mencionado anteriormente se selecciona a partir del grupo compuesto por halo, =O, =N-CN, =N-OR, =NR, OR, NR₂, SR, SO₂R, SO₂NR₂, NRSO₂R, NRCONR₂, NRCOOR, NRCOR, CN, C≡CR, COOR, CONR₂, OOCR, COR y NO₂, donde cada R es independientemente H, alquilo C1-C8, cicloalquilo C3-C8, heteroalquilo C2-C8, heterocicloalquilo C3-C8, acilo C1-C8, alqueno C2-C8, cicloalqueno C3-C8, heteroalqueno C2-C8, heterocicloalqueno C3-C8, alquino C2-C8, heteroalquino C2-C8, arilo C6-C10 y heteroarilo C5-C10, y cada R está

15 opcionalmente sustituido con halo, =O, =N-CN, N-OR', =NR', OR', NR'₂, SR', SO₂R', SO₂NR'₂, NR'SO₂R', NR'CONR'₂, NR'COOR', NR'COR', CN, C=CR', COOR', CONR'₂, OOCR', COR' y NO₂, donde cada R' es independientemente H, alquilo C1-C8, cicloalquilo C3-C8, heteroalquilo C2-C8, heterocicloalquilo C3-C8, acilo C1-C8, arilo C6-C10 o heteroarilo C5-C10;

20 y donde un grupo heteroalquilo es un grupo alquilo que tiene 1-3 heteroátomos O, S o N o combinaciones de los mismos dentro del resto estructural, un grupo heteroalqueno es un grupo alqueno que tiene 1-3 heteroátomos O, S o N o combinaciones de los mismos dentro del resto estructural y un grupo heteroalquino es un grupo alquino que tiene 1-3 heteroátomos O, S o N o combinaciones de los mismos dentro del resto estructural.

25 El término "sustituyente polar" según se usa en este documento se refiere a cualquier sustituyente que tiene un dipolo eléctrico y, opcionalmente, un momento dipolo (p. ej., un sustituyente polar asimétrico tiene un momento dipolo y un sustituyente polar simétrico no tiene momento dipolo). Entre los sustituyentes polares se incluyen sustituyentes que aceptan o donan un enlace de hidrógeno, y grupo que podrían llevar al menos una carga parcial positiva o negativa en solución acuosa a niveles de pH fisiológico. En determinadas realizaciones, un sustituyente

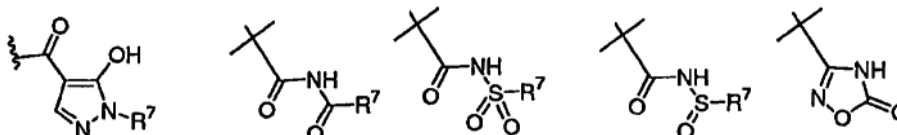
30 polar es aquel que puede aceptar o donar electrones en un enlace de hidrógeno no covalente con otro resto químico. En determinadas realizaciones, un sustituyente polar se selecciona a partir de un resto carboxi, un carboxi bioisómero u otro resto derivado de ácido que se encuentra predominantemente como anión a un pH de aproximadamente 7 a 8. Entre otros sustituyentes polares se incluyen, sin limitaciones, grupos que contienen un OH o un NH, un éter de oxígeno, una amina de nitrógeno, un sulfuro o nitrógeno oxidado, un carbonilo, un nitrilo y un

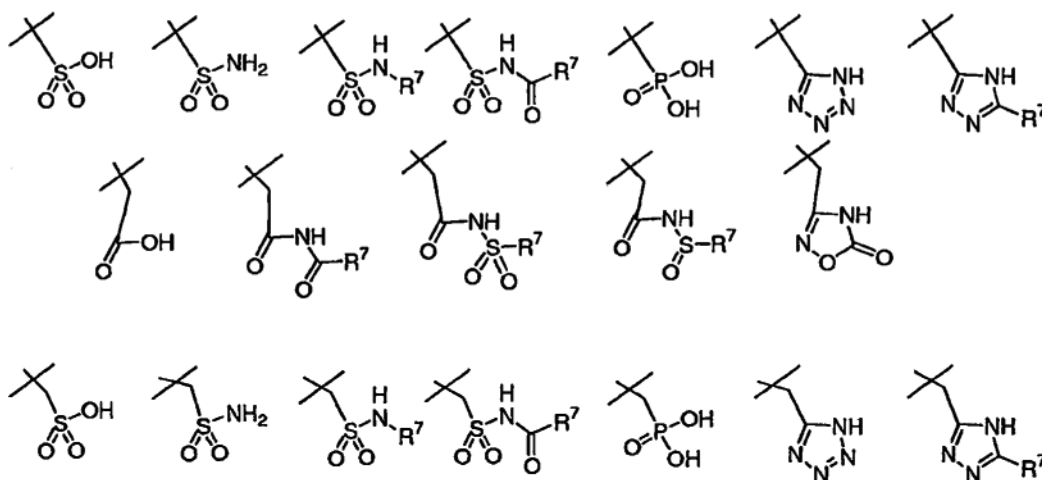
35 anillo heterocíclico que contiene nitrógeno u oxígeno tanto aromático como no aromático. En algunas realizaciones, el sustituyente polar representado por R³ es un carboxilato y un carboxilato bioisómero.

"Carboxilato bioisómero" o "carboxi bioisómero" según se usa en este documento se refiere a un resto que se prevé está cargado negativamente hasta un grado sustancial a pH fisiológico.

40

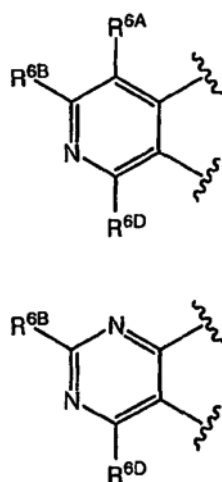
En determinadas realizaciones, el carboxilato bioisómero es un resto seleccionado entre el grupo compuesto por:





y sales y profármacos de los anteriores, donde cada R^7 es independientemente H o un átomo opcionalmente sustituido entre el grupo compuesto por alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , heteroalquilo C_{2-10} , anillo carbocíclico C_{3-8} y anillo heterocíclico C_{3-8} opcionalmente fusionado con un anillo carbocíclico o heterocíclico adicional opcionalmente sustituido; o R^7 es un alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o heteroalquilo C_{2-10} sustituido con un anillo carbocíclico C_{3-8} o un anillo heterocíclico C_{3-8} opcionalmente sustituido. En determinadas realizaciones, el sustituyente polar se selecciona a partir del grupo compuesto por ácido carboxílico, éster carboxílico, carboxamida, tetrazol, triazol, carboximetanosulfonamida, oxadiazol, oxotiadiazol, tiazol, aminotiazol e hidroxitiazol. En algunas realizaciones, al menos un R^3 presente es un ácido carboxílico o una sal, o éster o un bioisómero del mismo. En determinadas realizaciones, al menos un R^3 presente es un sustituyente que contiene un ácido carboxílico o una sal, éster o un bioisómero del mismo. En las últimas realizaciones, el sustituyente R^3 puede ser un alquilo C1-C10 o alquenilo C1-C10 unido a un ácido carboxílico (o sal, éster o bioisómero del mismo), por ejemplo, y en algunas realizaciones, el sustituyente R^3 no es $\text{-NHCOOCH}_2\text{CH}_3$.

Uno o más átomos de nitrógeno del anillo dentro del anillo que contiene Z^5 pueden estar dispuestos como sigue:



donde cada R^{6A} , R^{6B} , R^{6C} y R^{6D} independientemente es como se define anteriormente.

En determinadas realizaciones para compuestos de fórmulas XIII, XIV, XV y XVI, Z^5 es N. En algunas realizaciones, R^8 es un carboxilato o un ácido carboxílico. En determinadas realizaciones, R^9 se selecciona a partir de $\text{-C}\equiv\text{CR}$, $\text{-C}\equiv\text{CH}$, -CH_3 , $\text{-CH}_2\text{CH}_3$, -CF_3 , $\text{-C}\equiv\text{N}$, -OR o halógeno. En algunas realizaciones R^9 se selecciona a partir de halógeno, $\text{-C}\equiv\text{CR}$ o $\text{-C}\equiv\text{CH}$. En determinadas realizaciones R^9 se selecciona a partir de halógeno o $\text{-C}\equiv\text{CH}$, y en algunas realizaciones R^9 es halógeno, es cloro, es bromo o es $\text{-C}\equiv\text{CH}$.

También se describe en este documento una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en este documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas pueden utilizarse en

tratamientos descritos en este documento.

También se describen en este documento procedimientos para identificar una molécula candidata que interacciona con una proteína CK2 o PARP, que comprende: poner en contacto una composición que contiene una proteína CKA 5 o PARP y un compuesto descrito en este documento con una molécula candidata en condiciones en las que el compuesto y la proteína interaccionan, y determinan si la cantidad del compuesto que interacciona con la proteína está modulada en relación con una interacción control entre el compuesto y la proteína sin la molécula candidata, por el cual una molécula candidata que modula la cantidad del compuesto que interacciona con la proteína relativa a la interacción control se identifica como una molécula candidata que interacciona con la proteína. La proteína puede ser una proteína CK2, como una proteína CK2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N.º 1, 2 o 3 o una variante sustancialmente idéntica de la misma, por ejemplo.

SEC ID N.º. 1 (NP_001886: isoforma a de la subunidad alfa 1 de la caseína quinasa II [Homo sapiens])

1 msgpvpsrar vytdivnthrp reywdyeshv vewgnqddyq lvrklgrgky sevfeainit
 61 nnekvvvkiil kpvkkkkikr eikilenlrg gpnitladi vkdpvsrtpa lvfehnntd
 121 fkqlyqtltid ydirfymyei lkaldychsm gimhrdvkph nvmidhehrk lrlidwglae
 181 fyhpggqeynv rvasryfkgp ellvdyqmyd ysldmwsllgc mlasmi frke pffhghdnyd
 241 qlvriakvlq tedlydyidk yniel dprfn dilgrhsrkr werfvhsenq hlvspaldf
 301 ldkllrydhq srltareame hpyfytvvdq qarmgssmp ggstpvssan mmsgissvpt
 15 361 pspplgplags pviaaanplg mpvpaaagaq q

SEC ID N.º. 2 (NP_808227: isoforma a de la subunidad alfa 1 de la caseína quinasa II [Homo sapiens])

1 msgpvpsrar vytdivnthrp reywdyeshv vewgnqddyq lvrklgrgky sevfeainit
 61 nnekvvvkiil kpvkkkkikr eikilenlrg gpnitladi vkdpvsrtpa lvfehnntd
 121 fkqlyqtltid ydirfymyei lkaldychsm gimhrdvkph nvmidhehrk lrlidwglae
 181 fyhpggqeynv rvasryfkgp ellvdyqmyd ysldmwsllgc mlasmi frke pffhghdnyd
 241 qlvriakvlq tedlydyidk yniel dprfn dilgrhsrkr werfvhsenq hlvspaldf
 301 ldkllrydhq srltareame hpyfytvvdq qarmgssmp ggstpvssan mmsgissvpt
 20 361 pspplgplags pviaaanplg mpvpaaagaq q

SEC ID N.º. 3 (NP_808228: isoforma b de la subunidad alfa 1 de la caseína quinasa II [Homo sapiens])

1 myeilkaldy chsmgimhrd vkphnvmidh ehrklrlidw glae fyhpgq eynvrvasry
 61 fkgpellvdy qmydysldmw slgcmlasmi frke pffhgh dnydqlvria kvlgtedlyd
 121 yidkynield prfndilgrh srkrwerfvh senqhlvspe aldfldkllr ydhqsrltar
 181 eamehpyfyt vvdqarmgs ssmggstpv ssanmmsgis svptpsplgp lagspviaaa
 241 nplgmpvpaa agaqq

25 En algunas realizaciones, la proteína es una proteína PARP tal como una proteína PARP que comprende la secuencia de aminoácido de la SEC ID N.º 4 o una variante sustancialmente idéntica de la misma, por ejemplo.

SEC ID N.º. 4 (NP_001609: miembro 1 de la familia de la polimerasa poli (ADP-ribosa), [Homo sapiens])

1 maessdklyr veyaksgras ckkcsesipk dslrmainvq spmfdgkvpw wyhfscfwkv

61 ghsirhpvde vdgfsehrwd dqqkvkktae aggvtgkqgd gfgskaekt1 gdfaaeyaks
 121 nrstckgcmr kiekgqvr1s kkmvdpekpg lgmidrwyhp gcfvknreel gfrpeysasg
 181 lkgflllate dkealkkqlp gvksegkrkg devdgvdeva kkkskkekdk dsklekalka
 241 qndliwnikd elkkvcstnd lkellifnkq qvpsgesail drvadgmvfq allpceecsg
 301 qlvfksdayy ctgdvtawtk cmvktqtpnr kewvtpkefr eisy1kk1kv kkqdri1fpe
 361 tsasvaatpp pstasapaav nssasadkpl snmkilt1gk lsrnkdevka mieklggklt
 421 gtankaslci stkkevekmn kkmeevkean irvvsedflq dvsastkslq elflahilsp
 481 wgaevkaepv evvaprkgsg aalskkskqg vkeeginkse krmklt1k1gg aavdpdsgle
 541 hsahvlekqg kvfsat1glv divkgtnsy1 klqlleddeke nrywifrs1g rvgtvigsnk
 601 legmpskeda ieqfmklyee ktgnawhskn ftkypkkfyp leidyggdee avkkl1vnp1g
 661 tksklpkpvq dlikmifdve smkkamveye idlqkmp1gk lskrq1qaay silseyqqav
 721 sqgssdsqil d1snr1fyt1i phdfgmk1pp l1nnadsvqa kvemldn1ld ievays1lrg
 781 gsddssk1pi d1vnyek1ktd ikvvd1rdsee ae1irkyvkn thatthsayd levidifkie
 841 regecqrykp fkqlhnr1rl whgsrttnfa gilsqglria ppeapvtgym fgkgiyfadm
 901 vsksanyyht sqgdp1glil lgevalgnmy elkhashisr lpkgkhs1vk lgktt1pdpsa
 961 nisldgvdvp lgtgissgvi dtsllyneyi vydiaqvnk yllk1k1fnk t1slw

La proteína puede estar en una célula o en un sistema libre de células. La proteína, el compuesto o la molécula puede estar en asociación con una fase sólida. La interacción entre el compuesto y la proteína puede detectarse a través de un marcador detectable, donde en algunas realizaciones la proteína comprende un marcador detectable y en determinadas realizaciones el compuesto comprende un marcador detectable. La interacción entre el compuesto y la proteína se detecta en ocasiones sin un marcador detectable.

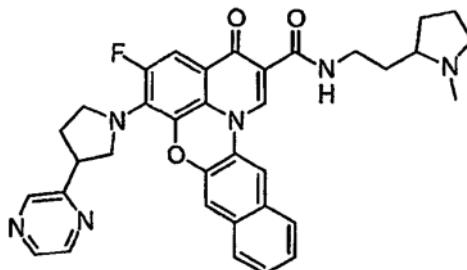
También se describen en este documento procedimientos para modular la actividad de una proteína CK2 o una proteína PARP, que comprenden poner en contacto un sistema que comprende la proteína con un compuesto descrito en este documento en una cantidad eficaz para modular la actividad de la proteína. La actividad de la proteína puede verse inhibida y en ocasiones la proteína es una proteína CK2, como una proteína CK2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N.º 1, 2 o 3 o una variante sustancialmente idéntica de la misma, por ejemplo. La proteína puede ser una proteína PARP, como una proteína PARP que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N.º 4 o una variante sustancialmente idéntica de la misma, por ejemplo. El sistema puede ser una célula, y el sistema puede ser un sistema libre de células. La proteína o el compuesto puede estar en asociación con una fase sólida.

También se describen en este documento procedimientos para inhibir la proliferación celular, que comprenden poner en contacto las células con un compuesto descrito en este documento en una cantidad eficaz para inhibir la proliferación de las células. Las células en ocasiones están en una línea celular, como una línea celular de cáncer (p. ej., línea celular de cáncer de mama, de cáncer de próstata, de cáncer de páncreas, de cáncer de pulmón, de cáncer hematopoyético, de cáncer colorrectal, de cáncer de piel o de cáncer de ovario), por ejemplo. La línea celular de cáncer puede ser una línea celular de cáncer de mama, de cáncer de próstata o de cáncer pancreático. Las células en ocasiones están en un tejido, pueden estar en un sujeto, a veces están en un tumor y en otras ocasiones están en un tumor en un sujeto. Además el procedimiento puede comprender la inducción de apoptosis celular. Las células en ocasiones son de un sujeto con degeneración macular.

También se describen en este documento procedimientos para el tratamiento de una afección relacionada con proliferación celular aberrante, que comprende administrar un compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesita en una cantidad eficaz para tratar la afección de proliferación celular. La afección de proliferación celular puede ser un cáncer asociado a tumor. El cáncer en ocasiones es de mama, próstata, páncreas, pulmón, colorrectal, piel u ovario. La afección de proliferación celular puede ser un cáncer no tumoral, como un cáncer hematopoyético, por ejemplo. La afección de proliferación celular puede ser degeneración macular.

También se describen en este documento procedimientos para tratar el cáncer o una enfermedad inflamatoria en un sujeto que necesita de dicho tratamiento, que comprende: administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéutico como se describe en este documento, y administrar al sujeto una molécula que inhibe PARP o CK2 en una cantidad que es eficaz para potenciar un efecto deseado del agente terapéutico. El agente terapéutico en ocasiones es un compuesto de fórmula TA1-1, TA2, TA3-1, TA4-1, TA5-1 o TA6-1 como se describe en este documento, o una sal farmacéuticamente aceptable de uno de estos compuestos. La molécula que inhibe PARP o CK2 puede ser un compuesto conocido mostrado a continuación, o un compuesto en una de las tablas proporcionadas en este documento, o una sal farmacéuticamente aceptable de uno de estos compuestos. El efecto

deseado del agente terapéutico que se potencia con la molécula que inhibe PARP o CK2 puede ser una reducción en la proliferación celular. El efecto deseado del agente terapéutico que se potencia con la molécula que inhibe PARP o CK2 puede ser un aumento en la apoptosis en al menos un tipo de células. El agente terapéutico puede ser:

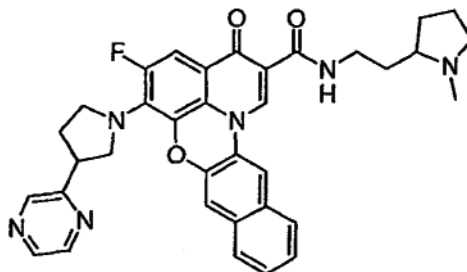


5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un isómero específico o mezcla de isómeros del mismo. El agente terapéutico y la molécula que inhiben PARP o CK2 pueden administrarse sustancialmente al mismo tiempo. El agente terapéutico y la molécula que inhiben PARP o CK2 en ocasiones se usan de forma concurrente por el sujeto. El agente terapéutico y la molécula que inhiben PARP o CK2 pueden estar combinados en una composición farmacéutica.

También se describe en este documento una composición farmacéutica que comprende un agente terapéutico de cualquiera de las fórmulas TA1-1, TA2, TA3-1, TA4-1, TA5-1 o TA6 mezclado con una molécula que inhibe PARP o CK2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas composiciones farmacéuticas, la molécula que inhibe PARP o CK2 es un inhibidor de PARP y es un compuesto conocido mostrado anteriormente, o es GPI 15427 o GPI 16539. El agente terapéutico puede ser un compuesto de fórmula TA2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Una composición terapéutica puede comprender una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de fórmula TA2:

20



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un isómero específico o mezcla de isómeros del mismo, mezclado con una cantidad de un inhibidor de PARP o una sal farmacéuticamente aceptable, donde el inhibidor de PARP se selecciona a partir del grupo compuesto por GPI 15427, GPI 16539 y los compuestos conocidos mostrados anteriormente, y donde la cantidad del inhibidor de PARP o la sal farmacéuticamente aceptable de un inhibidor de PARP es una cantidad que es eficaz para potenciar un efecto deseado del agente terapéutico.

También se describen en este documento composiciones que comprenden un compuesto descrito en este documento y una proteína aislada. La proteína en ocasiones puede ser una proteína CK2, tal como una proteína CK2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N.º 1, 2 o 3 o una variante sustancialmente idéntica de la misma, por ejemplo. La proteína puede ser una proteína PARP, tal como una proteína PARP que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N.º 4, o una variante sustancialmente idéntica de la misma, por ejemplo. Determinadas composiciones comprenden un compuesto descrito en este documento en combinación con una célula. La célula puede proceder de una línea celular, como una línea celular de cáncer. La línea celular de cáncer es en ocasiones una línea celular de cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer hematopoyético, cáncer colorrectal, cáncer de piel y cáncer de ovario.

La realizaciones de la invención se describen en la descripción siguiente.

40

Breve descripción de los dibujos

En la figura 1 se representan los datos del ensayo mostrando la inhibición de la actividad CK2.

Las figuras 2A y 2B muestran las concentraciones plasmáticas medias de los compuestos descritos en este documento a lo largo del tiempo tras la administración intravenosa y oral a ratones ICR.

Las figuras 3A y 3B muestran el volumen tumoral a lo largo del tiempo y el peso corporal a lo largo del tiempo, respectivamente, en animales con xenoinjerto portadores de tumores a los que se administró un compuesto descrito en este documento. En las figuras 3C y 3D se muestran los efectos del compuesto sobre tumores en animales individuales.

Las figuras 4A y 4B muestran el volumen tumoral a lo largo del tiempo y el peso corporal a lo largo del tiempo, respectivamente, en animales con xenoinjerto portadores de tumores a los que se administró un compuesto descrito en este documento.

Modos de realización de la invención

15 Los compuestos de fórmulas XIII, XIV, XV y XVI pueden mostrar actividades biológicas que incluyen, pero sin limitaciones, inhibición de la proliferación celular, modulación de la actividad proteína quinasa y modulación de la actividad polimerasa. Los compuestos de estas fórmulas pueden modular la actividad CK2 y/o la actividad PARP, por ejemplo. Estos compuestos, por tanto, pueden ser utilizados en múltiples aplicaciones por un experto en la materia. Por ejemplo, los compuestos descritos en este documento pueden encontrar usos entre los que se incluyen, entre otros, i) modulación de la actividad proteína quinasa (p. ej., actividad CK2), ii) modulación de la actividad polimerasa (p. ej., actividad PARP), iii) modulación de la proliferación celular, iv) modulación de la apoptosis y v) tratamientos de enfermedades relacionadas con la proliferación celular (p. ej., administración sola o administración conjunta con otra molécula).

25 "Opcionalmente sustituido" según se usa en este documento indica que el grupo o grupos en particular que se describen pueden no tener sustituyentes no hidrógeno o el grupo o grupos pueden tener uno o más sustituyentes no hidrógeno. Si no se especifica otra cosa, el número total de estos sustituyentes que pueden presentarse es igual al número de átomos de H presentes en la forma no sustituida del grupo descrito. Cuando un sustituyente opcional está unido a través de un doble enlace, como un oxígeno carbonilo (=O), el grupo cuenta con dos valencias disponibles, de manera que el número total de sustituyentes que pueden incluirse está reducido en función del número de valencias disponibles.

Los compuestos de la invención a menudo tienen grupos ionizables de modo que sea posible su preparación como sales. En este caso, siempre que se hace referencia al compuesto, se entiende en la técnica que también puede usarse una sal farmacéuticamente aceptable. Estas sales pueden ser sales de adición de ácido que implican a ácidos inorgánicos u orgánicos o las sales pueden, en el caso de formas ácidos de los compuestos de la invención, prepararse a partir de bases inorgánicas u orgánicas. Con frecuencia, los compuestos se preparan o usan como sales farmacéuticamente aceptables preparadas como productos de adición de ácidos o bases farmacéuticamente aceptables. Los ácidos y bases farmacéuticamente aceptables adecuados son bien conocidos en la técnica, como por ejemplo, ácidos clorhídrico, sulfúrico, bromhídrico, acético, láctico, cítrico o tartárico para formar sales de adición de ácido e hidróxido potásico, hidróxido sódico, hidróxido de amonio, cafeína, diversas aminas y similares para formar sales básicas. Los procedimientos de preparación de las sales apropiadas están bien establecidos en la técnica. En algunos casos, los compuestos pueden contener un grupo funcional ácido y un grupo básico, en cuyo caso pueden tener dos grupos ionizados y aún no tener carga neta.

45 En algunos casos, los compuestos de la invención contienen uno o más centros quirales. La invención incluye cada una de las formas estereoisoméricas aisladas así como mezclas de estereoisómeros en diversos grados de pureza quiral, incluyendo mezclas racémicas. También abarca los diversos diastereómeros y tautómeros que pueden formarse. Los compuestos de la invención también pueden existir en más de una forma tautomérica; la descripción en este documento de un tautómero es solo por conveniencia, y también se entiende que abarca a otros tautómeros de la forma mostrada.

Según se usa en este documento, los términos "alquilo", "alquenilo" y "alquinilo" incluyen radicales hidrocarbilo monovalentes de cadena lineal, cadena ramificada y cíclicos, y combinaciones de estos, que contienen solo C e H cuando están sustituidos. Entre los ejemplos se incluyen metilo, etilo, isobutilo, ciclohexilo, ciclopentiletilo, 2-propenilo, 3-butilino y similares. El número total de átomos de carbono en cada uno de estos grupos se describe en ocasiones en este documento, por ejemplo, cuando el grupo puede contener hasta 10 átomos de carbono puede representarse como 1-10C o como C1-C10 o C1-10. Cuando se permite que heteroátomos (N, O y S típicamente) sustituyan a átomos de carbono como en los grupos heteroalquilo, por ejemplo, los números que describen el grupo, aunque siguen escribiéndose, por ejemplo, C1-C6, representan la suma del número de átomos de carbono en el grupo más el número de estos heteroátomos que se incluyen como sustituyentes de átomos de carbono en el esqueleto del anillo o cadena que se describe.

Típicamente, los sustituyentes alquilo, alqueniilo y alquinilo de la invención contienen (alquilo) 1-10C o (alqueniilo o alquinilo) 2-10C. Preferiblemente contiene (alquilo) 1-8C o (alqueniilo o alquinilo) 2-8C. En ocasiones, contienen (alquilo) 1-4C o (alqueniilo o alquinilo) 2-4C. Un grupo individual puede incluir más de un tipo de enlace múltiple o más de un enlace múltiple; estos grupos se incluyen dentro de la definición del término "alqueniilo" cuando contienen al menos un enlace doble carbono-carbono, y se incluyen dentro del término "alquinilo" cuando contiene al menos un enlace triple carbono-carbono.

Los grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo están a menudo opcionalmente sustituidos hasta el punto en que dicha sustitución tenga químicamente sentido. Entre los sustituyentes típicos se incluyen, pero sin limitaciones, halo, =O, =N-CN, =N-OR, =NR, OR, NR₂, SR, SO₂R, SO₂NR₂, NRSO₂R, NRCONR₂, NRCOOR, NRCOR, CN, C≡CR, COOR, CONR₂, OOCR, COR y NO₂, donde cada R es independientemente H, alquilo C1-C8, heteroalquilo C2-C8, acilo C1-C8, heteroacilo C2-C8, alqueniilo C2-C8, heteroalqueniilo C2-C8, alquinilo C2-C8, heteroalquinilo C2-C8, arilo C6-C10 o heteroarilo C5-C10, y cada R está opcionalmente sustituido con halo, =O, =N-CN, =N-OR', =NR', OR', NR'₂, SR', SO₂R', SO₂NR'₂, NR'SO₂R', NR'CONR'₂, NR'COOR', NR'COR', CN, C≡CR', COOR', CONR'₂, OOCR', COR' y NO₂, donde cada R' es independientemente H, alquilo C1-C8, heteroalquilo C2-C8, acilo C1-C8, heteroacilo C2-C8, arilo C6-C10 o heteroarilo C5-C10. Los grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo también pueden estar sustituidos por acilo C1-C8, heteroacilo C2-C8, arilo C6-C10 o heteroarilo C5-C10, cada uno de los cuales puede estar sustituido por sustituyentes apropiados para el grupo en particular.

Los sustituyentes "acetileno" son grupos alquinilo 2-10C, que están opcionalmente sustituidos y tienen la fórmula -C≡C-R^a, donde R^a es H o alquilo C1-C8, heteroalquilo C2-C8, alqueniilo C2-C8, heteroalqueniilo C2-C8, alquinilo C2-C8, heteroalquinilo C2-C8, acilo C1-C8, heteroacilo C2-C8, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C10, arilalquilo C7-C12 o heteroarilalquilo C6-C12, y cada grupo R^a está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados a partir de halo, =O, =N-CN, =N-OR', =NR', OR', NR'₂, SR', SO₂R', SO₂NR'₂, NR'SO₂R', NR'CONR'₂, NR'COOR', NR'COR', CN, COOR', CONR'₂, OOCR', COR' y NO₂, donde cada R' es independientemente H, alquilo C1-C6, heteroalquilo C2-C6, acilo C1-C6, heteroacilo C2-C6, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C10, arilalquilo C7-12 o heteroarilalquilo C6-12, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados a partir de halo, alquilo C1-C4, heteroalquilo C1-C4, acilo C1-C6, heteroacilo C1-C6, hidroxilo, amino y =O; y donde dos R' pueden estar unidos para formar un anillo de 3-7 átomos que opcionalmente contiene hasta tres heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S. En algunas realizaciones, el R^a de -C≡C-R^a es H o Me.

"Heteroalquilo", "heteroalqueniilo" y "heteroalquinilo" y similares se definen de forma similar a los correspondientes grupos hidrocarbilo (alquilo, alqueniilo y alquinilo), pero el término "hetero" se refiere a grupos que contiene 1-3 heteroátomos de O, S o N o combinaciones de los mismos dentro del resto esqueleto, por tanto al menos un átomo de carbono de un grupo alquilo, alqueniilo o alquinilo correspondiente está sustituido por uno de los heteroátomos especificados para formar un grupo heteroalquilo, heteroalqueniilo o heteroalquinilo. Los tamaños típicos y preferidos para los heteroátomos de los grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo son generalmente los mismos que para los correspondientes grupos hidrocarbilo y los sustituyentes que pueden presentarse en las heteroformas son los mismos que los descritos anteriormente para los grupos hidrocarbilo. Por motivos de estabilidad química, también se entiende que, siempre que no se especifique otra cosa, estos grupos no incluyen más de dos heteroátomos contiguos excepto cuando se presenta un grupo oxo en N o S como es el caso de un grupo nitro o sulfonilo.

Mientras que "alquilo" según se usa en este documento, incluye grupos cicloalquilo y cicloalquilalquilo, el término "cicloalquilo" puede usarse en este documento para describir un grupo carbocíclico no aromático que está conectado a través de un átomo de carbono de un anillo y "cicloalquilalquilo" puede usarse para describir un grupo carbocíclico no aromático que está conectado con la molécula a través de un enlazador alquilo. De forma similar, "heterociclilo" puede usarse para describir un grupo cíclico no aromático que contiene al menos un heteroátomo como miembro de un anillo y que está conectado a la molécula a través de un átomo del anillo, que puede ser C o N; y "heterociclilalquilo" puede usarse para describir un grupo que está conectado con otra molécula a través de un enlazador. Los tamaños y sustituyentes que son adecuados para los grupos cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterociclilo y heterociclilalquilo son los mismos que los descritos anteriormente para grupos alquilos. Según se usa en este documento, estos términos también incluyen anillos que contienen un doble enlace o dos siempre que el anillo no sea aromático.

Según se usa en este documento, "acilo" abarca grupos que contienen un radical alquilo, alqueniilo, alquinilo, arilo o arilalquilo unido a uno de las dos posiciones de valencia disponibles de un átomo de carbono carbonilo, y heteroacilo se refiere a los grupos correspondientes donde al menos un carbono distinto al carbono carbonilo se ha sustituido por un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S. Por tanto, heteroacilo incluye por ejemplo, -C(=O)OR y -C(=O)NR₂ así como -C(=O)-heteroarilo.

Los grupos acilo y heteroacilo están unidos a cualquier grupo o molécula a la que se unen a través de la valencia abierta del átomo de carbono carbonilo. Típicamente, son grupos acilo C1-C8, que incluyen grupos formilo, acetilo, pivaloilo y benzoilo y, heteroacilo C2-C8, que incluyen metoxiacetilo, etoxiacarbonilo y 4-piridinilo. Los grupos

hidrocarbilo, grupos arilo y heteroformas de estos grupos que comprenden un grupo acilo o heteroacilo pueden estar sustituidos con los sustituyentes descritos en este documento como sustituyentes generalmente adecuados para cada uno de los compuestos correspondientes del grupo acilo o heteroacilo.

5 Resto "aromático" o resto "arilo" se refiere a un resto monocíclico o bicíclico fusionado que tiene las características bien conocidas de aromaticidad; entre los ejemplos se incluyen fenilo y naftilo. De forma similar, "heteroaromático" y "heteroarilo" se refiere a estos sistemas anulares monocíclicos o bicíclicos fusionados que contienen como átomos del anillo uno o más heteroátomos seleccionados a partir de O, S y N. La inclusión de un heteroátomo permite la aromaticidad en anillos de 5 átomos así como en anillos de 6 átomos. Entre los sistemas heteroaromáticos típicos se incluyen grupos aromáticos C5-C6 monocíclicos como piridilo, pirimidilo, pirazinilo, tienilo, furanilo, pirrolilo, pirazolilo, tiazolilo, oxazolilo e imidazolilo y los restos bicíclicos fusionados formados mediante fusión de uno de estos grupos monocíclicos con un anillo fenilo o con cualquiera de los grupos monocíclicos heteroaromáticos para formar un grupo bicíclico C8-C10 como indolilo, bezimidazolilo, indazolilo, benzotriazolilo, isoquinililo, quinolilo, benzotiazolilo, benzofuranilo, pirazolopiridilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, cinolinilo y similares. Se incluye en esta definición cualquier sistema monocíclico o bicíclico de anillo fusionado que tenga las características de aromaticidad en términos de distribución electrónica a través del sistema de anillos. También se incluyen grupos bicíclicos donde al menos el anillo que está directamente unido al resto de la molécula tiene las características de aromaticidad. Típicamente, los sistemas de anillos contienen anillos de 5-12 átomos. Preferiblemente, los heteroarilos monocíclicos contienen anillos de 5-6 átomos y los heteroarilos bicíclicos contienen anillos de 8-10 átomos.

20 Los restos arilo y heteroarilo pueden estar sustituidos con una variedad de sustituyentes que incluyen alquilo C1-C8, alqueno C2-C8, alquino C2-C8, arilo C5-C12, acilo C1-C8 y heteroformas de estos, cada uno de los cuales puede *per se* estar adicionalmente sustituidos; entre otros sustituyentes para los restos arilo y heteroarilo se incluyen halo, OR, NR₂, SR, SO₂R, SO₂NR₂, NRSO₂R, NRCONR₂, NRCOOR, NRCOR, CN, C≡CR, COOR, CONR₂, OOCR, COR y NO₂, donde cada R es independientemente H, alquilo C1-C8, heteroalquilo C2-C8, alqueno C2-C8, heteroalqueno C2-C8, alquino C2-C8, heteroalquino C2-C8, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C10, arilalquilo C7-C12 o heteroarilalquilo C6-C12, y cada R está opcionalmente sustituido como se describe anteriormente para los grupos alquilo. Los grupos sustituyentes en un grupo arilo o heteroarilo pueden, por supuesto, estar además sustituido con los grupos descritos en este documento si son adecuados para cada tipo de estos sustituyentes o para cada componente del sustituyente. Por tanto, por ejemplo, un sustituyente arilalquilo puede estar sustituido en la porción arilo con sustituyentes descritos en este documento como típicos para grupos arilos, y puede estar adicionalmente sustituido en la porción alquilo con sustituyentes descritos en este documento como típicos o adecuados para grupos alquilos.

35 De forma similar, "arilalquilo" o "heteroarilalquilo" se refiere a sistemas de anillos aromáticos y heteroaromáticos que están únicos a su punto de unión a través de un grupo de unión como un alqueno, incluyendo enlazadores cíclicos o acíclicos saturados o insaturados sustituidos o no sustituidos. Típicamente el enlazador es alquilo C1-C8 o una forma hetero del mismo. Entre estos enlazadores también se puede incluir un grupo carbonilo, haciéndolos por tanto capaces de proporcionar sustituyentes como un resto acilo o heteroacilo. Un anillo arilo o heteroarilo en un grupo arilalquilo o heteroarilalquilo puede estar sustituido con los mismos sustituyentes descritos anteriormente para grupos arilo. Preferiblemente, un grupo arilalquilo incluye un anillo fenilo opcionalmente sustituido con los grupos definidos anteriormente para los grupos arilo y un alqueno C1-C4 que no está sustituido o está sustituido con uno o dos grupos alquilo C1-C4 o grupos heteroalquilo, donde los grupos alquilo o heteroalquilo, puede opcionalmente ciclarse para formar un anillo como un ciclopropano, dioxolano u oxaciclopentano. De forma similar, un grupo heteroarilalquilo incluye preferiblemente un grupo heteroarilo monocíclico C5-C6 que está opcionalmente sustituido con los grupos descritos anteriormente como sustituyentes típicos en grupos arilo y un alqueno C1-C4 que no está sustituido o está sustituido con uno o dos grupos alquilo C1-C4 o grupos heteroalquilo, o incluye un anillo fenilo opcionalmente sustituido o heteroarilo monocíclico C5-C6 y un heteroalqueno C1-C4 que no está sustituido o está sustituido con uno o dos grupos alquilo C1-C4 o heteroalquilo, donde los grupos alquilo o heteroalquilo pueden opcionalmente ciclarse para formar un anillo como ciclopropano, dioxolano u oxaciclopentano.

55 Cuando un grupo arilalquilo o heteroalquilo se describe como opcionalmente sustituido, los sustituyentes pueden estar en la porción alquilo o heteroalquilo, o en la porción arilo o heteroarilo del grupo. Los sustituyentes opcionalmente presentes en la porción alquilo o heteroalquilo son los mismos que los descritos anteriormente para los grupos alquilo en general; los sustituyentes opcionalmente presentes en la porción arilo o heteroarilo son los mismos que los descritos anteriores para los grupos arilo en general.

60 Los grupos "arilalquilo" según se usa en este documento son grupos hidrocarbilo si no están sustituidos, y se describen por el número total de átomos de carbono en el anillo y el enlazador alqueno o similar. Por tanto, un grupo bencilo es un grupo C7-arilalquilo y feniletilo es un C8-arilalquilo.

"Heteroarilalquilo" como se describe anteriormente se refiere a un resto que comprende un grupo arilo que está unido a través de un grupo enlazador, y difiere de "arilalquilo" en que al menos un átomo del anillo del resto arilo o

un átomo en el grupo enlazador es un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S. Los grupos heteroarilalquilo se describen en este documento según el número total de átomos en el anillo y el enlazador combinado, e incluyen grupos arilo unidos a través de un enlazador heteroalquilo; los grupos heteroarilo unidos a través de un enlazador hidrocarbilo como un alquileo; y grupos heteroarilo unidos a través de un enlazador heteroalquilo. Por tanto, por ejemplo, C7-heteroarilalquilo podría incluir piridilmetilo, fenoxi y N-pirrolilmetoxi.

"Alquileo" según se usa en este documento se refiere a un grupo hidrocarbilo divalente; puesto que es divalente, puede estar unido a otros dos grupos conjuntamente. Típicamente se refiere a $-(CH_2)_n-$ donde n es 1-8 y preferiblemente n es 1-4, sin embargo cuando se especifique, un alquileo puede también estar sustituido por otros grupos, y puede tener otras longitudes, y no es necesario que las valencias abiertas estén en extremos opuestos de una cadena. Por tanto, $-CH(Me)-$ y $-C(Me)_2-$ pueden también denominarse alquileños, al igual que un grupo cíclico como el ciclopropano-1,2,diilo. Cuando un grupo alquileo está sustituido, entre los sustituyentes se incluyen aquellos típicamente presentes en grupos alquilo como se describe en este documento.

En general, cualquier grupo alquilo, alqueniilo, alquinilo, acilo, arilo o arilalquilo o cualquier heteroforma de uno de estos grupos que está contenida en un sustituyente puede opcionalmente *per se* estar sustituido por sustituyentes adicionales. La naturaleza de estos sustituyentes es similar a los enumerados con respecto a los propios sustituyentes principales si los sustituyentes no se describen de otra forma. Por tanto, cuando en una realización de, por ejemplo, R⁷ es alquilo, este alquilo puede opcionalmente estar sustituido por los sustituyentes restantes enumerados como realizaciones para R⁷ cuando esto tenga sentido químico y cuando esto no menoscabe el tamaño límite proporcionado para el alquilo *per se*; p. ej., el alquilo sustituido por alquilo o por alqueniilo podría simplemente superar el límite superior de los átomos de carbono para estas realizaciones y no se incluye. Sin embargo, alquilo sustituido por arilo, amino, alcoxi, =O y similares podría estar incluido dentro del alcance de la invención, y los átomos de estos grupos sustituyentes no se incluyen en el número usado para describir el grupo alquilo, alqueniilo, etc. que se está describiendo. Cuando no se especifica el número de sustituyentes, cada grupo alquilo, alqueniilo, alquinilo, acilo o arilo puede estar sustituido con un número de sustituyentes según sus valencias disponibles; en particular, cualquiera de estos grupos puede estar sustituido con átomos de flúor en cualquiera o todas sus valencias disponibles.

"Heteroforma" según se usa en este documento se refiere a un derivado de un grupo como un alquilo, arilo o acilo, donde al menos un átomo de carbono del grupo carbocíclico designado ha sido sustituido por un heteroátomo seleccionado a partir de N, O y S. Por tanto, las heteroformas de alquilo, alqueniilo, alquinilo, acilo, arilo y arilalquilo son heteroalquilo, heteroalqueniilo, heteroalquinilo, heteroacilo, heteroarilo y heteroarilalquilo, respectivamente. Se entiende que no más de dos átomos de N, O o S están en general conectados secuencialmente, excepto cuando un grupo oxo está unido a N o S para formar un grupo nitro o sulfonilo.

"Halo", según se usa en este documento incluye flúor, cloro, bromo y yodo. A menudo se prefieren flúor y cloro

"Amino" según se usa en este documento se refiere a NH₂, pero cuando un amino se describe como "sustituido" u "opcionalmente sustituido", el término incluye NR'R" donde cada R' y R" es independientemente H, o es un grupo alquilo, alqueniilo, alquinilo, acilo, arilo o arilalquilo o una heteroforma de uno de estos grupos, y cada uno de los grupos alquilo, alqueniilo, alquinilo, acilo, arilo o arilalquilo o heteroformas de uno de estos grupos está opcionalmente sustituido con los sustituyentes descritos en este documento como adecuados para el grupo correspondiente. El término también incluye formas en las que R' y R" están unidos conjuntamente para formar un anillo de 3-8 átomos que puede estar saturado, insaturado o ser aromático y que contiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente a partir de N, O y S como miembros del anillo, y que está opcionalmente sustituido con los sustituyentes descritos como adecuados para grupos alquilo o, si NR'R" es un grupo aromático, está opcionalmente sustituido con los sustituyentes descritos como típicos para grupos heteroarilo.

Según se usa en este documento, el término "carbociclo" se refiere a un compuesto cíclico que contiene solo átomos de carbono en el anillo, mientras que un "heterociclo" se refiere a un compuesto cíclico que comprende un heteroátomo. Las estructuras carbocíclicas y heterocíclicas abarcan compuestos que tienen sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos o múltiples.

Según se usa en este documento, el término "heteroátomo" se refiere a cualquier átomo que no sea carbono o hidrógeno, como nitrógeno, oxígeno o sulfuro.

Entre los ejemplos ilustrativos de heterociclos se incluyen, pero sin limitaciones, tetrahidrofurano, 1,3 dioxolano, 2,3 dihidrofurano, pirano, tetrahidropirano, benzofurano, isobenzofurano, 1,3 dihidro isobenzofurano, isoxazol, 4,5 dihidroisoxazol, piperidina, pirrolidina, pirrolidina 2 ona, pirrol, piridina, pirimidina, octahidropirrol[3,4b]piridina, piperazina, pirazina, morfolina, tiomorfolina, imidazol, imidazolidina 2,4 diona, 1,3 dihidrobenzimidazol 2 ona, indol, tiazol, benzotiazol, tiadiazol, tiofeno, tetrahidro tiofeno 1,1 dioxido, diazepina, triazol, guanidina, diazabicyclo[2.2.1]heptano, 2,5 diazabicyclo[2.2.1]heptano, 2,3,4,4a,9,9a hexahidro 1H β carbolino, oxirano, oxetano,

tetrahidropirano, dioxano, lactonas, aziridina, azetidina, piperidina, lactamas y puede también abarcar heteroarilos. Entre otros ejemplos ilustrativos de heteroarilos se incluyen, pero sin limitaciones, furano, pirrol, piridina, pirimidina, imidazol, bezimidazol y triazol.

- 5 Según se usa en este documento, el término "sustituyente inorgánico" se refiere a sustituyentes que no contienen carbono o contienen carbono unido a elementos distintos al hidrógeno (p. ej., carbono elemental, monóxido de carbono, dióxido de carbono y carbonato). Entre los ejemplos de sustituyentes inorgánicos se incluyen, pero sin limitaciones, nitro, halógeno, azido, ciano, sulfonilos, sulfinilos, sulfonatos, fosfatos, etc.
- 10 Los términos "tratar" y "tratando" según se usa en este documento se refiere a aminorar, aliviar, reducir y eliminar los síntomas de una enfermedad o afección. Una molécula o compuesto candidato descrito en este documento puede estar en una cantidad terapéuticamente eficaz en una formulación o medicamento, que es una cantidad que puede inducir un efecto biológico, como apoptosis de determinadas células (p. ej., células de cáncer), reducción de la proliferación de determinadas células, o inducir la mejora, alivio, reducción o eliminación de los síntomas de una enfermedad o afección, por ejemplo. Los términos también pueden referirse a la reducción o detención de la velocidad de proliferación celular (p. ej., ralentización o detención del crecimiento tumoral) o reducir la cantidad de proliferación de células de cáncer (p. ej., eliminación de parte o todo el tumor). Estos términos también son aplicables para reducir el valor de un microorganismo en un sistema (es decir, célula, tejido o sujeto) infectado por un microorganismo, reducir la velocidad de propagación microbiana, reducir el número de síntomas o un efecto de un síntoma asociado con la infección microbiana, y/o eliminar cantidades detectables del microorganismo en el sistema. Entre los ejemplos de microorganismos se incluyen, pero sin limitaciones, un virus, una bacteria y un hongo.

Según se usa en este documento, el término "apoptosis" se refiere a una autodestrucción o programa de suicidio intrínseco de la célula. En respuesta a un estímulo desencadenante, las células sufren una cascada de acontecimientos que incluyen reducción del tamaño de la célula, formación de vesículas de las membranas celulares y condensación y fragmentación de la cromatina. Estos acontecimientos culminan en la conversión de las células en grupos de partículas unidas a membrana (cuerpos apoptóticos), que son engullidos a continuación por macrófagos.

- 30 En este documento se describen las composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto dentro del alcance de la invención como se describe en este documento y procedimientos para el uso de compuestos descritos en este documento. Por ejemplo, en este documento se describen los procedimientos para identificar una molécula candidata que interacciona con una proteína CK2 o PARP, que comprende poner en contacto una composición que contiene una proteína CK2 o PARP y una molécula descrita en este documento con una molécula candidata y determinar si la cantidad de la molécula descrita en este documento que interacciona con la proteína está modulada, por lo cual una molécula candidata que modula la cantidad de la molécula descrita en este documento que interacciona con la proteína se identifica como una molécula candidata que interacciona con la proteína.
- 40 También se describen en este documento procedimientos para modular la actividad de una proteína CK2 o de una proteína PARP, que comprende poner en contacto un sistema que contiene la proteína con un compuesto descrito en este documento en una cantidad eficaz para modular (p. ej., inhibir) la actividad de la proteína. El sistema puede ser un sistema libre de células o un sistema que comprende células. También se describen en este documento procedimientos para reducir la proliferación celular, y opcionalmente inducir apoptosis, que comprenden poner en contacto las células con un compuesto descrito en este documento en una cantidad eficaz para reducir la proliferación de las células. Las células pueden estar en una línea celular, en un tejido o en un sujeto (p. ej., investigación animal o humana). También se describen en este documento composiciones que comprenden un compuesto descrito en este documento en combinación con una proteína o célula, como una proteína aislada (p. ej., CK2 aislada u otra proteína serina-treonina proteína quinasa o proteína PARP) o una célula en una línea celular (p. ej., línea celular HCT-116).

También se describen en este documento procedimientos para modular una actividad serina-treonina proteína quinasa. Las serina-treonina proteína quinasas catalizan la transferencia de un fosfato gamma de un adenosina trifosfato a un aminoácido serina o treonina en un sustrato péptido o proteico. Por tanto, en este documento se describen procedimientos que comprenden poner en contacto un sistema que contiene una proteína serina-treonina proteína quinasa con un compuesto descrito en este documento en una cantidad eficaz para modular (p. ej., inhibir) la actividad de la proteína. La actividad de la serina-treonina proteína quinasa puede ser la actividad catalítica de la proteína (p. ej., catalizar la transferencia de un fosfato gamma de un adenosina trifosfato a un sustrato peptídico o proteico). También se describen en este documento procedimientos para identificar una molécula candidata que interacciona con una serina-treonina proteína quinasa que comprende: poner en contacto una composición que contiene una serina-treonina proteína quinas y un compuesto descrito en este documento con una molécula candidata en condiciones en las que el compuesto y la proteína interaccionan, y determinar si la cantidad del compuesto que interacciona con la proteína está modulada en relación con un control de interacción entre el

compuesto y la proteína sin la molécula candidata, donde una molécula candidata que modula la cantidad del compuesto que interacciona con la proteína en relación con el control de interacción se identifica como una molécula candidata que interacciona con la proteína. Los sistemas pueden ser un sistema libre de células o un sistema que contiene células (p. ej., *in vitro*). La proteína, el compuesto o la molécula pueden estar en asociación con una fase sólida. La interacción entre el compuesto y la proteína pueden detectarse a través de un marcador detectable, donde la proteína puede comprender un marcador detectable y el compuesto puede comprender un marcador detectable. La interacción entre el compuesto y la proteína se detecta en ocasiones sin un marcador detectable.

La serina-treonina proteína quinasa puede proceder de cualquier fuente, como un mamífero, primate o humano, por ejemplo. Entre los ejemplos de serina-treonina proteína quinasas que pueden ser inhibidas por los compuestos descritos en este documento se incluyen sin limitaciones las versiones humanas de CK2, CK2 α 2, PIM-1, CDK1/ciclinaB, c-RAF, Mer, MELK, DYRK2, Flt3, Flt3 (D835Y), Flt4, HIPK3, HIPK2, ZIPK y ZIPK. Una serina-treonina proteína quinasa en ocasiones es un miembro de una subfamilia que contiene uno o más de los siguientes aminoácidos en las posiciones correspondientes a las enumeradas en la CK2 humana: leucina en la posición 45, metionina en la posición 163 e isoleucina en la posición 174. Entre los ejemplos de estas proteínas quinasas se incluyen, sin limitaciones, las versiones humanas de CK2, STK10, HIPK2, HIPK3, DAPK3, DYK2 y PIM-1. Las secuencias de nucleótidos y aminoácidos para las serina-treonina proteína quinasas está disponible a nivel público (por ejemplo, la dirección de Internet ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez/ y Invitrogen.com).

También se describen en este documento procedimientos para tratar una afección relacionada con proliferación celular aberrante. Por ejemplo, en este documento se describen procedimientos para el tratamiento de una afección de proliferación celular, que comprende administrar un compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesita en una cantidad eficaz para tratar la afección de proliferación celular. El sujeto puede ser un animal de investigación (p. ej., roedor, perro, gato, mono), contener opcionalmente un tumor como un tumor xenógrafo (p. ej., tumor humano), por ejemplo, o puede ser un ser humano. En ocasiones, una afección de proliferación celular es un cáncer tumoral o no tumoral, incluyendo pero sin limitaciones, cánceres colorrectales, de mama, pulmón, hígado, páncreas, ganglio linfático, colon, próstata, cerebro, cabeza y cuello, piel, hígado, riñón, sangre y corazón (p. ej., leucemia, linfoma, carcinoma).

También se describen en este documento procedimientos para tratar una afección relacionada con inflamación o dolor. Por ejemplo, en este documento se describen procedimientos para el tratamiento del dolor en un sujeto, que comprende administrar un compuesto descrito en este documento a un sujeto que la necesita en una cantidad eficaz para tratar el dolor. En este documento también se describen procedimientos para el tratamiento de la inflamación en un sujeto, que comprende administrar un compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesita en una cantidad eficaz para tratar la inflamación. El sujeto puede ser un animal de investigación (p. ej., roedor, perro, gato, mono), por ejemplo, o puede ser un ser humano. Entre las afecciones asociadas con la inflamación y el dolor se incluyen, sin limitaciones, reflujo ácido, ardor de estómago, acné, alergias y sensibilidades, enfermedad de Alzheimer, asma, aterosclerosis, bronquitis, carditis, enfermedad celíaca, dolor crónico, enfermedad de Crohn, cirrosis, colitis, demencia, dermatitis, diabetes, sequedad de ojos, edema, enfisema, eccema, fibromialgia, gastroenteritis, gingivitis, cardiopatía, hepatitis, hipertensión, resistencia a la insulina, cistitis intersticial, dolor articular/artritis/artritis reumatoide, síndrome metabólico (síndrome X), miositis, nefritis, obesidad, osteopenia, osteoporosis, enfermedad de Parkinson, enfermedad periodontal, poliarteritis, policondritis, soriasis, escleroderma, sinusitis, síndrome de Sjögren, colon espástico, candidiasis sistémica, tendinitis, infecciones de las vías urinarias, vaginitis, cáncer inflamatorio (p. ej., cáncer de mama inflamatorio) y similares. Son conocidos los procedimientos para determinar los efectos de los compuestos de este documento sobre el dolor o la inflamación. Por ejemplo, los comportamientos de dolor estimulados con formalina en animales de investigación puede controlarse tras la administración de un compuesto descrito en este documento para evaluar el tratamiento del dolor (p. ej., Li y col., *Pain* 115(1-2): 182-90 (2005)). También la modulación de moléculas proinflamatorias (p. ej., IL-8, GRO- α , MCP-1, TNF- α e iNOS) puede controlarse tras la administración de un compuesto descrito en este documento para evaluar el tratamiento de la inflamación (p. ej., Parhar y col., *Int. J. Colorectal Dis.* 22(6): 601-9 (2006)), por ejemplo. Por tanto, también se describen en este documento procedimientos para determinar si un compuesto de este documento reduce la inflamación o el dolor, que comprende poner en contacto un sistema con un compuesto descrito en este documento en una cantidad eficaz para modular (p. ej., inhibir) la actividad de un signo de dolor o signo de inflamación. También se describen en este documento procedimientos para la identificación de un compuesto que reduce la inflamación o el dolor, que comprende: poner en contacto un sistema con un compuesto de fórmula I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV, XV o XVI; y detectar un signo de dolor o un signo de inflamación, donde un compuesto que modula el signo de dolor en relación con una molécula control se identifica como un compuesto que reduce la inflamación del dolor. Son ejemplos no limitantes de signos de dolor los comportamientos de dolor estimulados con formalina y entre los ejemplos de signos de inflamación se incluyen, sin limitaciones, un nivel de una molécula proinflamatoria.

También se incluyen en este documento procedimientos para modular la angiogénesis en un sujeto, y procedimientos para tratar una afección asociada con una angiogénesis aberrante en un sujeto. Por tanto, se

describen en este documento procedimientos para determinar si un compuesto de este documento modula la angiogénesis, que comprenden poner en contacto un sistema con un compuesto descrito en este documento en una cantidad eficaz para modular (p. ej., inhibir) la angiogénesis o un signo asociado con la angiogénesis. Las señales asociadas con la angiogénesis son niveles de un factor de crecimiento proangiogénico como el VEGF. Los procedimientos para evaluar la modulación de la angiogénesis también son conocidos, como el análisis de la formación del tubo endotelial humano (sistema de angiogénesis BD BioCoat™ de BD Biosciences). También se describen en este documento procedimientos para identificar un compuesto que modula la angiogénesis, que comprenden poner en contacto un sistema con un compuesto de fórmula XIII, XV o XVI; y detectar la angiogénesis en el sistema o un signo de angiogénesis, donde un compuesto que modula la angiogénesis o un signo de angiogénesis en relación con una molécula control se identifica como un compuesto que modula la angiogénesis. También se describen en este documento procedimientos para el tratamiento de una afección de angiogénesis, que comprenden administrar un compuesto descrito en este documento a un sujeto que necesita, por tanto, una cantidad eficaz para tratar la afección de angiogénesis. Entre las afecciones de angiogénesis se incluyen sin limitaciones cánceres de tumores sólidos, enfermedades varicosas y similares.

15 Puede prepararse cualquier formulación adecuada de un compuesto descrito anteriormente para su administración. Puede usarse cualquier vía de administración, incluyendo sin limitaciones, las vías oral, parenteral, intravenosa, intramuscular, transdérmica, tópica y subcutánea. Dependiendo del sujeto que se va a tratar, el modo de administración y el tipo de tratamiento deseado (p. ej., prevención, profilaxis, terapia), los compuestos se formulan en consonancia con estos parámetros. La preparación de formulaciones adecuadas para cada vía de administración es conocida en la técnica. En la última edición de Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, se encuentra un resumen de estos procedimientos y técnicas de formulación. La formulación de cada sustancia o de la combinación de dos sustancias generalmente incluirá un diluyente así como, en algunos casos, adyuvantes, tampones, conservantes y similares. Las sustancias que se van a administrar pueden administrarse también en composiciones liposomales o como microemulsiones.

Para inyección, las formulaciones pueden prepararse en formas convencionales, tanto soluciones líquidas o suspensiones, como formas sólidas adecuadas para la solución o suspensión en líquido previa a la inyección, o como emulsiones. Entre los excipientes adecuados se incluyen, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol y similares. Estas composiciones también pueden contener cantidades de sustancias no tóxicas auxiliares como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores del pH y similares como, por ejemplo, acetato sódico, monolaurato de sorbitán, etc.

También se han diseñado varios sistemas de liberación mantenida para fármacos y pueden aplicarse a compuestos de la invención. Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. N.º. 5.624.677.

La administración sistémica también puede incluir procedimientos relativamente no invasivos como el uso de supositorios, parches transdérmicos, administración transmucosa y administración intranasal. También es adecuada la administración oral para los compuestos de la invención. Entre las formas de administración se incluyen jarabes, cápsulas, comprimidos como se entiende en la técnica.

Para su administración a sujetos animales o a humanos, la dosis apropiada del compuesto descrito anteriormente a menudo es de 0,01-15 mg/kg y, en ocasiones, de 0,1-10 mg/kg. Los niveles de dosis dependen de la naturaleza de la afección, la eficacia del fármaco, la afección del paciente, el criterio del profesional y la frecuencia y modo de administración; sin embargo, la optimización de estos parámetros está dentro del nivel normal de experiencia en la técnica.

Politerapias

50 En este documento se describen los procedimientos para tratar afecciones como el cáncer y la inflamación administrando a un sujeto que necesita de dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéutico que se une a determinados segmentos de ADN y administrando al mismo sujeto un modulador de PARP o CK2 en una cantidad que es eficaz para potenciar la actividad del agente terapéutico. Un modulador de PARP o CK2 es un agente que inhibe o potencia una actividad biológica de una proteína PARP o una proteína CK2 y, genéricamente se denominan a partir de ahora "modulador". El agente terapéutico y el modulador pueden administrarse conjuntamente, como composiciones farmacéuticamente independientes o mezcladas en una única composición farmacéutica. El agente terapéutico y el modulador también pueden administrarse independientemente, incluso en momentos diferentes y con frecuencias diferentes, siempre que el modulador se administre en el momento en que aumente la potencia del agente terapéutico. El modulador puede administrarse mediante cualquier vía conocida, como por vía oral, intravenosa, intramuscular, nasal y similares; y el agente terapéutico también puede administrarse por cualquier vía convencional. Al menos uno y, opcionalmente, tanto el modulador como el agente terapéutico pueden administrarse por vía oral.

El modulador y el agente terapéutico pueden administrarse al mismo tiempo, en dosis independientes o mezclados en una dosis individual. Cuando puede ajustarse la frecuencia de administración de los dos materiales para que coincidan, el modulador y el agente terapéutico están preferiblemente combinados en una única composición farmacéutica, de modo que el paciente tratado pueda recibir una única dosis por vía oral o una única inyección, por ejemplo.

La cantidad de cada uno de estos materiales que se va a administrar variará con la vía de administración, la afección del sujeto, otros tratamientos que se estén administrando al sujeto y otros parámetros. Los agentes terapéuticos pueden, por supuesto, producir múltiples efectos deseados, y la cantidad de modulador usada en combinación con el agente terapéutico debería ser una cantidad que aumente uno o más de estos efectos deseados. El modulador se administrará en una cantidad que sea eficaz para potenciar un efecto deseado del agente terapéutico. Una cantidad es "eficaz para potenciar un efecto deseado del agente terapéutico", según se usa en este documento, si aumenta al menos aproximadamente el 25% al menos uno de los efectos deseados del agente terapéutico solo. Preferiblemente, es una cantidad que aumenta un efecto deseado del agente terapéutico al menos el 50% o al menos el 100% (es decir, duplica la actividad eficaz del agente terapéutico). Puede ser una cantidad que aumente un efecto deseado del agente terapéutico en al menos el 200%.

La cantidad de modulador que aumenta un efecto deseado de un agente terapéutico puede determinarse usando procedimientos *in vitro*, como ensayos de proliferación celular. Los agentes terapéuticos son útiles para contrarrestar las enfermedades hiperproliferativas como el cáncer, por tanto, reducen la proliferación celular. Así, por ejemplo, una cantidad adecuada de un modulador podría ser la cantidad necesaria para potenciar un efecto antiproliferativo de un agente terapéutico al menos el 25% según se determina en un ensayo de proliferación celular.

El modulador usado potencia al menos un efecto deseado producido por el agente terapéutico con el que se usa, por tanto, las combinaciones de la invención proporcionan un efecto sinérgico, no meramente un efecto aditivo. Los moduladores, por sí solos son a veces útiles para tratar el mismo tipo de afecciones y, por tanto, también pueden tener cierto efecto directo en estos ensayos. En este caso, la "cantidad eficaz para aumentar un efecto deseado" debe ser un incremento sinérgico de la actividad del agente terapéutico que es atribuible al incremento por el modulador de un efecto del agente terapéutico, antes que el simple efecto aditivo que cabría esperar con la administración independiente de los dos materiales. En muchos casos, el modulador puede usarse en una cantidad (concentración) a la que no cabría esperar que tuviera efecto aparente sobre el sujeto tratado o sobre el ensayo *in vitro*, por lo que el aumento del efecto conseguido con la combinación es directamente atribuible a un efecto sinérgico.

En este documento se describen los procedimientos y composiciones para tratar a un paciente que tiene un trastorno de proliferación o un trastorno inflamatorio con un agente terapéutico como se describe en este documento y un "modulador" descrito anteriormente, en el que el momento de administración del modulador le permite potenciar un efecto deseado del agente terapéutico.

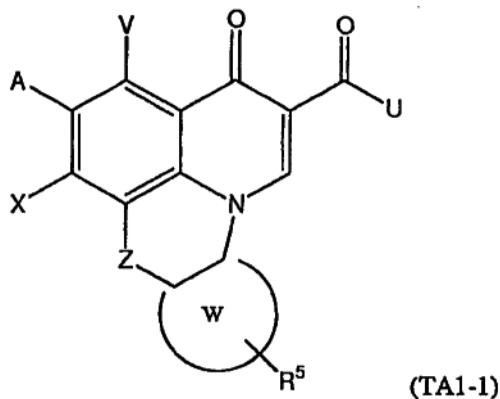
Se conocen moduladores de PARP y CK2. Los inhibidores de PARP son bien conocidos en la técnica y se ha demostrado que algunos potencian la actividad de otros fármacos para determinados usos.

Por ejemplo, se ha notificado que el tratamiento de una colonia de células de carcinoma con un inhibidor de PARP a una concentración que no presenta una sustancial inhibición del crecimiento o de la toxicidad celular por sí sola aumentaba sustancialmente la actividad de los agentes citotóxicos temozolomida y topotecán. C. R. Calabrese, y col., Clin. Cancer Res., vol. 9, 2711-18 (julio 2003). Se considera que este efecto está relacionado con el papel que juega la PARP en la reparación del ADN: puesto que PARP promueve la reparación del ADN dañado, se piensa que aumenta los efectos de los compuestos que actúan dañando el ADN. En estos se incluyen aquellos que alquilan el ADN, entre los que pueden incluirse la temozolomida, e inhibidores de la topoisomerasa como el topotecán. *Id.*

En este documento se describe el uso de un "modulador" como se describió anteriormente en combinación con un agente terapéutico que puede actuar uniéndose a regiones del ADN que pueden formar determinadas estructuras cuádruples; los agentes terapéuticos tienen actividad antineoplásicas por sí solos, pero su actividad se potencia cuando se usan en combinación con un modulador. Este efecto sinérgico permite que el agente terapéutico se administre en una dosis menor alcanzando niveles equivalentes o superiores de al menos un efecto deseado.

Los agentes terapéuticos son compuestos que se unen a determinados motivos en los ácidos nucleicos. El agente terapéutico que se va a utilizar puede seleccionarse a partir de varias clases diferentes de compuestos, como aquellos que se unen a regiones del ADN formadoras de estructuras cuádruples. Los agentes terapéuticos son útiles para el tratamiento del cáncer y otras indicaciones como enfermedades inflamatorias, y los procedimientos para producirlos y utilizarlos son conocidos en la técnica. A continuación se describen varias clases preferidas de estos agentes terapéuticos. Cada una de estas clases de agentes terapéuticos puede usarse en combinación con cualquier inhibidor de PARP activo, incluyendo pero sin limitaciones los descritos en este documento.

El agente terapéutico puede ser un compuesto de fórmula (TA1-1):



5 y las sales, ésteres y profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo;

donde V es H, halo, o NR^1R^2 ;

A es H, flúor, o NR^1_2 ;

10

Z es O, S, NR^1 o CH_2 ;

U es OR^2 o NR^1R^2 ;

15 X es OR^2 , NR^1R^2 , halo, azido o SR^2 ;

n es 1-3,

20 donde en NR^1R^2 , R^1 y R^2 pueden formar un doble enlace o un anillo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido;

R^1 es H o un alquilo C_{1-6} ;

25 R^2 es H o un alquilo C_{1-10} o alquenoilo C_{2-10} que opcionalmente comprende uno o más heteroátomos no adyacentes seleccionados a partir de N, O u S, y opcionalmente sustituidos con un anillo carbocíclico o heterocíclico, o R^2 es un anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

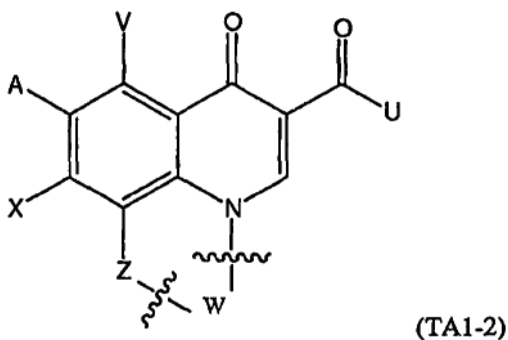
30 R^5 es un sustituyente en cualquier posición de W; y es H, OR^2 , alquilo C_{1-6} , alquenoilo C_{2-6} , cada uno opcionalmente sustituido por halo, =O o uno o más heteroátomos, o R^5 es un sustituyente inorgánico y

30

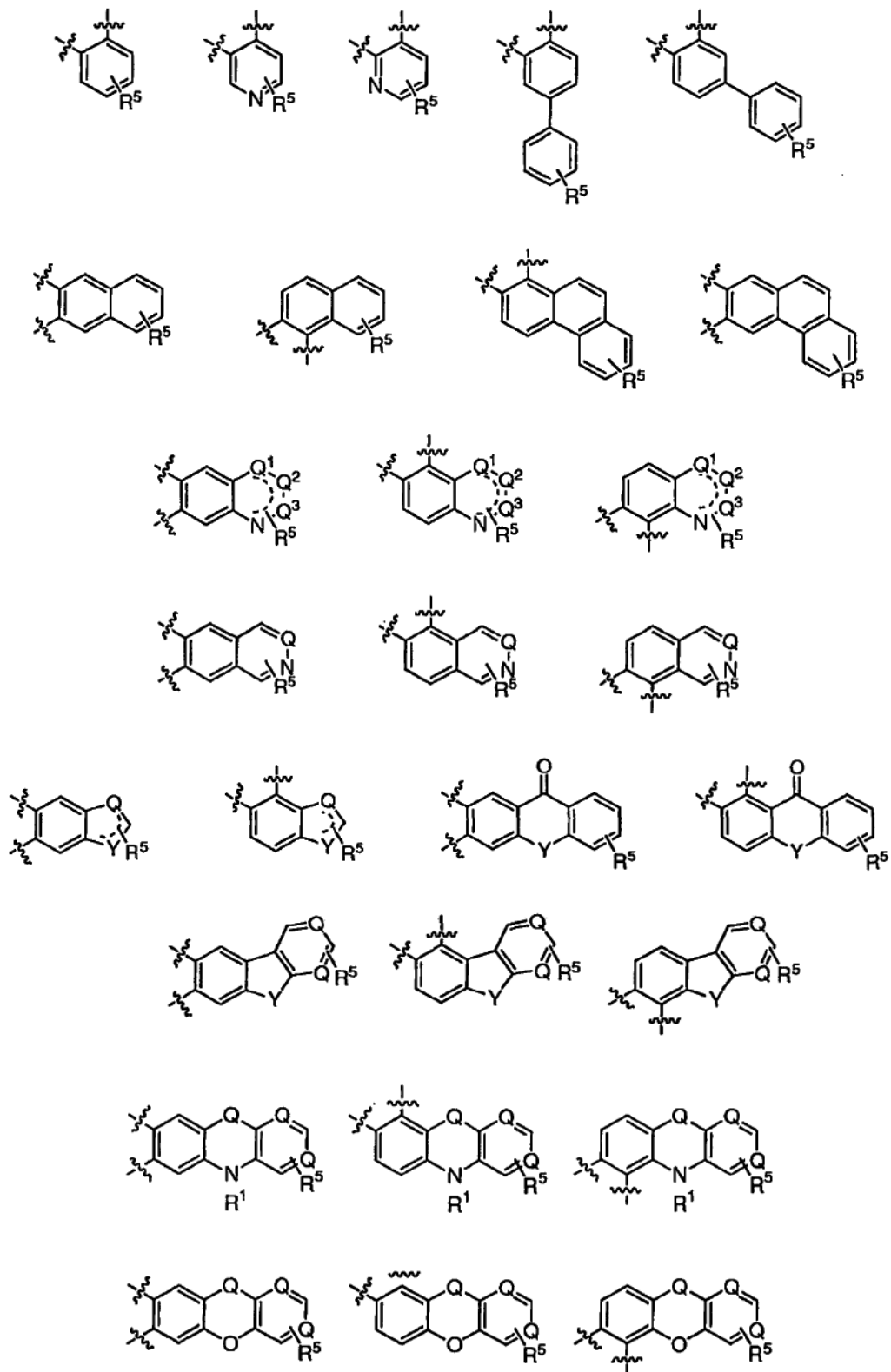
W es un arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, que puede ser monocíclico o estar fusionado con un anillo sencillo o múltiple y contener opcionalmente un heteroátomo;

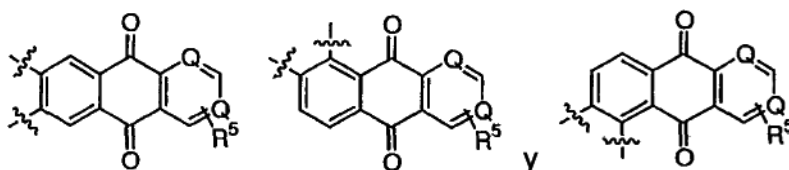
o un compuesto de fórmula (TA1-2):

35



donde V, A, X, Z y U son como se define en la fórmula TA1-1, y W se selecciona a partir del grupo compuesto por





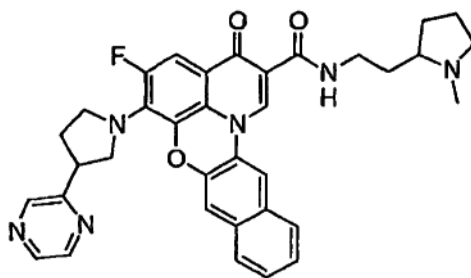
donde Q, Q¹, Q² y Q³ son independientemente CH o N;

5 Y es independientemente O, CH, =O o NR¹; y

R⁵ es como se define en la fórmula 1.

Los compuestos con esta estructura y los procedimientos para su preparación y uso se describen en la solicitud de
 10 patente de EE. UU. con N.º de serie 11/106.909, de Whitten, y col., titulada ANÁLOGOS DE QUINO BENZOXAZINA
 SUSTITUIDOS Y PROCEDIMIENTOS PARA SU USO, que fue presentada el 15 de abril de 2005.

El agente terapéutico de fórmula (TA1-1), puede ser un compuesto de fórmula (TA1-1A):

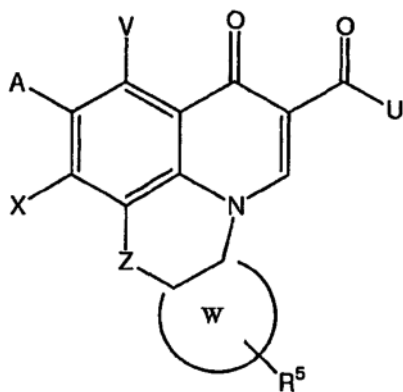


15

(TA2)

o una sal, ésteres o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo o un isómero específico o mezcla de isómeros del mismo.

20 El agente terapéutico puede ser un compuesto con esta fórmula:



(TA3-1)

y las sales, ésteres y profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo;

25

donde V es H, halo o NR¹R²;

A es H, flúor o NR¹₂;

30 Z es O, S, NR¹ o CH₂;

U es OR² o NR¹R²;

X es OR², NR¹R², halo, azido o SR²;

n es 1-3,

donde en NR^1R^2 , R^1 y R^2 pueden formar un doble enlace o un anillo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido;

R^1 es H o un alquilo C_{1-6} ;

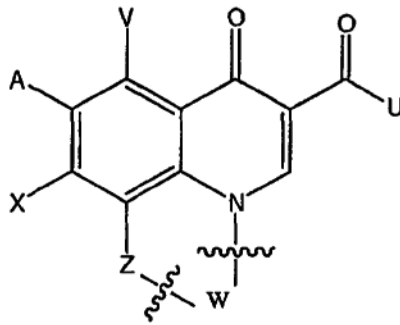
R^2 es H o un alquilo C_{1-10} o alqueno C_{2-10} que opcionalmente comprende uno o más heteroátomos no adyacentes seleccionados a partir de N, O y S, y opcionalmente sustituidos con un anillo carbocíclico o heterocíclico, o R^2 es un anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

R^5 es un sustituyente en cualquier posición de W; y es H, OR^2 , alquilo C_{1-6} , alqueno C_{2-6} , cada uno opcionalmente sustituido por halo, =O o uno o más heteroátomos, o R^5 es un sustituyente inorgánico y

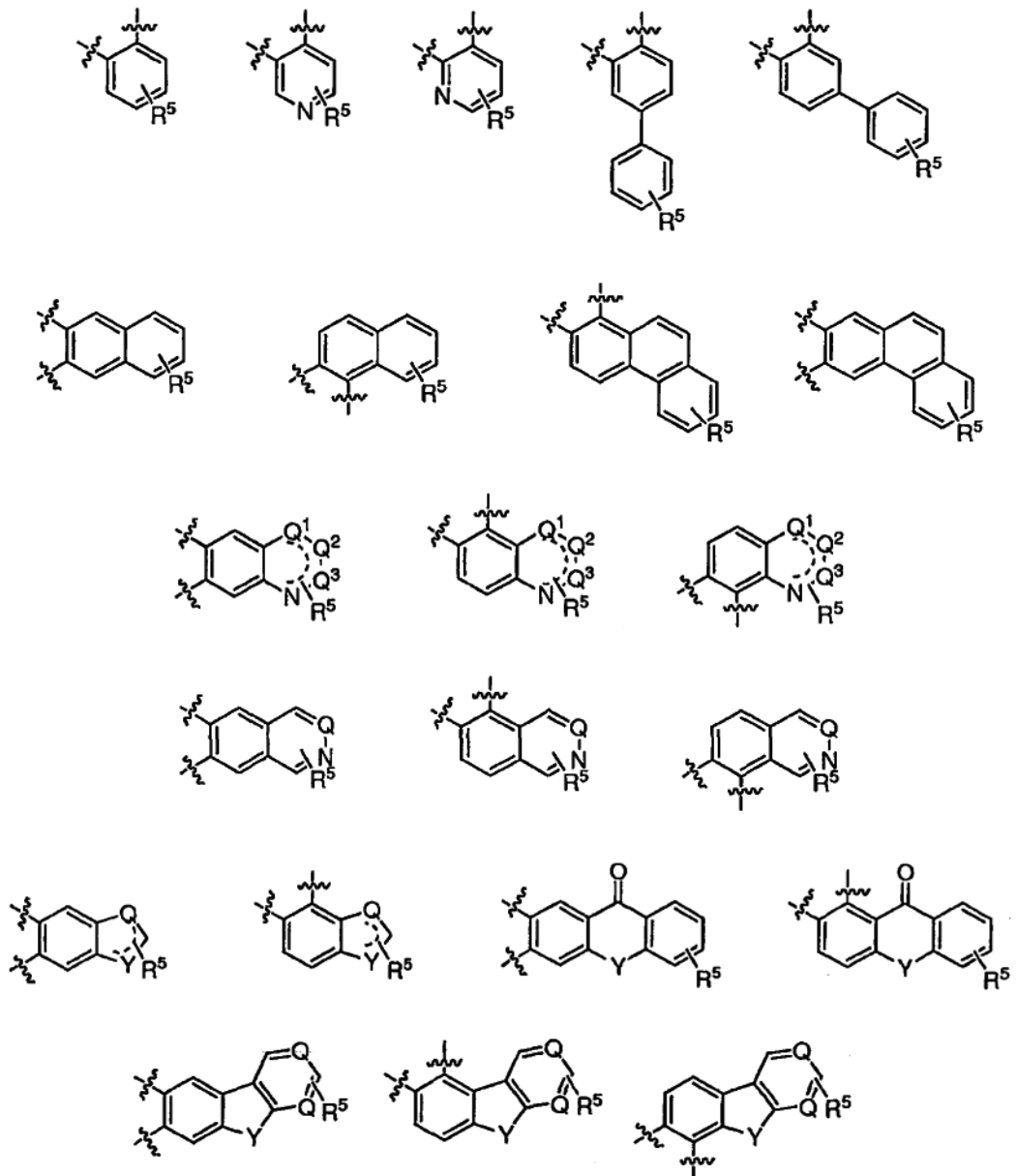
W es un arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, que puede ser monocíclico o estar fusionado con un anillo sencillo o múltiple y contener opcionalmente un heteroátomo;

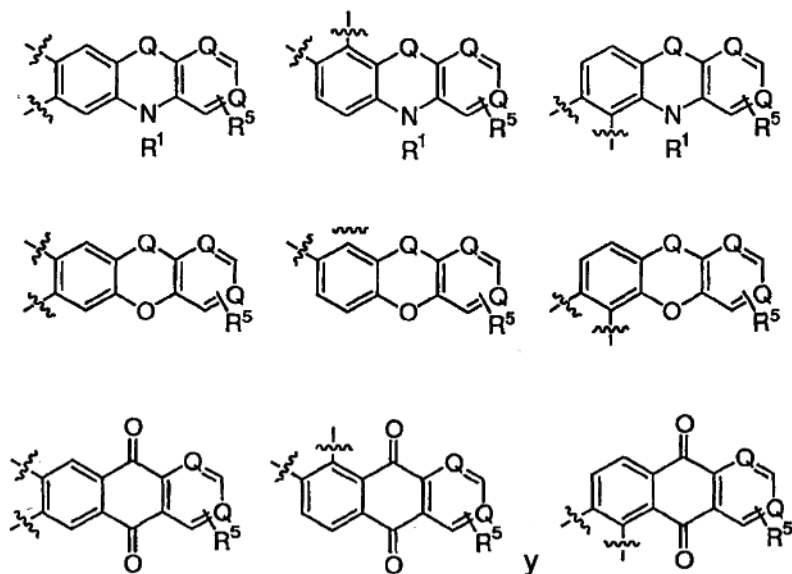
o un compuesto de fórmula (TA3-2):

20



donde V, A, X, Z y U son como se define en la fórmula 1, y W se selecciona a partir del grupo compuesto por





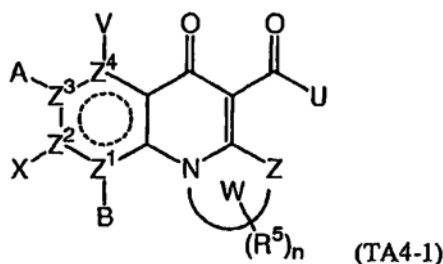
donde Q, Q¹, Q² y Q³ son independientemente CH o N;

5 Y es independientemente O, CH, =O o NR¹ y

R⁵ es como se define en la fórmula 1.

La preparación y actividad de estos compuestos de fórmula (TA3-1) se describen en la solicitud de patente de
 10 EE. UU. con N.º de serie 60/811.992 presentada el 8 de junio de 2006 por Nagasawa y col., titulada ANÁLOGOS DE
 QUINOLONA DERIVATIZADOS CON ÁCIDO SULFÓNICO, SULFONATO O SULFONAMIDA.

El agente terapéutico puede ser un compuesto con esta fórmula:



15

y las sales, ésteres y profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo;

donde B, X, A o V no aparecen si Z², Z³ o Z⁴, respectivamente, es N, e independientemente H, halo, azido, R²,
 20 CH₂R², SR², OR² o NR¹R² si Z², Z³ o Z⁴, respectivamente, es C; o

A y V, A y X o X y B pueden formar un anillo carbocíclico, un anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo, cada uno de los
 cuales puede estar opcionalmente sustituido y/o fusionado con un anillo cíclico;

25 Z e O, S, NR¹, CH₂ o C=O;

Z¹, Z², Z³ y Z⁴ son C o N, siempre que no haya dos N adyacentes;

W junto con N y Z forman un anillo de 5 o 6 átomos opcionalmente sustituido que se fusiona con un anillo saturado o
 30 insaturado opcionalmente sustituido; dicho anillo saturado o insaturado puede contener un heteroátomo y se
 monocíclico o estar fusionado con anillos carbocíclicos o heterocíclicos sencillos o múltiples;

U es R², OR², NR¹R², NR¹ - (CR¹)_n - NR³R⁴ o N=CR¹R², donde en N=CR¹R²R¹ y R² juntos con C pueden formar un
 anillo,

siempre que U no sea H, y cuando U es OH, OR² o NH₂, entonces al menos uno de Z¹-Z⁴ es N;

en cada NR¹R², R¹ y R² junto con N puede formar un anillo opcionalmente sustituido;

5

en NR³R⁴, R³ y R⁴ junto con N puede formar un anillo opcionalmente sustituido; R¹ y R³ son independientemente H o alquilo C₁₋₆;

10 cada R² es H, o un alquilo C₁₋₁₀ o alqueno C₂₋₁₀ cada uno opcionalmente sustituido con un halógeno, uno o más heteroátomos no adyacentes, un anillo carbocíclico, un anillo heterocíclico, un arilo o un heteroarilo, donde cada anillo está opcionalmente sustituido, o R² es un anillo carbocíclico, un anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

15 R⁴ es H o un alquilo C₁₋₁₀ o alqueno C₂₋₁₀ que opcionalmente contiene uno o más heteroátomos no adyacentes seleccionados a partir de N, O u S, y opcionalmente sustituidos con un anillo carbocíclico o heterocíclico, o R³ y R⁴ conjuntamente con N pueden formar un anillo opcionalmente sustituido;

20 cada R⁵ es un sustituyente en cualquier posición del anillo W y es H, OR², amino, alcoxi, amido, halógeno, ciano o un sustituyente inorgánico; o R⁵ es alquilo, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, -CONHR¹, cada uno opcionalmente sustituido por halo, carbonilo o uno o más heteroátomos no adyacentes, o dos R⁵ adyacentes se unen para obtener un anillo de 5-6 átomos carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido que puede estar fusionado con un anillo carbocíclico o heterocíclico adicional opcionalmente sustituido; y

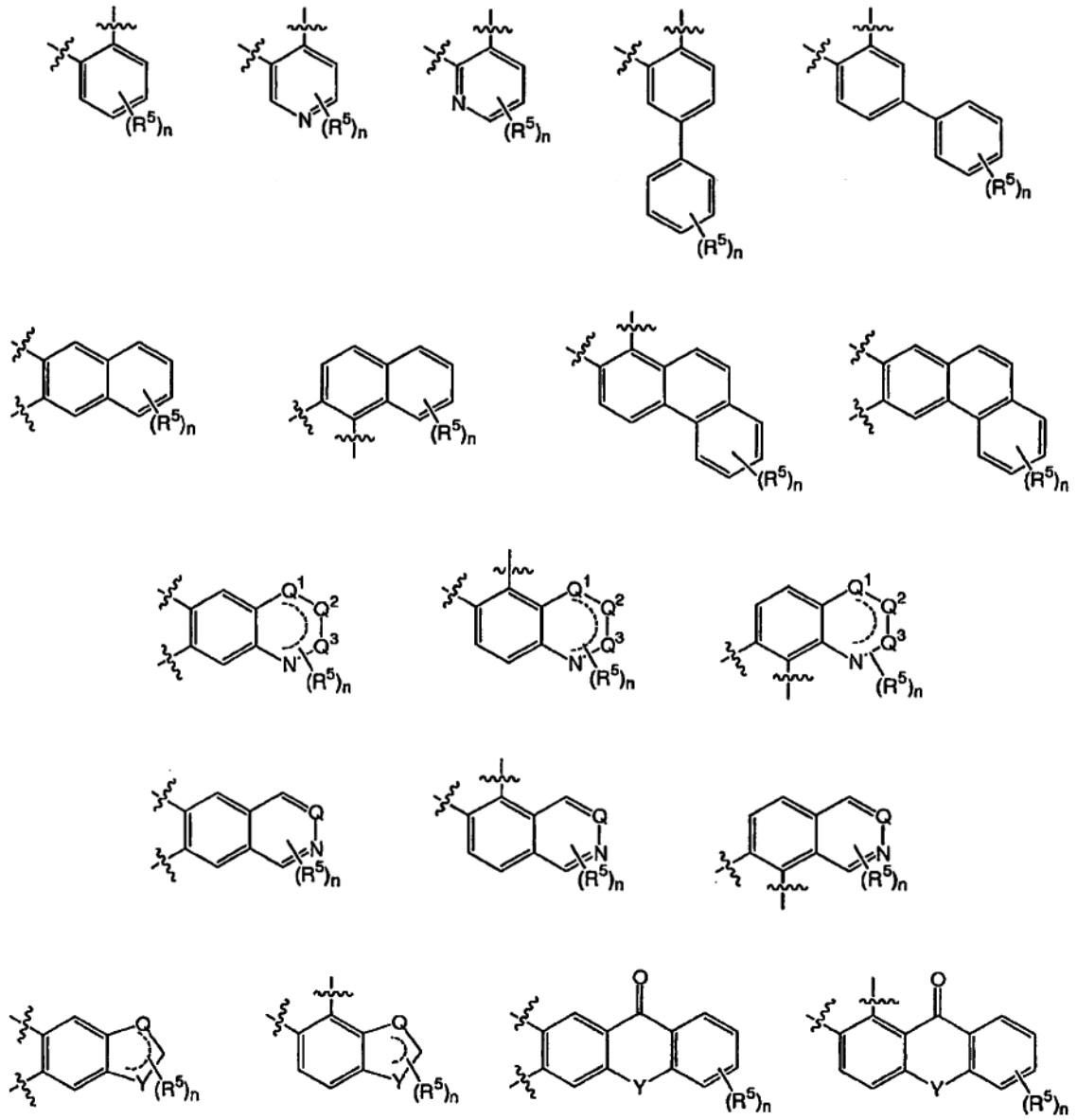
n es 1-6.

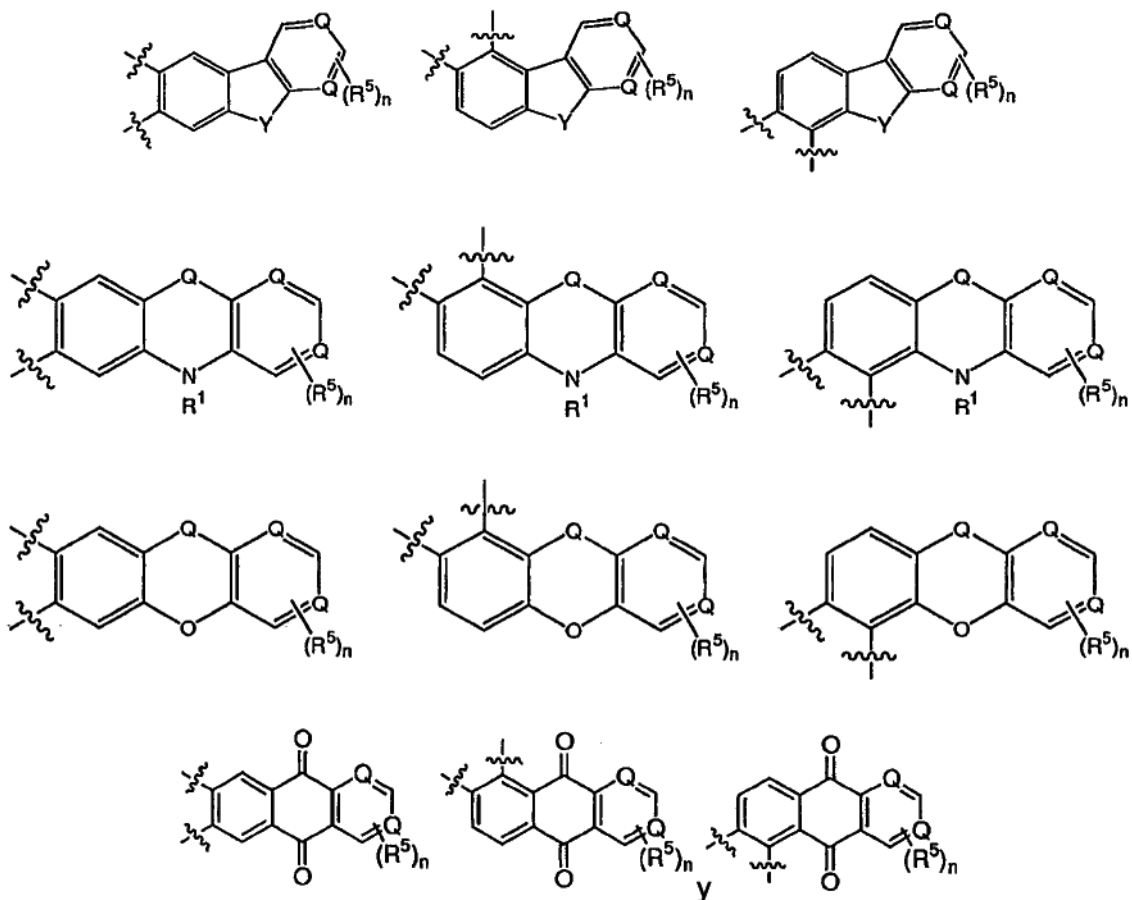
25

En la fórmula anterior (TA4-1), B puede no estar presente cuando Z¹ es N, o es H o un halógeno cuando Z¹ es C.

En la fórmula anterior (TA4-1), W junto con N y Z forman un anillo de 5 o 6 átomos opcionalmente sustituido, que se fusiona con un arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido seleccionado a partir del grupo compuesto por:

30





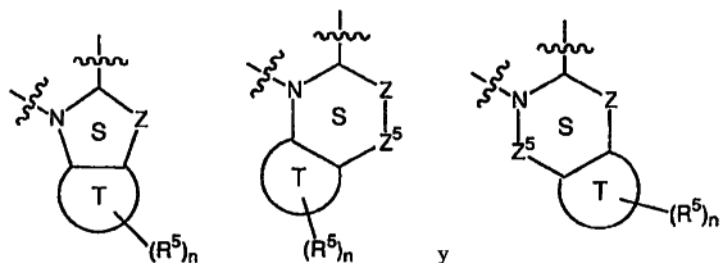
donde cada Q, Q¹, Q² y Q³ son independientemente CH o N;

5 Y es independientemente O, CH, =O o NR¹;

n y R⁵ son como se define anteriormente.

W junto con N y Z pueden formar un grupo que tiene la fórmula seleccionada a partir del grupo compuesto por

10



donde Z es O, S, CR¹, NR¹ o C=O;

15 cada Z⁵ es CR⁶, NR¹ o C=O, siempre que Z y Z⁵ si están adyacentes no sean ambos NR¹;

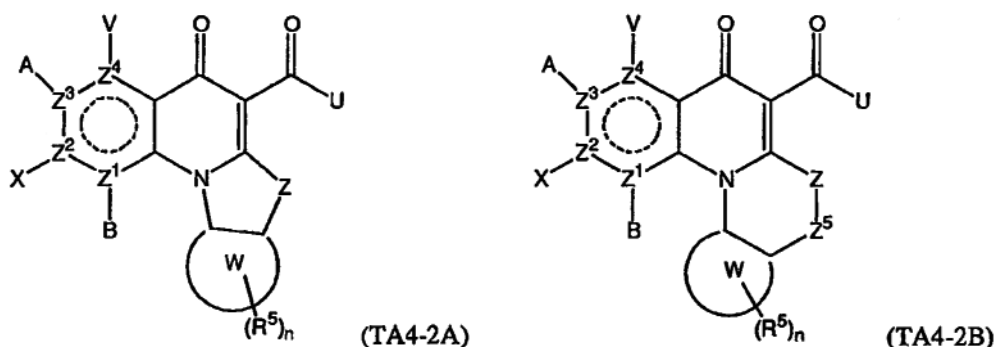
cada R¹ es H, alquilo C₁₋₆, COR² o S(O)_pR² donde p es 1-2;

R⁶ es H, o un sustituyente conocido en la técnica, incluido pero sin limitaciones hidroxilo, alquilo, alcoxi, halo, amino
20 o amido; y el anillo S y el anillo T pueden estar saturados o insaturados.

W junto con N y Z pueden formar un anillo de 5 o 6 átomos que esté fusionado con un fenilo. W junto con N y Z

pueden un anillo de 5 o 6 átomos que esté opcionalmente fusionado con otro anillo, cuando U es NR^1R^2 , siempre que U no sea NH_2 . W junto con N y Z pueden un anillo de 5 o 6 átomos que no esté fusionado con otro anillo, cuando U es NR^1R^2 (p. ej., NH_2).

5 Los agentes terapéuticos descritos en este documento pueden tener la fórmula general (TA4-2A) o (TA4-2B):



donde A, B, V, X, U, Z, Z^1 , Z^2 , Z^3 , Z^4 y n son como se ha descrito para TA4-1; Z^5 es O, NR^1 , CR^6 o $\text{C}=\text{O}$;

10

R^6 es H, alquilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi, halo, amino o amido; y

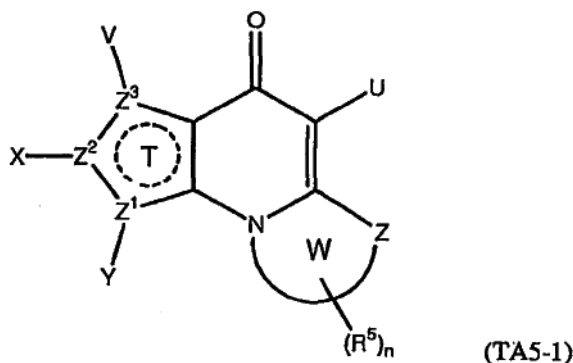
Z y Z^5 pueden formar opcionalmente un doble enlace.

15 En las fórmulas anteriores (TA4-1), (TA4-2A) y (TA4-2B), U puede ser NR^1R^2 , donde R^1 es H, y R^2 es un alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con un heteroátomo, un cicloalquilo C_{3-6} , arilo o un anillo de 5-14 átomos heterocíclico que contiene uno o más N, O o S. Por ejemplo, R^2 puede ser un alquilo C_{1-10} sustituido con un morfolino, tiomorfolino, imidazol, aminoditiazol, pirrolidina, piperazina, piridina o piperidina opcionalmente sustituidos. En otros ejemplos, R^1 y R^2 juntos con N forman una piridina, pirrolidina, piperazina, morfolina, tiomorfolina, imidazol o aminoditiazol
20 opcionalmente sustituido.

Los compuestos de fórmula (TA4-1) y los procedimientos de producción y uso de los mismos se describen en la solicitud de patente de EE. UU. N.º 11/228.636, de Whitten, y col., titulada ANÁLOGOS DE QUINOLONA, y presentada el 16 de septiembre de 2005.

25

El agente terapéutico que se combinará con un inhibidor de PARP puede seleccionarse a partir de los compuestos que tienen esta fórmula:



30

y las sales, ésteres y profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo;

donde V, X e Y no se presentan si está unido a un heteroátomo diferente a nitrógeno, e independientemente H, halo, azido, R^2 , CH_2R^2 , SR^2 , OR^2 o NR^1R^2 cuando está unido a C o N; o

35

donde V y X, o X e Y pueden formar un anillo carbocíclico, un anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido y/o fusionado con un anillo cíclico;

Z^1 , Z^2 y Z^3 son C, N, O o S;

Z es O, S, NR^2 , CH_2 o C=O ;

W junto con N y Z forman un anillo de 5 o 6 átomos opcionalmente sustituido que se fusiona con un arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, donde dicho arilo o heteroarilo puede ser monocíclico o estar fusionado con un anillo sencillo o múltiple y donde dicho anillo contiene opcionalmente un heteroátomo;

U es $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^2$, $-\text{COOR}^2$, $-\text{CONR}^1\text{R}^2$, $-\text{CONR}^1 - (\text{CR}^1_2)_n - \text{NR}^3\text{R}^4$, SO_3R^2 , $\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, $\text{SO}_2\text{NR}^1\text{NR}^1\text{R}^2$, $\text{SO}_2\text{NR}^1\text{OR}^2$, $\text{SO}_2\text{NR}^1-(\text{CR}^1_2)_n-\text{NR}^3\text{R}^4$ o $\text{SO}_2\text{NR}^1\text{NR}^1-(\text{CR}^1_2)_n-\text{NR}^3\text{R}^4$ o $\text{SO}_2\text{NR}^1-\text{O}-(\text{CR}^1_2)_n-\text{NR}^3\text{R}^4$;

10 donde en cada NR^1R^2 , R^1 y R^2 junto con N se puede formar un anillo opcionalmente sustituido;

en NR^3R^4 , R^3 y R^4 junto con N se puede formar un anillo opcionalmente sustituido;

15 R^1 y R^3 son independientemente H o alquilo C_{1-6} ;

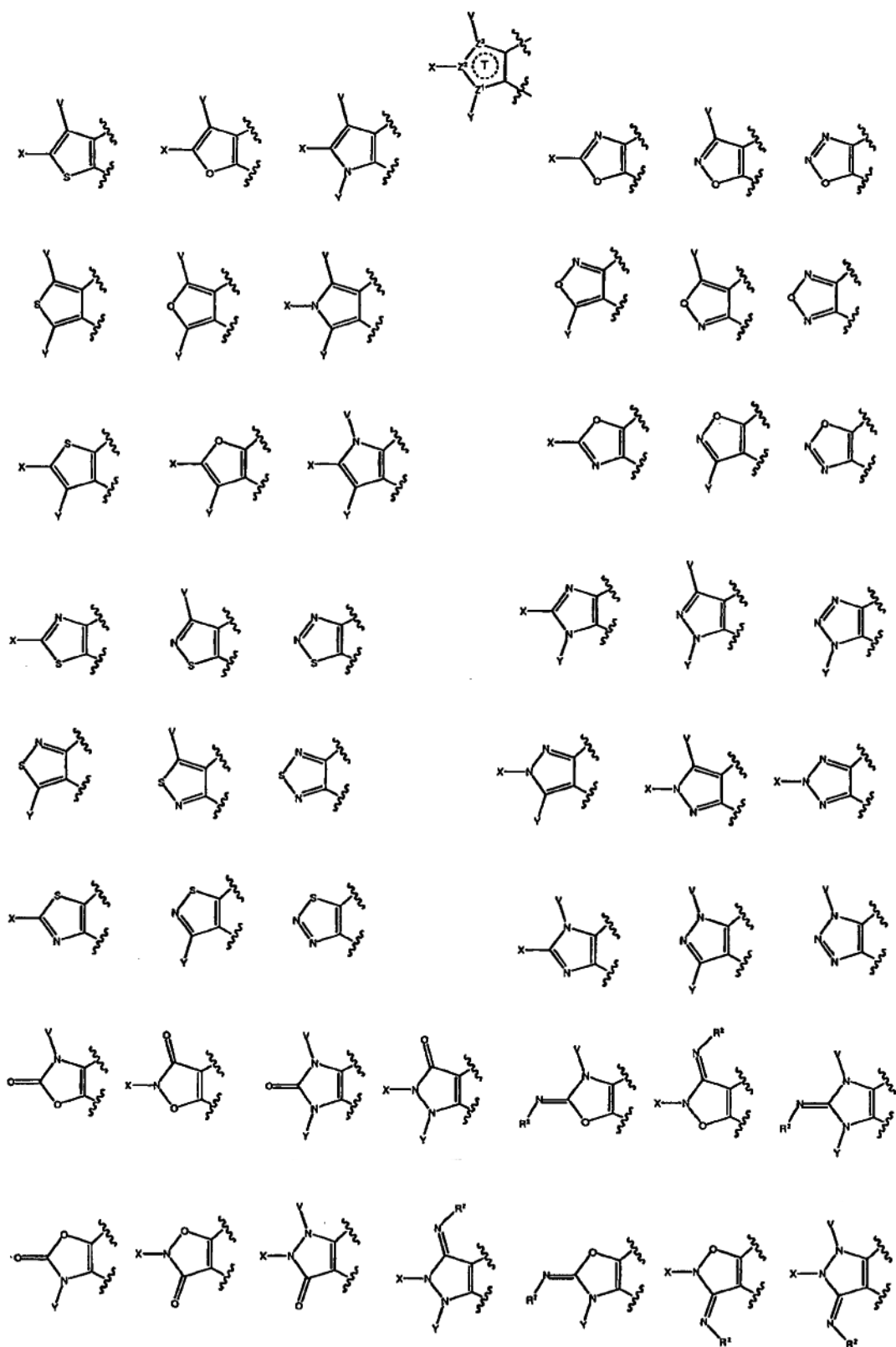
20 cada R^2 es H, o un alquilo C_{1-10} o alqueno C_{2-10} cada uno opcionalmente sustituido con un halógeno, uno o más heteroátomos no adyacentes seleccionados a partir de N, O y S, un anillo carbocíclico, un anillo heterocíclico, un arilo o un heteroarilo, donde cada anillo está opcionalmente sustituido; o R^2 es un anillo carbocíclico, un anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido; o R^2 es COR^1 o $\text{S}(\text{O})_x\text{R}^1$ donde x es 1-2;

25 R^4 es H, un alquilo C_{1-10} o alqueno C_{2-10} que opcionalmente contiene uno o más heteroátomos no adyacentes seleccionados a partir de N, O y S, y opcionalmente sustituidos con un anillo carbocíclico o heterocíclico, o R^3 y R^4 conjuntamente con N pueden formar un anillo opcionalmente sustituido;

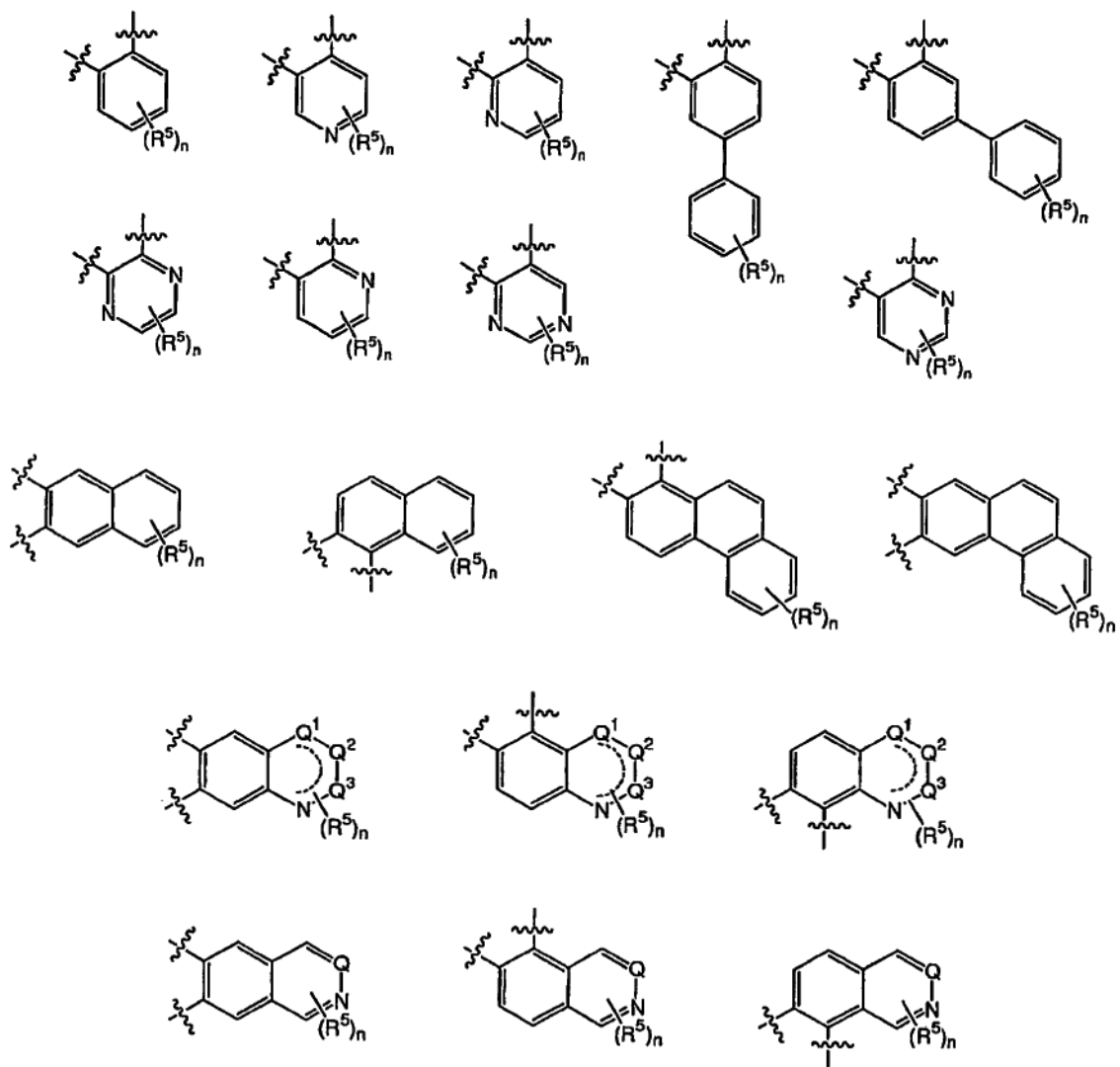
30 cada R^5 es un sustituyente en cualquier posición de W y es H, OR^2 , amino, alcoxi, amido, halógeno, ciano o un sustituyente inorgánico; o R^5 es alquilo C_{1-6} , alqueno C_{2-6} , $-\text{CONHR}^1$, cada uno opcionalmente sustituido por halo, carbonilo o uno o más heteroátomos no adyacentes, o dos R^5 adyacentes se unen para obtener un anillo de 5-6 átomos carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido que puede estar fusionado con un anillo carbocíclico o heterocíclico adicional opcionalmente sustituido; y

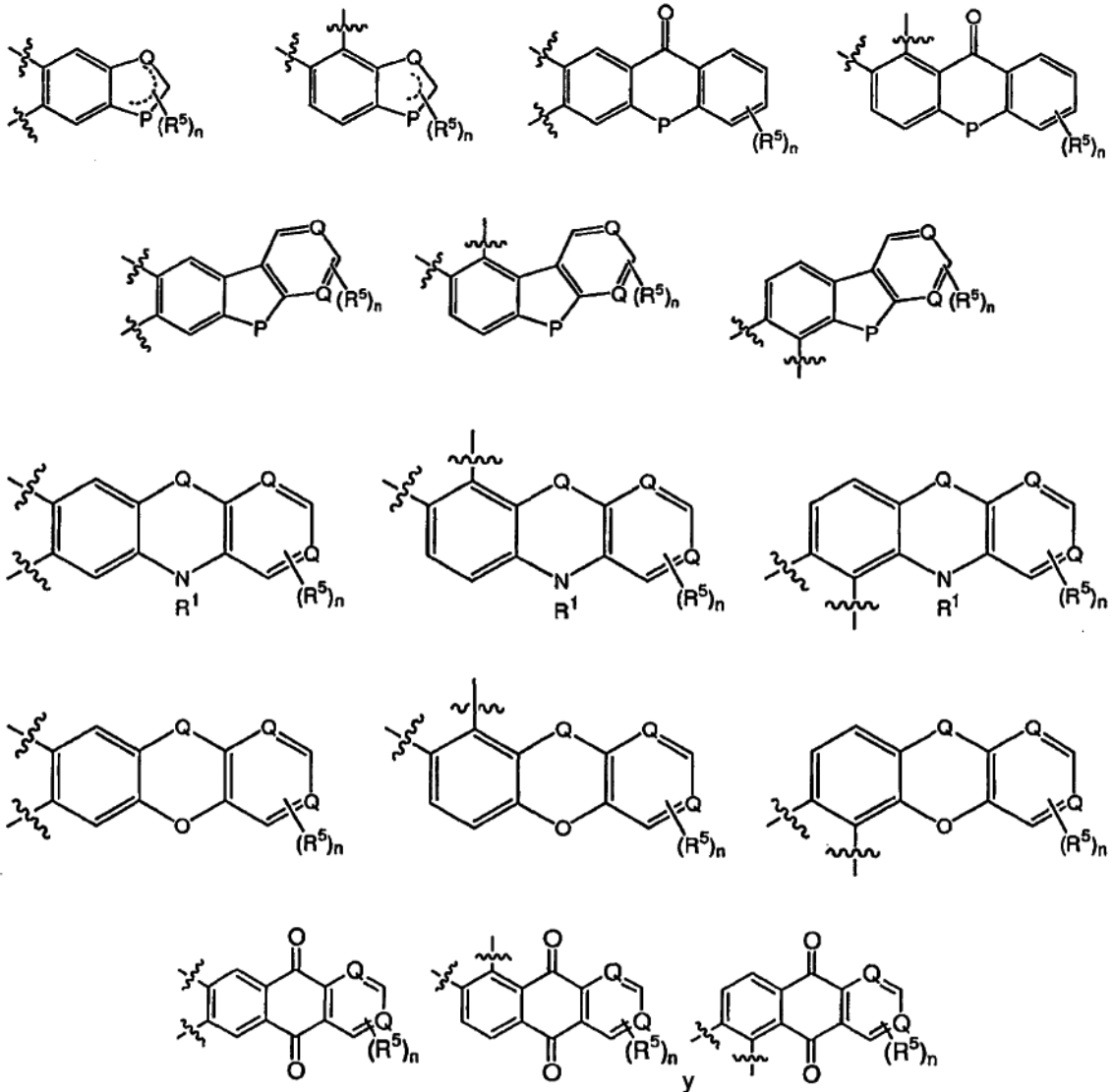
n es 1-6,

35 En la fórmula anterior (TA5-1), el anillo T puede formar un anillo de 5 átomos opcionalmente sustituido seleccionado a partir del grupo compuesto por:



5 En la fórmula anterior (TA5-1), W junto con N y Z pueden formar un anillo arilo o heteroarilo de 5 o 6 átomos opcionalmente sustituido, que se fusiona con un arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido seleccionado a partir del grupo compuesto por:



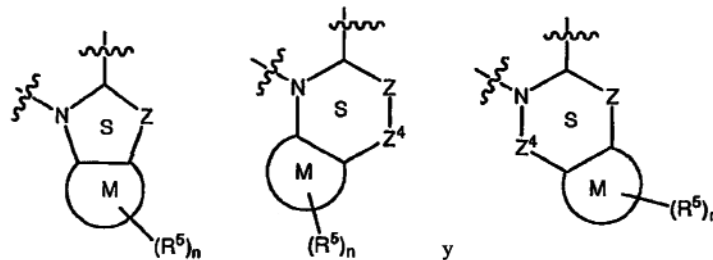


donde cada Q, Q¹, Q² y Q³ son independientemente CH o N;

5 P es independientemente O, CH, =O o NR¹;

n y R⁵ son como se define anteriormente.

10 W junto con N y Z pueden formar un grupo que tiene la fórmula seleccionada a partir del grupo compuesto por



donde Z es O, S, NR², CH₂ o C=O;

15 cada Z⁴ es CR⁶, NR² o C=O;

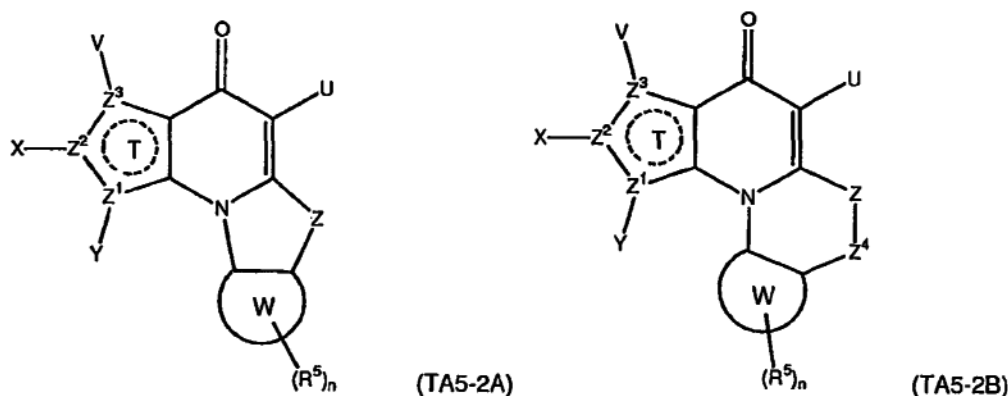
R⁶ es H, o un sustituyente conocido en la técnica, incluyendo pero sin limitaciones hidroxilo, alquilo, alcoxi, halo, amino o amido; y

5 los anillos S y M pueden estar saturados o insaturados.

W junto con N y Z pueden formar un anillo de 5 o 6 átomos que está fusionado con un fenilo.

Los agentes terapéuticos descritos en este documento pueden tener la fórmula general (TA5-2A) o (TA5-2B):

10



donde U, V, W, X, Y, Z, Z¹, Z², Z³, R⁵ y n son como se describe anteriormente para TA5-1;

15 Z⁴ es CR⁶, NR² o C=O; y

Z y Z⁴ pueden formar opcionalmente un doble enlace.

En las fórmulas anteriores (TA5-1), (TA5-2A) y (TA5-2B), U puede ser SO₂NR¹R², donde R¹ es H, y R² es un alquilo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido con un heteroátomo, un cicloalquilo C₃₋₆, arilo o un anillo de 5-14 átomos heterocíclico que contiene uno o más N, O o S. Por ejemplo, R² puede ser un alquilo C₁₋₁₀ sustituido con un morfolino, tiomorfolino, imidazol, aminoditiazol, pirrolidina, piperazina, piridina o piperidina opcionalmente sustituido. En otros ejemplos, R¹ y R² junto con N forman una piridina, pirrolidina, piperazina, morfolina, tiomorfolina, imidazol o aminoditiazol opcionalmente sustituido.

25

U puede ser SO₂NR¹-(CR¹)_n-NR³R⁴; n puede ser 1-4; cada R¹ puede ser H o alquilo y R³ y R⁴ en NR³R⁴ pueden juntos formar una piperidina, pirrolidina, piperazina, morfolina, tiomorfolina, imidazol o aminoditiazol opcionalmente sustituido. U puede ser SO₂NH-(CH₂)_n-NR³R⁴ donde R³ y R⁴ junto con N forman una pirrolidina opcionalmente sustituida, que puede estar unida a (CH₂)_n en cualquier posición del anillo de pirrolidina. R³ y R⁴ junto con N pueden

30

formar una pirrolidina N-metil sustituida.

En este documento se describen compuestos con fórmula (TA5-1), (TA5-2A) o (TA5-2B), donde:

cada V e Y, si están presentes, es independientemente H o halógeno (p. ej., cloro o flúor);

35

X es -(R⁵)R¹R², donde R⁵ es C o N y donde en cada -(R⁵)R¹R², R¹ y R² juntos pueden formarse un anillo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

Z es NH o N-alquilo (p. ej., N-CH₃);

40

W junto con N y Z forman un anillo de 5 o 6 átomos opcionalmente sustituido que se fusiona con un anillo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido; y

U es -SO₂R⁵R⁶-(CH₂)_n-CHR²-NR³R⁴, donde R⁵ es CR¹o N; R¹ es H o alquilo; R⁶ es H o alquilo C₁₋₁₀ y donde en el resto -CHR²-NR³R⁴ cada R³ o R⁴ junto con el C pueden formar un anillo heterocíclico o heteroarilo opcionalmente sustituido, o donde en el resto -CHR²-NR³R⁴ cada R³ o R⁴ junto con el N pueden formar un anillo carbocíclico, heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido.

45

En este documento también se describen compuestos con fórmula (TA5-1), (TA5-2A) o (TA5-2B), donde:

V e Y, si están presentes, son independientemente H o halógeno (p. ej., cloro o flúor);

X si está presente es $-(R^5)R^1R^2$, donde R^5 es C o N y donde en cada $-(R^5)R^1R^2$, R^1 y R^2 juntos pueden formar un anillo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

Z es NH o N-alquilo (p. ej., N-CH₃);

W junto con N y Z forman un anillo de 5 o 6 átomos opcionalmente sustituido que se fusiona con un anillo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido; y

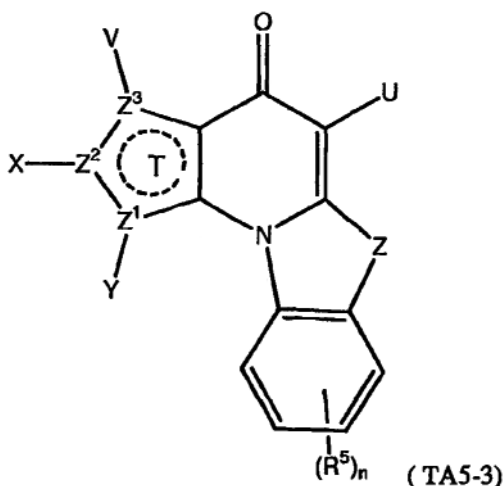
U es $-SO_2R^5R^6-(CH_2)_n-CHR^2-NR^3R^4$,

R^5 es CR¹ o N;

15

R^6 es H o alquilo y donde en el resto $-CHR^2-NR^3R^4$ cada R^3 o R^4 junto con el C pueden formar un anillo heterocíclico o heteroarilo opcionalmente sustituido, o donde en el resto $-CHR^2-NR^3R^4$ cada R^3 o R^4 junto con el N pueden formar un anillo carbocíclico, heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido.

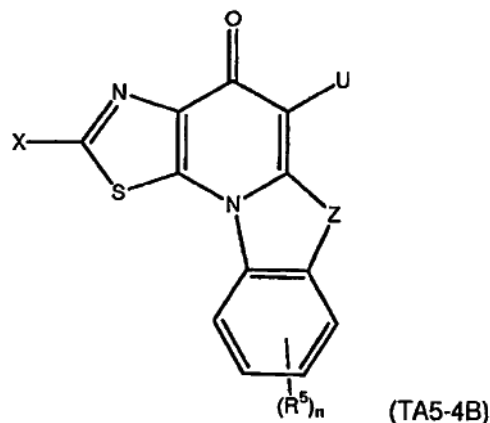
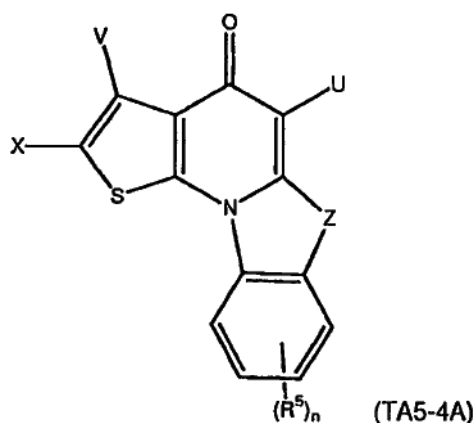
20 Los agentes terapéuticos descritos en este documento pueden tener la fórmula general (TA5-3):



donde U, V, X, Y, Z, Z¹, Z², Z³, R⁵ y n son como se describe anteriormente.

25

Aún en otra realización, los compuestos de la presente invención tienen la fórmula general (TA5-4A) o (TA5-4B):

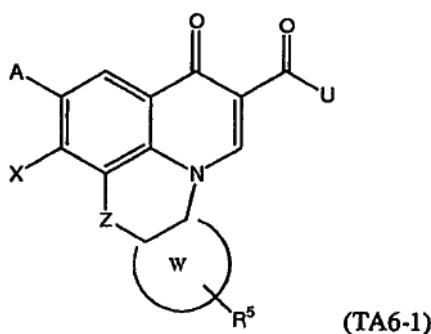


30 donde U, V, X, Z, R⁵ y n son como se describe anteriormente para TA5-1.

Los compuestos de fórmula (TA5-1), y los procedimientos para su producción y uso se describen en la solicitud de

patente de EE. UU. con N.º de serie 60/811.990, de Pierre, y col., titulada ANÁLOGOS DE PIRIDINONA, presentada el 8 de junio de 2006 y la solicitud de patente provisional de EE. UU. de Nagasawa, y col., presentada el 1 de marzo de 2007 con N.º de expediente del apoderado 53223-3003001.

5 El agente terapéutico puede ser un compuesto con la fórmula:



10 y las sales, ésteres y profármacos farmacéuticamente del mismo,

donde X es H, OR², NR¹R², halógeno, azido, SR² o CH₂R;

A es H, halógeno, NR¹R², SR², OR², CH₂R², azido o NR¹-(CR¹₂)_n-NR³R⁴;

15 Z es O, S, NR¹ o CH₂;

U es R², OR², NR¹R² o NR¹-(CR¹₂)_n-NR³R⁴ siempre que U no sea H;

20 W es un arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, que puede ser monocíclico o estar fusionado con un anillo sencillo o múltiple opcionalmente sustituido que contiene un heteroátomo;

donde R¹ y R² junto con N en NR¹R², y R³ y R⁴ junto con N en NR³R⁴ pueden formar independientemente un anillo de 5-6 átomos opcionalmente sustituido que contiene N y, opcionalmente, O o S;

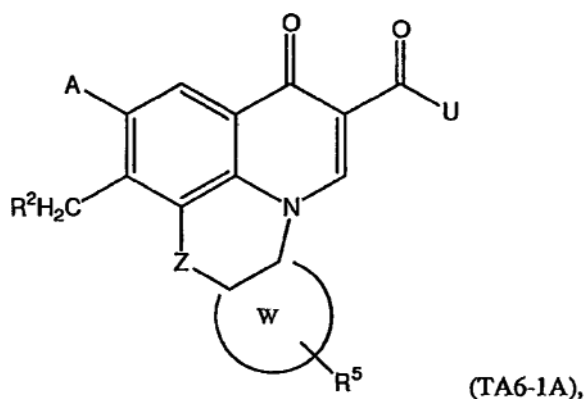
25 R¹ y R³ son independientemente H o un alquilo C₁₋₆; y

30 R² y R⁴ son independientemente H, o un alquilo C¹⁻¹⁰ o alqueno C₂₋₁₀ que opcionalmente contienen uno o más heteroátomos no adyacentes seleccionados a partir de N, O u S, y opcionalmente sustituidos con un anillo arilo, heteroarilo, carbocíclico o heterocíclico sustituido o no sustituido, o R² es un anillo cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

R⁵ es un sustituyente en cualquier posición de W y es H, halo, ciano, azido, -CONHR¹, OR² o alquilo C₁₋₆o alqueno C₂₋₆, sustituido opcionalmente cada uno halo, =O o uno o más heteroátomos;

35 siempre que X y A no sea ninguno H, y además siempre que R⁵ sea ciano o -CONHR¹ donde A es H, halógeno o NR¹R²;

o un compuesto de fórmula (TA6-1 A):



y las sales, ésteres y profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo;

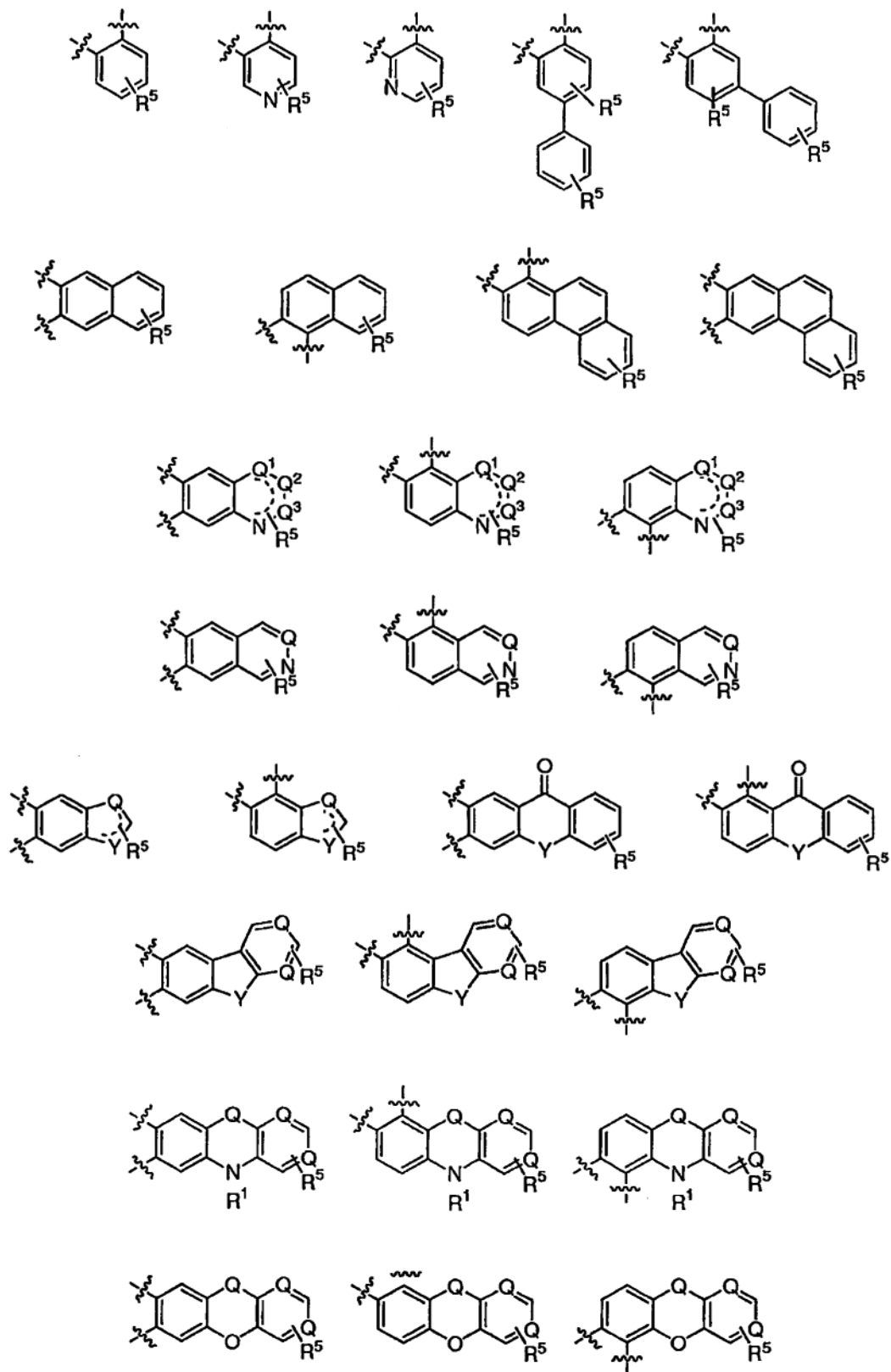
5 A es H, halógeno, azido, SR^2 , OR^2 , CH_2R^2 , NR^1R^2 o $NR^1-(CR^1_2)_n-NR^3R^4$;

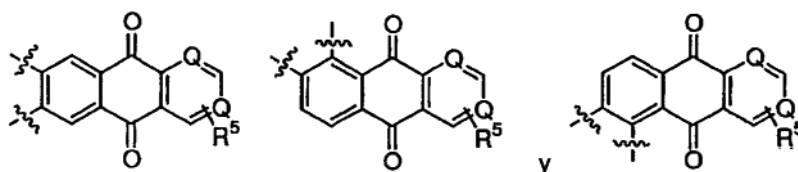
Z, U, W, R^1 , R^2 , R^3 y R^4 son como se definen en la fórmula TA6-1; y

R^5 es un sustituyente en cualquier posición de W y es H, halo, ciano, azido, $-CONHR^1$, OR^2 o alquilo C_{1-6} o alqueno
 10 C_{2-6} , sustituido opcionalmente cada uno por halo, =O o uno o más heteroátomos;

donde cada resto opcionalmente sustituido en las fórmulas TA6-1 y -1A está sustituido con uno o más halo, ciano, azido, acetilo, amido, OR^2 , NR^1R^2 , carbamato, alquilo C_{1-10} , alqueno C_{2-10} , cada uno opcionalmente sustituido por halo, =O, arilo o uno o más heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S; o está sustituido con un anillo arilo,
 15 carbocíclico o heterocíclico.

En la fórmula anterior TA6-1 o TA6-1A, W puede seleccionarse a partir del grupo compuesto por





donde Q, Q¹, Q² y Q³ son independientemente CH o N;

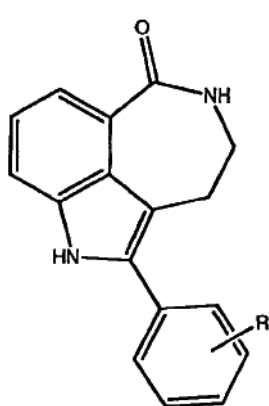
5 Y es independientemente O, CH, =O o NR¹; y

R⁵ es como se define en la fórmula 1.

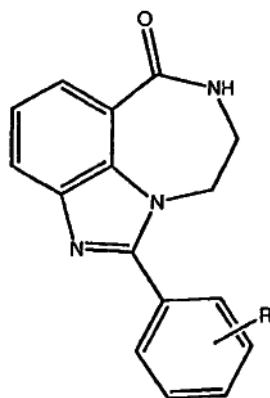
En estos compuestos, cada W en la fórmula TA6-1 o TA6-1A puede ser un fenilo, piridina, bifenilo, naftaleno,
 10 fenantreno, quinolina, isoquinolina, quinazolina, cinnolina, ftalazina, quinoxalina, indol, benzimidazol, benzoxazol,
 benzotiazol, benzofurano, antrona, xantona, acridona, fluorenona, carbazolilo, pirimido[4,3-*b*]furano, pirido[4,3-*b*]indol,
 pirido[2,3-*b*]indol, dibenzofurano, acridina o acridizina opcionalmente sustituido. W puede ser fenilo opcionalmente
 sustituido.

15 Los compuestos de fórmula (TA6-1), y los procedimientos para su producción y uso se describen en la solicitud de
 patente de EE. UU. con N.º de serie 11/404.947, de Whitten, y col., que se presentó el 14 de abril de 2006, titulada
 ANÁLOGOS DE QUINOBENZOXAZINA Y PROCEDIMIENTOS DE USO DE LOS MISMOS.

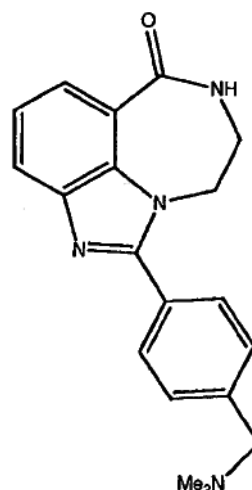
Los agentes terapéuticos anteriores pueden usarse en combinación con al menos un modulador. Los ejemplos de
 20 inhibidores de PARP son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en C.R. Calabrese, y col., Clin.
 Cancer Res., vol. 9, 2711-18 (2003), S.J. Veuger, y col., Cancer Res. vol. 63,6008-15 (2003); C.R. Calabrese y col.,
 J. Nat'l. Cancer Inst 96(1), 56-67 (2004); "Potent Novel PARP Inhibitors," Expert Reviews en Molecular Medicine, vol.
 7(4) (marzo 2005); y P. Jagtap, Nature Rev.: Drug Discovery, vol. 4, 421-40 (2005). Los inhibidores de PARP
 descritos en estos documentos son adecuados para su uso en los procedimientos y composiciones descritas en este
 25 documento. Entre los inhibidores de PARP adicionales que pueden usarse se incluyen, por ejemplo, 10-(4-metil-
 piperazin-1-ilmetil)-2H-7-oxa-1,2-diaza-benzo[de]antracén-3-ona (GPI 15427) y 2-(4-metil-piperazin-1-il)-5H-
 benzo[*c*][1,5]naftiridin-6-ona (GPI 16539). Véase Di Paola, y col., Eur. J. Pharmacology, 527(1-3), 163-71 (2005).
 Entre los ejemplos representativos, pero no limitantes, de inhibidores de PARP que son adecuados para el uso
 descrito en este documento se incluyen los compuestos conocidos a continuación, incluyendo las sales
 30 farmacéuticamente aceptables e isómeros individuales o mezclas de sus isómeros.



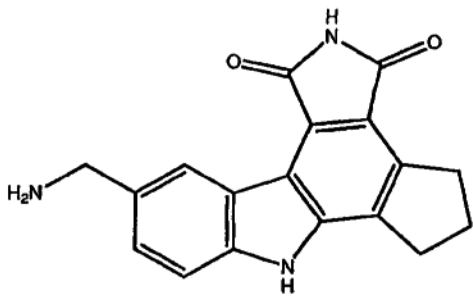
Indoles de lactama tricíclicos
 TI3: R = 4'-F
 R = H
 R = 3-NH2
 R = 2-OH



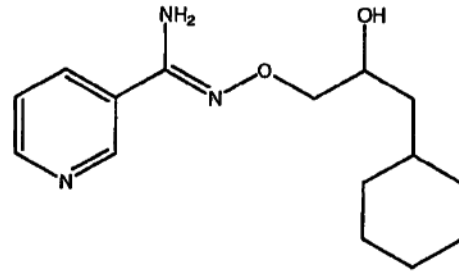
Benzimidazoles tricíclicos
 R = H
 R = 2-Cl



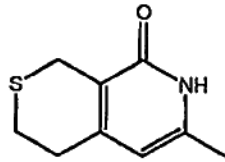
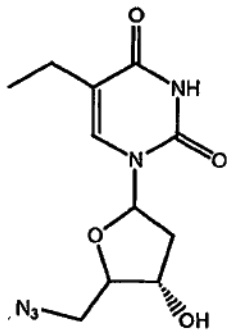
AG14361



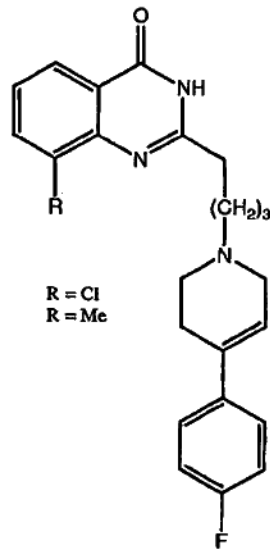
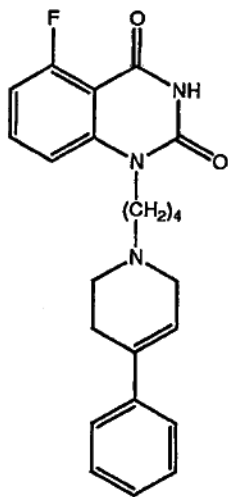
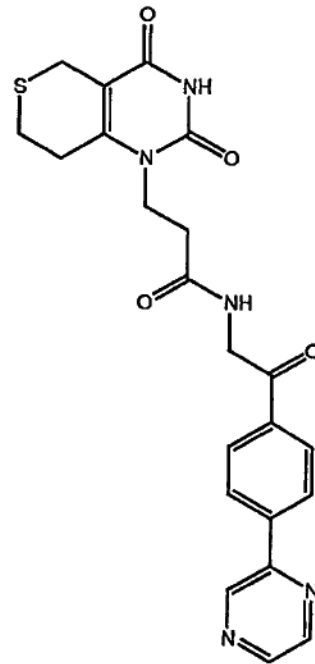
CEP-6800

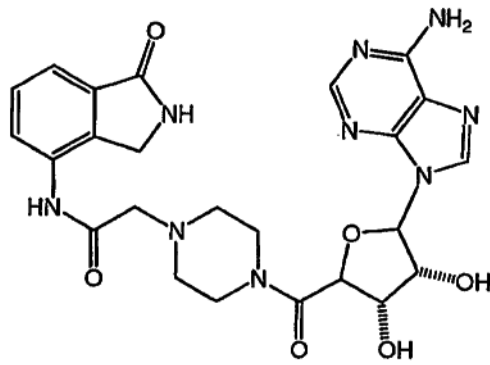


BGP-15

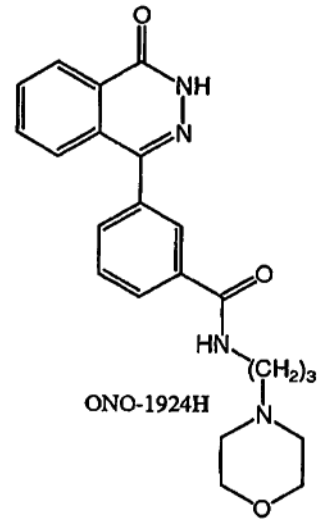


DR2313

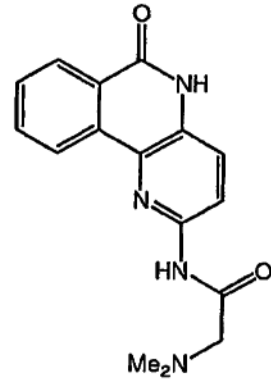
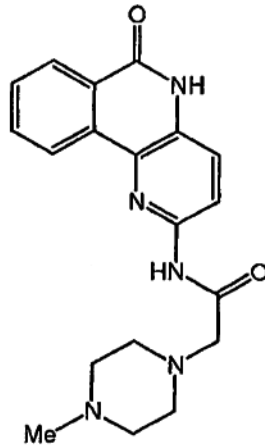
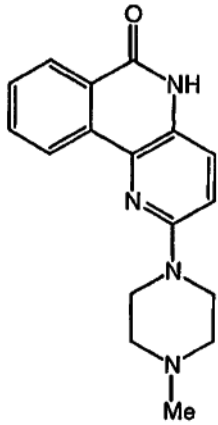




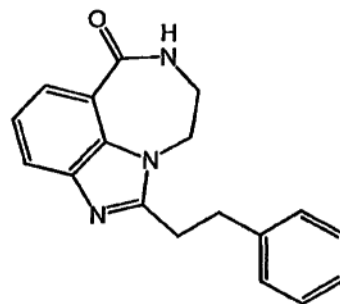
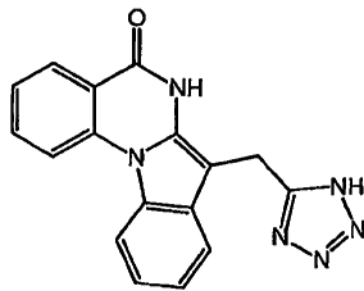
EB-47

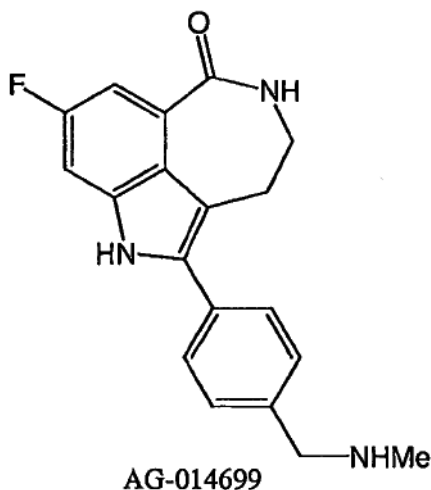
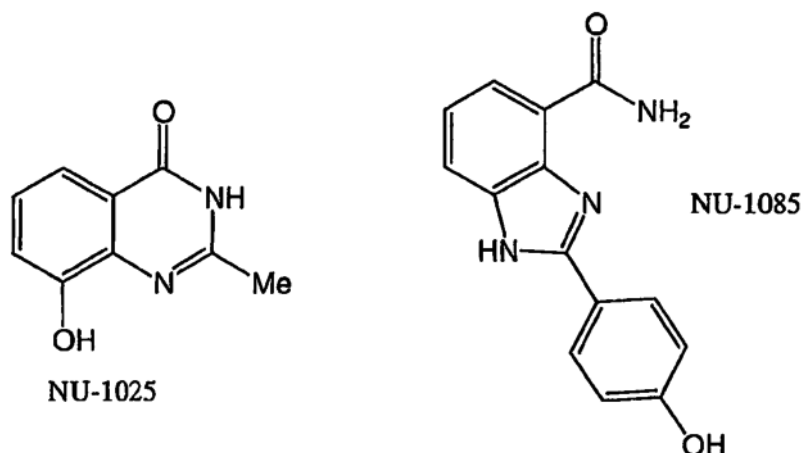


ONO-1924H



PJ-34





El compuesto TA1-1A es un agente terapéutico preferido para su uso en los procedimientos y composiciones descritas en este documento. Se proporciona más información sobre los procedimientos adecuados para su formulación y administración en a solicitud provisional de EE. UU. con N°. de serie 60/803.864 de Lim, y col., que se presentó el 3 de junio de 2006.

También se describen en este documento composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un agente terapéutico como se describe en este documento en combinación con al menos un modulador. Opcionalmente, la composición puede comprender un diluyente u otros excipientes farmacéuticamente aceptables.

Para su administración a sujetos animales o humanos, la dosis apropiada del agente terapéutico es típicamente de 0,01-15 mg/kg, preferiblemente, de 0,1-10 mg/kg. Los niveles de dosis dependen de la naturaleza de la afección, la eficacia del fármaco, la afección del paciente, el criterio del profesional y la frecuencia o modo de administración; sin embargo, la optimización de estos parámetros está dentro del nivel normal de experiencia en la técnica.

De forma similar, la dosis de un modulador está típicamente entre aproximadamente de 0,01-15 mg/kg, y aproximadamente de 0,1-10 mg/kg. El modulador puede ser independientemente activo para tratar un cáncer. Para las politerapias descritas anteriormente, cuando se usa en una combinación con un agente terapéutico, la dosis de un modulador será frecuentemente de dos a diez veces inferior a la dosis necesaria cuando el modulador se usa solo para tratamiento de la misma afección o sujeto. La determinación de una cantidad adecuada del modulador para su uso en combinación con un agente terapéutico se realizar fácilmente mediante procedimientos conocidos en la técnica.

También se describen en este documento procedimientos para modular la actividad de una proteína PARP, que comprende poner en contacto un sistema que comprende la proteína PARP con una composición descrita en este documento en una cantidad eficaz para modular (p. ej., inhibir) la actividad de la proteína. El sistema puede ser un

sistema libre de células y un sistema que comprende células. También se describen en este documento procedimientos para reducir la proliferación celular y, opcionalmente, inducir apoptosis, que comprenden poner en contacto las células con una composición o politerapia como se describe en este documento, donde un agente terapéutico se administra en una cantidad eficaz para reducir la proliferación de las células y un inhibidor de PARP se administra en una cantidad suficiente para potenciar la eficacia del agente terapéutico. Las células en estas realizaciones pueden estar en una línea celular, en un tejido o en un sujeto (p. ej., animal de investigación o humano).

También se describen en este documento procedimientos para tratar una afección relacionada con proliferación celular aberrante. Por ejemplo, en este documento se describen procedimientos de tratamiento de una afección de proliferación celular en un sujeto, que comprende administrar un agente terapéutico descrito en este documento y un inhibidor de PARP descrito en este documento a un sujeto que necesita tratamiento para un trastorno de proliferación celular; el agente terapéutico y el inhibidor de PARP se administran en cantidades eficaces para tratar la afección de proliferación celular. El sujeto puede ser un animal de investigación (p. ej., roedor, perro, gato, mono), contener opcionalmente un tumor como tumor xenógrafo (p. ej., tumor humano), por ejemplo, o puede ser un ser humano.

En ocasiones, una afección de proliferación celular es un cáncer tumoral o no tumoral, incluyendo pero sin limitaciones, cánceres colorrectales, de mama, pulmón, hígado, páncreas, ganglio linfático, colon, próstata, cerebro, cabeza y cuello, piel, hígado, riñón, sangre y corazón (p. ej., leucemia, linfoma, carcinoma).

Puede prepararse cualquier formulación adecuada del agente terapéutico y el inhibidor PARP para su administración, tanto conjuntamente como por separado. Puede usarse cualquier vía de administración para cada componente, incluyendo sin limitaciones, las vías oral, parenteral, intravenosa, intramuscular, transdérmica, tópica y subcutánea. Las dos sustancias usadas conjuntamente (inhibidor de PARP y agente terapéutico) pueden administrarse por separado o conjuntamente. Cuando se administran conjuntamente, puede estar en formas de administración independientes o pueden combinarse en una única combinación de fármacos. Por tanto, en este documento se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un agente terapéutico como se describe en este documento y al menos un inhibidor de PARP y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Los ejemplos siguientes ilustran la invención.

Ejemplo 1

Procesos para sintetizar los compuestos

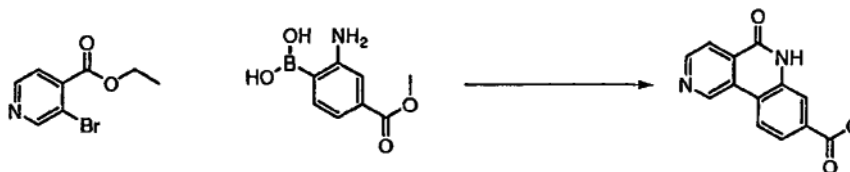
Proceso 1

El ácido 3-bromo-4-piridin carboxílico (3,0 g, 14,9 mmoles) en etanol (100 ml) se trató con ácido sulfúrico concentrado (5 ml).



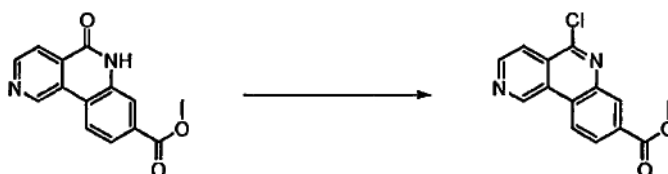
La mezcla se llevó a reflujo momento en el cual todo el material se disolvió. Después de 12 horas a reflujo, la CLEM indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró en un evaporador rotatorio hasta un tercio de su volumen original. La mezcla se diluyó a continuación con 250 ml de acetato de etilo y se lavó dos veces con bicarbonato sódico acuoso saturado. La concentración en un evaporador rotatorio produjo 3,25 g del éster de etilo como un aceite amarillento que estaba suficientemente puro para transformaciones químicas posteriores. CLEM (ESI) 216,2 (M+1)⁺.

50



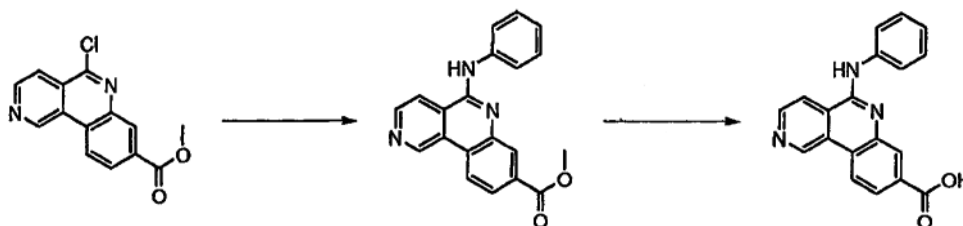
Se mezclaron 3-bromo-4-piridin carboxilato de etilo (1,15 g, 5,0 mmoles), ácido 2-amino-4-metoxicarbonil-fenilborónico (1,04 g, 4,5 mmoles), acetato sódico (1,64 g, 20 mmoles), cloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno

paladio (II) (formando complejo con diclorometano) (182 mg, 0,25 mmoles) y dimetilformamida (7,5 ml) en un matraz. El matraz se evacuó y llenó con nitrógeno dos veces y se calentó a 125° C con agitación durante 12 horas o hasta que la CLEM indicó ausencia de material inicial. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadió agua (100 ml) para formar un precipitado de color marrón. El precipitado se filtró para obtener 637 mg de 5-oxo-5,6-dihidrobenzo[c][2,6]naftiridin-8-carboxilato de metilo. CLEM (ESI) 255,4 (M+1)⁺.



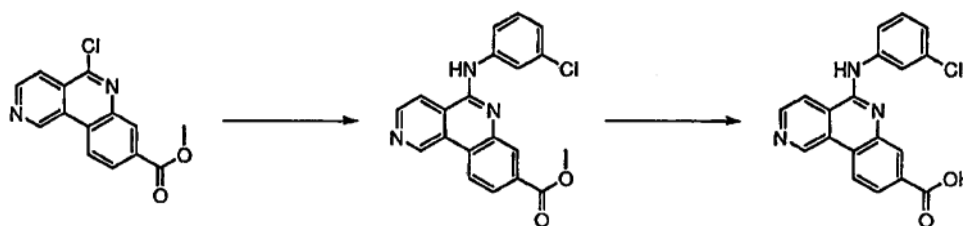
El 5-oxo-5,6-dihidrobenzo[c][2,6]naftiridin-8-carboxilato de metilo (200 mg, 0,787 mmoles) se combinó con oxiclورو de fósforo (1 ml) y se calentó a reflujo. Después de 2 horas, la CLEM indicaba la ausencia de material inicial. Los productos volátiles se eliminaron a presión reducida. El residuo se recogió en diclorometano (50 ml) y se lavó dos veces con bicarbonato sódico acuoso saturado. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró en un evaporador rotatorio hasta obtener 5-clorobenzo[c][2,6]naftiridin-8-carboxilato (140 mg) como un sólido de color grisáceo. CLEM (ESI) 273,3 (M+1)⁺.

15



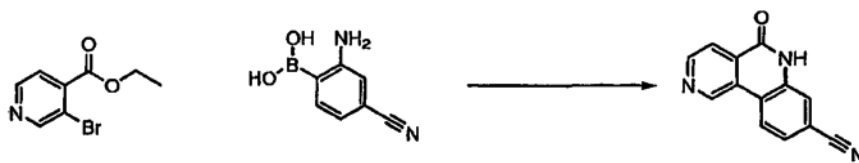
Se mezcló 5-clorobenzo[c][2,6]naftiridin-8-carboxilato de metilo (20 mg, 0,074 mmoles) con anilina (60 mg, 0,65 mmoles) y N-metil pirrolidinona (0,2 ml) en un tubo de microondas y la mezcla se calentó a 120°C durante 10 minutos momento en que la CLEM indicó que la reacción se había completado como indicaba la ausencia de material inicial. A continuación la mezcla se purificó mediante HPLC para obtener el éster (22 mg) o podía tratarse con hidróxido sódico 6N para obtener el ácido (19 mg). CLEM (ESI) 316,3 (M+1)⁺. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 10,17 (1H, s), 9,67 (1H, sa), 8,99 (1H, d, 5,9 Hz), 8,83 (1H, d, 8,6 Hz), 8,62 (1H, d, 5,9 Hz), 8,24 (1H, d, 1,6 Hz), 8,04 (1H, s), 8,02 (1H, s), 7,93 (1H, dd, 8,2, 1,6 Hz), 7,43 (1H, d, 7,4 Hz), 7,41 (1H, d, 7,4 Hz), 7,10 (1H, m).

25



Se mezcló 5-clorobenzo[c][2,6]naftiridin-8-carboxilato de metilo (232 mg, 0,853 mmoles) con *meta*-cloroanilina (217 mg, 1,71 mmoles) y N-metil pirrolidinona (1 ml) en un matraz y la mezcla se calentó a 80°C durante 2 horas momento en que la CLEM indicó que la reacción se había completado como indicaba la ausencia de material inicial. La mezcla se disolvió en CH₂Cl₂, se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado y se secó sobre Na₂SO₄. El material se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SiO₂, gradiente 1:1 a 9:1 de EtOAc/Hexanos) para obtener el éster. El material se disolvió en metanol y NaOH 6N acuoso y la mezcla se agitó a 50°C durante 30 minutos. Los productos volátiles se eliminaron al vacío. El residuo se trituró a partir de ácido acético/THF/metanol usando una mezcla de hexanos y etilacetato. La filtración y el secado proporcionaron 147 mg de ácido 5-(3-clorofenilamino)benzo[c][2,6]naftiridin-8-carboxílico. CLEM (ESI) 350 (M+1)⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,21 (s, 1H), 9,72 (sa, 1H), 9,02 (d, *J* = 5,6, 1H), 8,89 (d, *J* = 8,8, 1H), 8,62 (d, *J* = 5,6, 1H), 8,31 (sa, 1H), 8,28 (d, *J* = 1,6, 1H), 8,10 (da, *J* = 8, 1H), 7,99 (dd, *J* = 2, *J* = 8,4, 1H), 7,46 (t, *J* = 8,0, 1H), 7,16 (da, *J* = 7,2, 1H) ppm.

35



Se añadieron acetato sódico (410 mg, 5 mmoles) y cloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno paladio (II) (formando complejos con diclorometano) (36 mg, 0,05 mmoles) a una mezcla de 3-bromo-4-piridina carboxilato de etilo (230 mg, 1,0 mmoles) y sal clorhídrica del ácido 2-amino-4-cianofenilborónico (179 mg, 0,9 mmoles). La mezcla se conectó a un tubo de burbujeo de salida y se calentó a 120°C durante 18 horas momento en el cual el análisis mediante CLEM indicó que la reacción se había llevado a cabo en función de la desaparición del material inicial. Tras enfriar a temperatura ambiente, se añadió agua y los sólidos oscuros se filtraron y lavaron con diclorometano para obtener 5-oxo-5,6-dihidrobenzo[c][2,6]naftiridin-8-carbonitrilo (156 mg) como un sólido de color gris que estaba suficientemente puro para las transformaciones químicas posteriores. CLEM (ESI) 222,4 (M+1)⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) 12,2 (1H, s), 9,96 (1H, s), 8,90 (1H, d, 5,1 Hz), 8,77 (1H, d, 8,2 Hz), 8,13 (1H, d, 5,1 Hz), 7,73 (1H, dd 8,2, 1,6 Hz), 7,70 (1H, d, 1,6 Hz).



Se añadió oxicloruro de fósforo (2 ml) al 5-oxo-5,6-dihidrobenzo[c][2,6]naftiridin-8-carbonitrilo (150 mg, 0,66 mmoles). La mezcla se calentó a reflujo durante 3 horas momento en el cual el análisis por CLEM indicó ausencia de material inicial. Los productos volátiles se eliminaron al vacío y el producto sin procesar se disolvió en diclorometano, se lavó con salmuera y bicarbonato sódico acuoso saturado y se secó sobre sulfato sódico. Tras la concentración al vacío, el producto sin procesar se trituroó con acetato de etilo y hexanos para obtener 5-clorobenzo[c][2,6]naftiridin-8-carbonitrilo (125 mg). CLEM (ESI) 240,3 (M+1)⁺.



Una mezcla de 5-clorobenzo[c][2,6]naftiridin-8-carbonitrilo (30 mg, 0,13 mmoles), anilina (60 mg, 0,65 mmoles) y dimetilformamida (0,2 ml) se calentó a 120°C en un reactor de microondas durante 10 minutos. El análisis mediante CLEM indicó ausencia de material inicial. La mezcla se diluyó con agua y se dejó reposar durante algunos minutos hasta que se produjo la precipitación de 5-(fenilamino)benzo[c][2,6]naftiridin-8-carbonitrilo (25 mg) como un sólido blanquecino. CLEM (ESI) 297,3 (M+1)⁺.

30



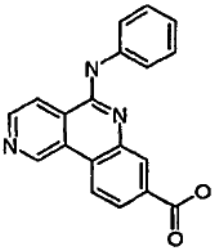
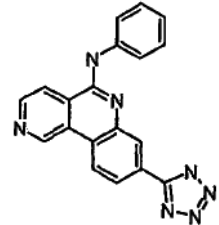
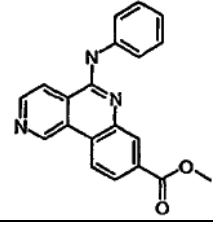
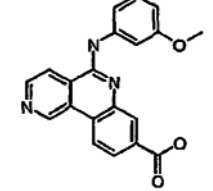
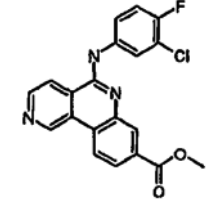
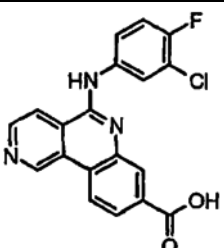
Se añadió azida sódica (65 mg, 1 mmol) y cloruro de amonio (53 mg, 1 mmol) a una mezcla sin procesar de 5-(fenilamino)benzo[c][2,6]naftiridin-8-carbonitrilo (25 mg, 0,084 mmoles) en dimetilformamida (0,2 ml). La mezcla se calentó durante 18 h a 120°C momento en el cual el análisis por CLEM indicó ausencia de material inicial. La mezcla se diluyó con agua y se purificó mediante HPLC preparativa para obtener N-fenil-8-(1H-tetrazol-5-il)benzo[c][2,6]naftiridin-5-amina (14 mg). CLEM (ESI) 340,3 (M+1)⁺. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 10,11 (1H, s), 8,96 (1H, d, 5,9 Hz), 8,85 (1H, d, 8,2 Hz), 8,53 (1H, d, 5,5 Hz), 8,47 (1H, s), 8,16 (1H, d, 8,6 Hz), 7,88 (1H, s), 7,86 (1H, d, 0,8 Hz), 7,57-7,51 (3H, m), 7,36-7,31 (2H, m).

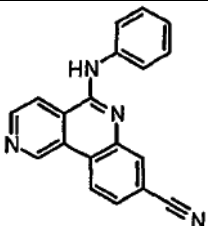
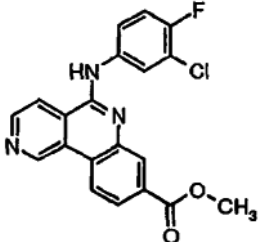
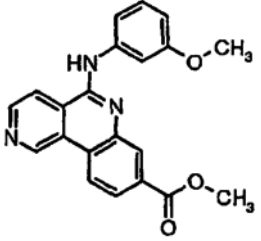
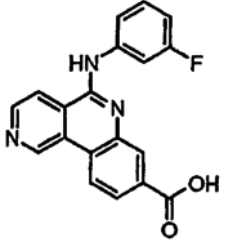
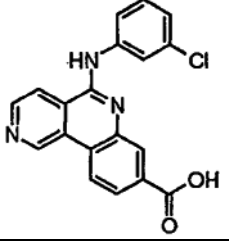
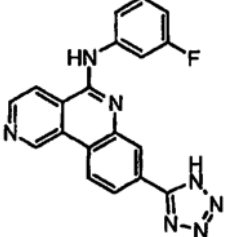
35

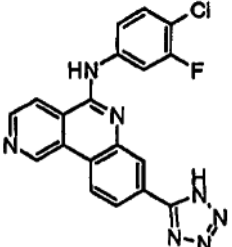
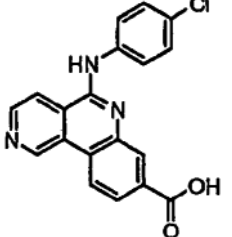
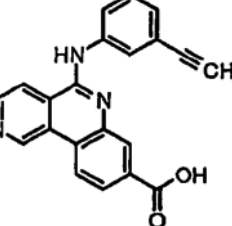
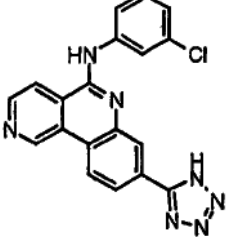
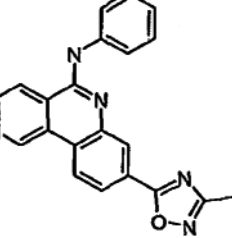
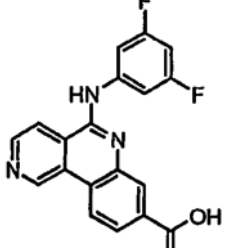
Los compuestos representativos se muestran a continuación en la Tabla 1A.

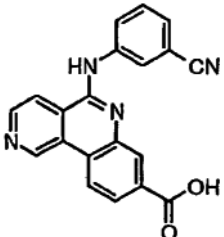
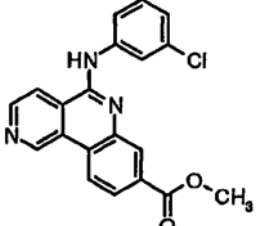
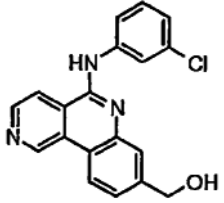
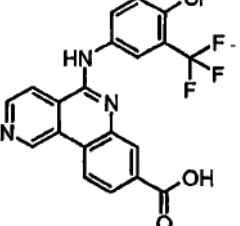
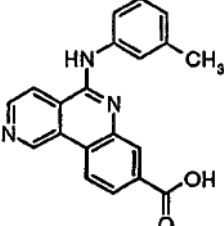
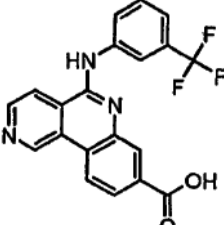
Tabla 1^a

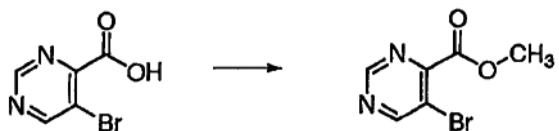
5

Compuesto	Peso molecular	CLEM (ES) m/z
	315,3	316 [M+1] ⁺
	339,4	340 [M+1] ⁺
	329,4	330 [M+1] ⁺
	345,4	346 [M+1] ⁺
	367,8	368 [M+1] ⁺
Estructura	Peso molecular	CLEM (ES) m/z
	367,76	368 [M+1] ⁺

 <chem>Nc1ccc(cc1)Nc2nc3cc(C#N)ccc3n2</chem>	296,33	297 [M+1] ⁺
 <chem>COC(=O)c1ccc2nc(Nc3cc(F)cc(Cl)c3)nc2n1</chem>	381,79	382 [M+1] ⁺
 <chem>COC(=O)c1ccc2nc(Nc3cc(OC)cc3)nc2n1</chem>	359,38	360 [M+1] ⁺
 <chem>OC(=O)c1ccc2nc(Nc3cc(F)cc3)nc2n1</chem>	333,32	334 [M+1] ⁺
 <chem>OC(=O)c1ccc2nc(Nc3cc(Cl)cc3)nc2n1</chem>	349,77	350 [M+1] ⁺
 <chem>C1=NN=N=C1c2ccc3nc(Nc4cc(F)cc4)nc3n2</chem>	357,34	358 [M+1] ⁺

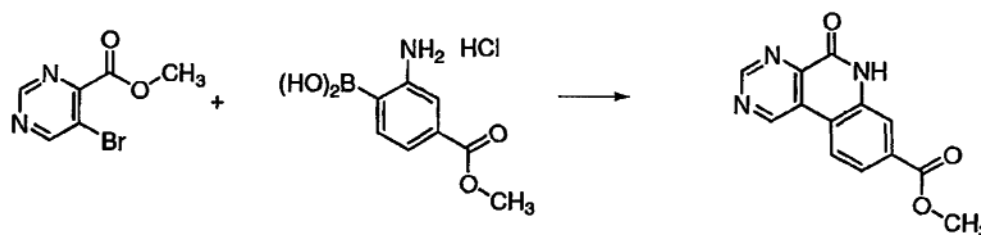
	391,79	392 [M+1] ⁺
	349,77	350 [M+1] ⁺
	339,35	340 [M+1] ⁺
	373,80	374 [M+1] ⁺
	353,38	354 [M+1] ⁺
	351,31	352 [M+1] ⁺

	340,33	341 [M+1] ⁺
	363,80	364 [M+1] ⁺
	335,79	336 [M+1] ⁺
	417,77	418 [M+1] ⁺
	329,35	330 [M+1] ⁺
	383,32	384 [M+1] ⁺

Proceso 2

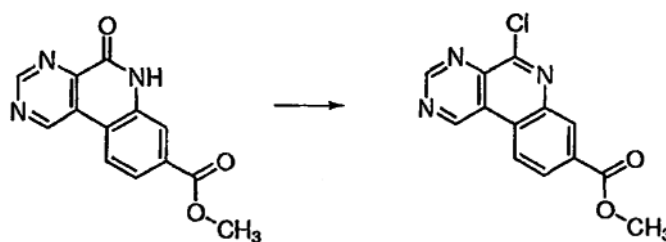
El ácido 5-bromopirimidin-4-carboxílico (preparado según el procedimiento descrito en la patente de EE. UU. 4.110.450) (1,0 eq, 6,14 g, 30,2 mmoles) se resuspendió en CH₂Cl₂ (100 ml). Se añadió oxalilcloruro (1,1 eq, 2,9 ml, 33,0 mmoles) seguido de dos gotas de DMF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y los productos volátiles se eliminaron al vacío. El residuo se recogió en MeOH (50 ml) y se calentó. Tras la evaporación del MeOH al vacío, el compuesto se disolvió en CH₂Cl₂ y se vertió sobre una columna previamente empaquetada de gel de sílice. El material se eluyó usando acetato de etilo al 20% en hexanos. La evaporación del solvente proporcionó metil-5-bromopirimidin-4-carboxilato como un sólido cristalino de color naranja claro (2,54 g, rendimiento del 39%). CLEM (ES) 95% puro, m/z 217 [M]⁺; 219 [M+2]⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 4,04 (s, 3H), 9,02 (s, 1H), 9,21 (s, 1H) ppm.

10

Proceso 3

15 Se añadió acetato sódico (4,0 eq, 1,92 g, 23,41 mmoles) y cloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno paladio (II) (formando complejos con diclorometano) (0,05 eq, 214 mg, 0,29 mmoles) a una mezcla de 5-bromopirimidin-4-carboxilato de metilo (1,0 eq, 1,27 g, 585 mmoles) y sal clorhídrica del ácido 2-amino-4-(metoxicarbonil)fenilborónico (1,0 eq, 1,35 g, 5,85 mmoles) en DMF anhidro (10 ml). La mezcla se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a 120°C durante 18 horas. Se añadieron agua y salmuera y las impurezas sólidas resultantes se eliminaron mediante
20 filtración. El material se extrajo con CH₂Cl₂ (4x) y los extractos mezclados se secaron sobre Na₂SO₄. Tras la evaporación del CH₂Cl₂, se evaporó el DMF restante calentando el residuo al vacío. El sólido resultante se trituró en CH₂Cl₂, se filtró y secó para obtener 5-oxo-5,6-dihidropirimido[4,5-c]quinolina-8-carboxilato de metilo como un sólido de color beige (127 mg, rendimiento del 8,5%). CLEM (ES) >80% puro, m/z 256 [M+1]⁺; ¹H RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 3,79 (s, 3H), 7,81 (d, *J* = 8,0, 1H), 8,68 (d, *J* = 8,8, 1H), 9,49 (s, 1H), 10,19 (s, 1H), 12,37 (s, 1H) ppm.

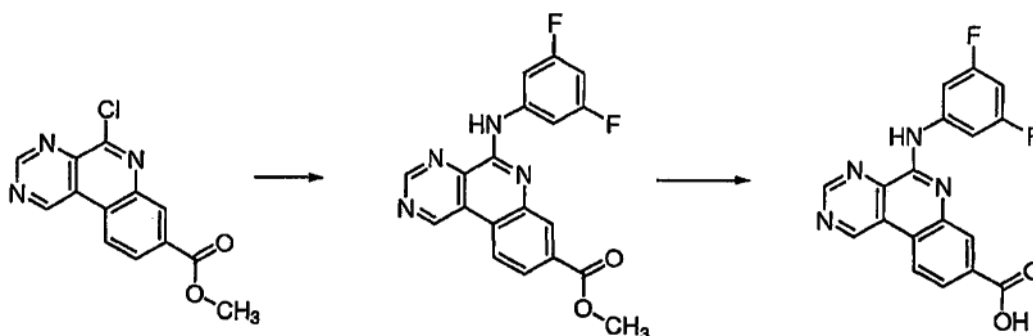
25

Proceso 4

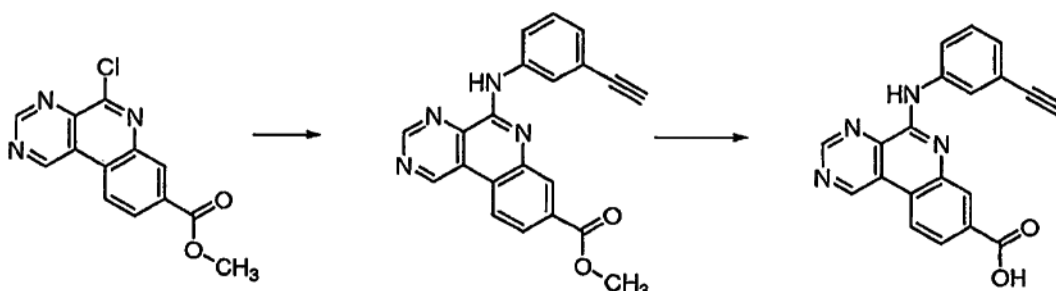
30 En un vial se mezcló 5-oxo-5,6-dihidropirimido[4,5-c]quinolina-8-carboxilato de metilo (1,0 eq, 151 mg, 0,59 mmoles) en tolueno (1 ml) con DIEA (1,5 eq, 155 µl, 0,89 mmoles) y POCl₃ (5 eq, 270 µl, 3,0 mmoles). La mezcla se agitó a 120°C durante 1 hora y se enfrió hasta temperatura ambiente. Tras añadir hielo y agua, el compuesto se extrajo con CH₂Cl₂ (4x). La solución se filtró sobre Na₂SO₄ y se filtró a través de una almohadilla de celita. Tras la evaporación de los productos volátiles, el material se trituró en una mezcla de acetato de etilo y hexanos, se filtró y secó para
35 obtener 5-cloropirimido[4,5-c]quinolina-8-carboxilato de metilo como un sólido esponjoso de color marrón claro (115 mg, rendimiento del 71%). CLEM (ES) 95% puro, m/z 274 [M+1]⁺. ¹H RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 3,96 (s, 3H), 8,37 (dd, *J* = 1,6, *J* = 8,4, 1H), 8,60 (d, *J* = 1,6, 1H), 9,15 (d, *J* = 8,8, 1H), 9,74 (s, 1H), 10,61 (s, 1H) ppm.

Proceso 5

40



Se mezcló 5-cloropirimido[4,5-c]quinolina-8-carboxilato de metilo (10 mg) con 3,5-difluoroanilina (100 mg) en NMP (0,1 ml). La mezcla se calentó con microondas a 120°C durante 10 minutos. Se añadió agua y el material se extrajo con CH₂Cl₂. Se eliminó el solvente. La trituración en una mezcla de etilacetato y hexanos y la filtración proporcionó 5-(3,5-difluorofenilamino)pirimido[4,5-c]quinolina-8-carboxilato de metilo. Este material se suspendió en una mezcla 1:1 de THF y MeOH (2 ml) y se añadió una solución acuosa 5N de hidróxido de litio. La mezcla se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 5 horas. Se añadieron agua y ácido clorhídrico 6N para inducir la precipitación del material previsto. El sólido se filtró, lavó con agua, secó y suspendió en MeOH. La filtración y el secado proporcionó ácido 5-(3,5-difluorofenilamino)pirimido[4,5-c]quinolina-8-carboxílico como un sólido de color amarillo (4 mg, rendimiento del 31%). CLEM (ES) 95% puro, m/z 353 [M+1]⁺. ¹H RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 6,90 (ta, *J* = 9,6, 1H), 8,02 (dd, *J* = 1,6, *J* = 8,0, 1H), 8,18 (da, *J* = 10,8, 2H), 8,34 (d, *J* = 1,6, 1H), 8,86 (d, *J* = 8,4, 1H), 9,65 (s, 1H), 10,40 (s, 1H), 10,44 (s, 1H) ppm.

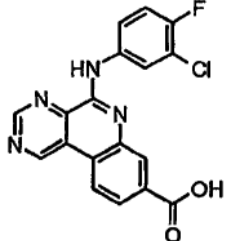
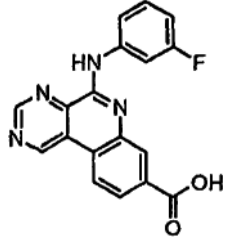
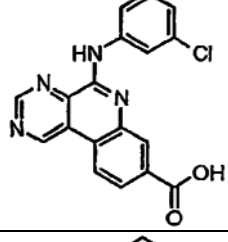
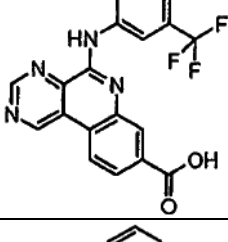
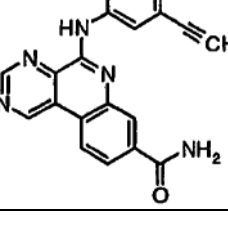
15 Proceso 6

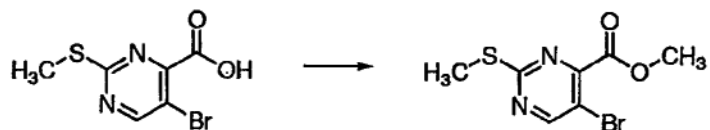
Se preparó ácido 5-(3-etinilfenilamino)pirimido[4,5-c]quinolina-8-carboxílico usando el mismo procedimiento y empezando a partir de 5-cloropirimido[4,5-c]quinolina-8-carboxilato de metilo y 3-etinilanilina. CLEM (ES) 95% puro, m/z 341 [M+1]⁺. ¹H RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 4,20 (s, 1H), 7,19 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,42 (t, *J* = 8,0, 1H), 7,99 (dd, *J* = 1,6, *J* = 8,4, 1H), 8,30 (d, *J* = 1,6, 1H), 8,34 (dd, *J* = 1,6, *J* = 8,0, 1H), 8,49 (sa, 1H), 8,85 (d, *J* = 8,8, 1H), 9,65 (s, 1H), 10,11 (s, 1H), 10,43 (s, 1H) ppm.

25 Se prepararon análogos representativos (tabla 1B) mediante el mismo procedimiento usando 5-cloropirimido[4,5-c]quinolina-8-carboxilato de metilo y las aminas apropiadas.

Tabla 1B

Estructura	PM	CLEM (ES) m/z
	382,78	383 [M+1] ⁺

	368,75	369 [M+1] ⁺
	334,30	335 [M+1] ⁺
	350,76	351 [M+1] ⁺
	384,3114	385 [M+1] ⁺
	339,3501	340 [M+1] ⁺

Proceso 7

5

Se preparó 5-bromo-2-(metiltio)pirimidin-4-carboxilato de metilo según el procedimiento utilizado en el proceso 2 para la preparación de 5-bromopirimidin-4-carboxilato de metilo. CLEM (ES) >90% puro, m/z 263 [M]⁺; 265 [M+2]⁺; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 2,59 (s, 3H), 4,00 (s, 3H), 8,71 (s, 1H) ppm.

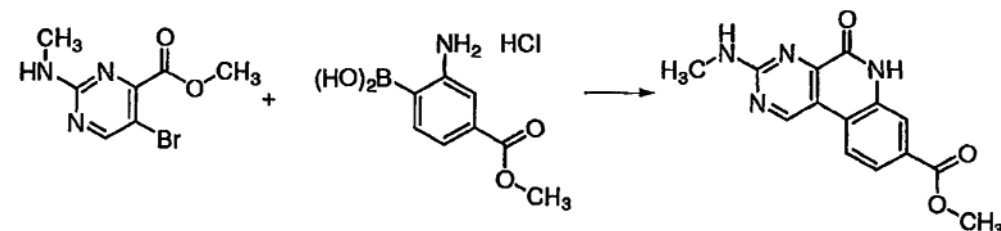
10 Proceso 8



Se disolvió 5-bromo-2-(metiltio)pirimidin-4-carboxilato de metilo (1,0 eq, 661 mg, 2,52 mmoles) en CH₂Cl₂ (10 ml), se añadió ácido metacloroperbenzónico (m-cpba, 77% de grado de pureza, 2,5 eq, 1,42 g, 6,34 mmoles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A la suspensión resultante se le añadió THF anhídrido (10 ml), clorhidrato de metilamina (10 eq, 1,7g, 25,18 mmoles) y DIEA (10 eq, 4,3 ml, 24,69 mmoles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Los solventes se eliminaron al vacío antes de añadir CH₂Cl₂ y una solución de bicarbonato sódico acuosa saturada. Las dos fases se decantaron y se realizaron dos extracciones adicionales con CH₂Cl₂. Los extractos mezclados se secaron sobre Na₂SO₄ y los disolventes se evaporaron. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (acetato de etilo al 20-30% en hexanos) proporcionó 5-bromo-2-(metilamino)pirimidin-4-carboxilato de metilo como un sólido de color blanquecino (461 mg, rendimiento del 75%). CLEM (ES) 95% puro, m/z 246 [M+1]⁺.

Proceso 9

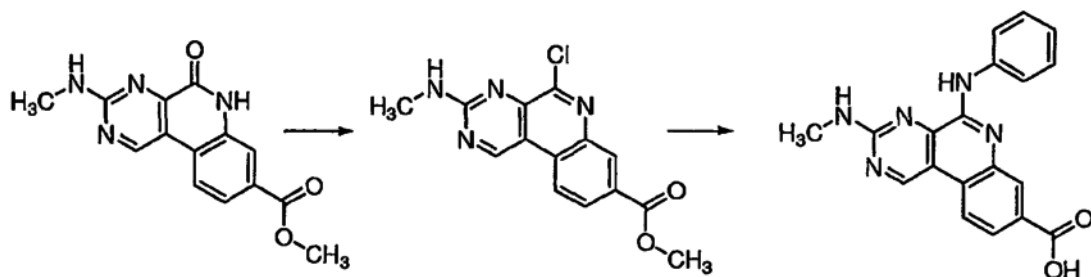
15



Se añadió acetato sódico (3,0 eq, 240 mg, 2,93 mmoles) y cloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno paladio (II) (formando complejos con diclorometano) (0,05 eq, 36 mg, 0,049 mmoles) a una mezcla de 5-bromo-2-(metilamino)pirimidin-4-carboxilato de metilo (1,0 eq, 240 mg, 0,975 mmoles) y sal clorhídrica del ácido 2-amino-4-(metoxicarbonil)fenilborónico (1,0 eq, 226 mg, 0,98 mmoles) en DMF anhídrido (2 ml). La mezcla se agitó con microondas calentando a 120° C durante 10 min. La adición de agua inducía la precipitación del compuesto previsto que se filtró y secó, 3-(metilamino)-5-oxo-5,6-dihidropirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxilato de metilo (57 mg, rendimiento del 21%). CLEM (ES): >80% puro, m/z 285 [M+1]⁺.

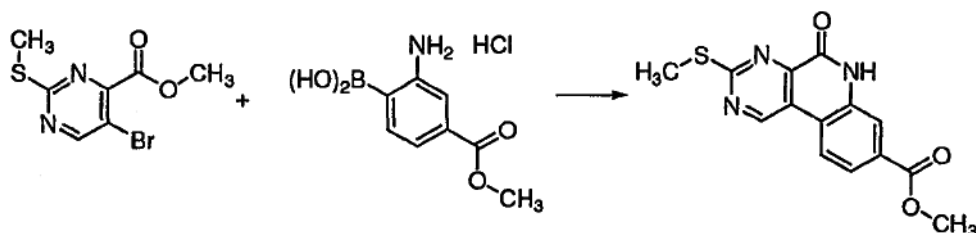
25

Proceso 10



Se preparó ácido 3-(metilamino)-5-(fenilamino)pirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxílico usando los procedimientos descritos en los procesos 3 y 4 empezando a partir de 3-(metilamino)-5-oxo-5,6-dihidropirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxilato de metilo. El producto final se purificó mediante cromatografía ultrarrápida y se aisló como un sólido de color amarillento (0,35 mg). CLEM (ES): >95% puro, m/z 346 [M+1]⁺.

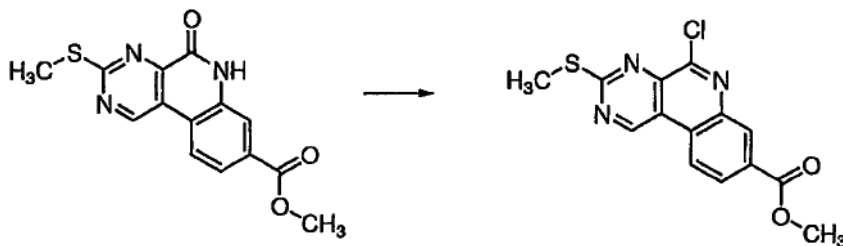
35 Proceso 11



En un vaso de microondas, se mezclaron 5-bromo-2-(metiltio)pirimidin-4-carboxilato de metilo (1,0 eq, 274 mg, 1,18 mmoles), sal clorhídrica del ácido 2-amino-4-(metoxicarbonil)fenilborónico (1,2 eq, 329 mg, 1,42 mmoles) y acetato sódico (3,0 eq, 291 mg, 3,55 mmoles) en DMF anhidro (2 ml). La mezcla se desgaseó mediante burbujeo de gas nitrógeno en la solución durante 10 minutos y la reacción se calentó con microondas a 120°C durante 30 minutos. Tras enfriar el material previsto se precipitó a partir de NMP. El sólido se filtró, suspendió en agua, filtró y secó. El material se trituró en AcOET y se filtró obteniendo un sólido de color amarillo. El mismo procedimiento se repitió 9 veces usando las mismas cantidades de materiales para obtener 3-(metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxilato de metilo (283 mg, rendimiento del 10%). CLEM (ES): >95% puro, m/z 302 [M+1]⁺, ¹H RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 2,71 (s, 3H), 3,89 (s, 3H), 7,80 (dd, *J* = 1,6, *J* = 8,4, 1H), 7,9,7 (d, *J* = 1,6, 1H), 8,59 (d, *J* = 8,8, 1H), 9,98 (s, 1H), 12,34 (s, 1H) ppm.

Proceso 12

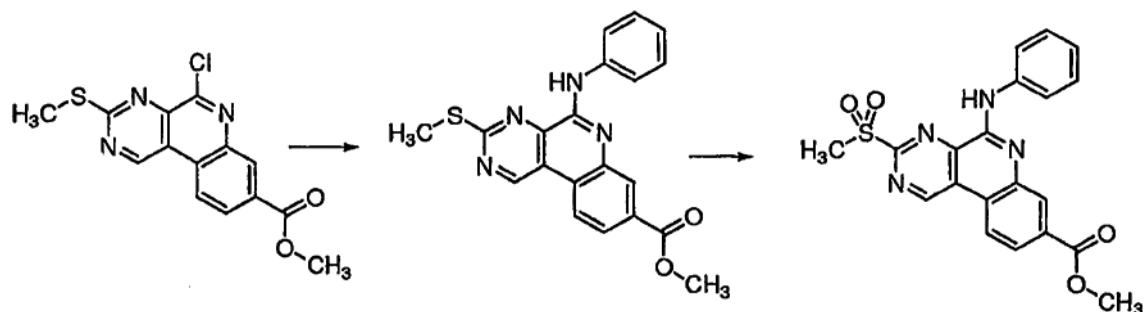
15



Se suspendió 3-(metiltio)-5-oxo-5,6-dihidropirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxilato de metilo (1,0 eq, 279 mg, 0,926 mmoles) en tolueno (2 ml). Se añadió POCl₃ (2 ml) y DIEA (0,5 ml) y la mezcla se agitó a 120° C durante 5 horas. Los productos volátiles se eliminaron al vacío y se añadió CH₂Cl₂. La fase orgánica se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado, se lavó con agua y se secó sobre Na₂SO₄. La solución se filtró a través de una almohadilla de celita y los solventes se eliminaron al vacío. El material se trituró en hexanos y AcOEt, se filtró y se secó para proporcionar 5-cloro-3-(metiltio)pirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxilato de metilo como un sólido de color beis (184 mg, rendimiento del 63%). CLEM (ES): >95% puro, m/z 320 [M+1]⁺.

25

Proceso 13

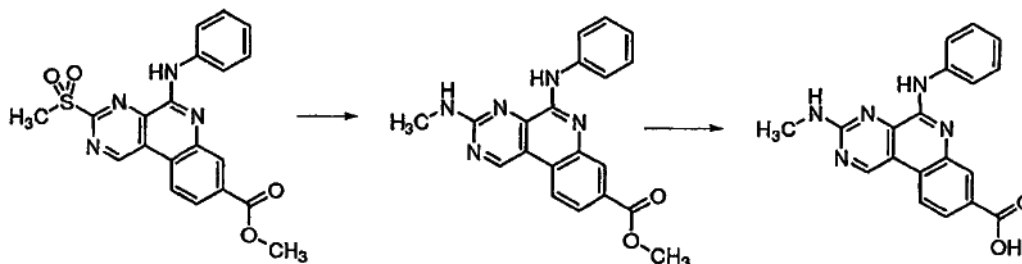


Se mezcló 5-cloro-3-(metiltio)pirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxilato de metilo (1,0 eq, 182 mg, 0,57 mmoles) con anilina (0,5 ml) en NMP (1 ml). La mezcla se calentó con microonda durante 10 minutos a 120°C. Se añadió agua y el sólido resultante se filtró y secó. El compuesto se trituró en EtOAc y hexanos y se filtró para obtener 3-(metiltio)-5-(fenilamino)pirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxilato de metilo como un sólido de color amarillo. CLEM (ES): >95% puro, m/z 377 [M+1]⁺. Este material se suspendió en CH₂Cl₂ (4 ml) y ácido metacloroperbenzoico (77% puro, 2,5 eq, 165 mg, 0,737 mmoles) se añadió en pequeñas porciones. Después de una hora, se añadió una cantidad adicional (100 mg) de mcpba y la mezcla se agitó durante 1,5 horas. Tras la adición de más CH₂Cl₂, la fase orgánica se lavó con agua (4x), se secó sobre Na₂SO₄ y la solución se filtró a través de una almohadilla de gel de sílice y se eluyó

35

con una mezcla de MeOH/CH₂Cl₂. Tras la evaporación de los solventes, se aisló 3-(metilsulfonyl)-5-(fenilamino)pirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxilato de metilo como un sólido de color amarillo (166 mg, rendimiento del 72%). CLEM (ES): >95% puro, m/z 409 [M+1]⁺, 1H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 3,77 (s, 3H), 3,93 (s, 3H), 7,15 (t, J = 7,2, 1H), 7,45 (t, J = 7,6, 2H), 7,99 (dd, J = 2,0, J = 8,4, 1H), 8,16 (d, J = 7,6, 2H), 8,28 (d, J = 2,0, 1H), 8,89 (d, J = 8,8, 1H), 9,76 (s, 1H), 10,61 (s, 1H) ppm.

Proceso 14



10

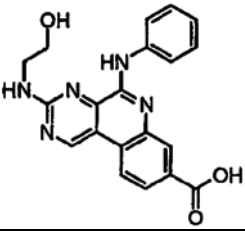
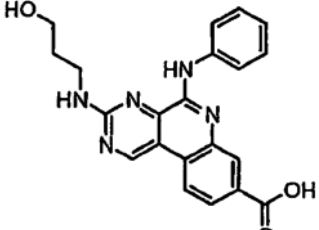
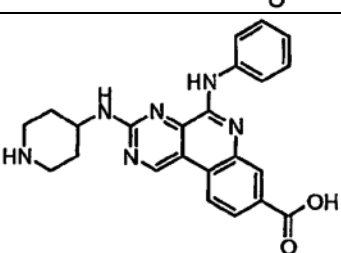
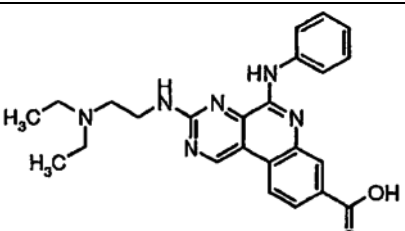
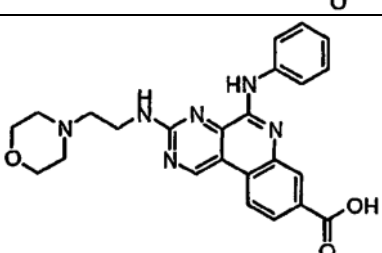
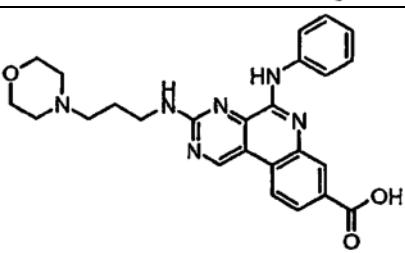
En un vial cerrado se mezcló 3-(metilsulfonyl)-5-(fenilamino)pirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxilato de metilo (1,0 eq, 62 mg, 0,152 mmoles) con clorhidrato de metilamina (100 mg) y DIEA (260 µl) en DMF (1ml). La mezcla se agitó a 60°C durante 40 minutos. La adición de agua indujo la precipitación de 3-(metilamino)-5-(fenilamino)pirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxilato de metilo que se aisló mediante filtración. Este material se suspendió en una mezcla 1:1:1 de

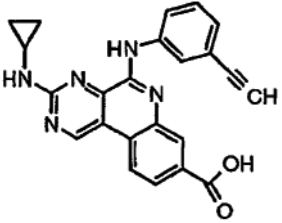
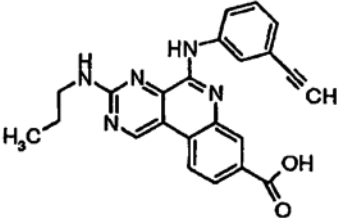
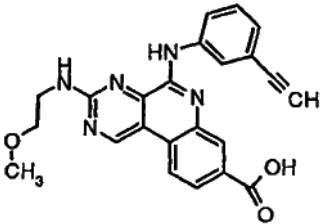
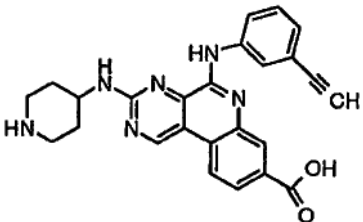
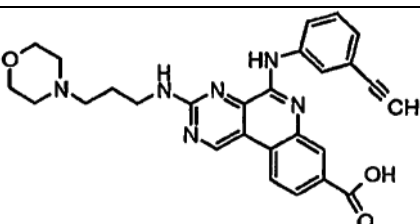
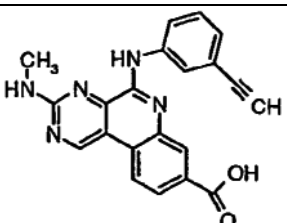
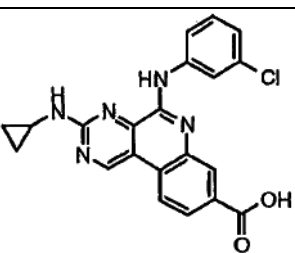
15 THF, MeOH y agua (4 ml), y se agitó vigorosamente a 60° C en presencia de LiOH (200 mg) durante 1,5 horas. Se añadió HCl acuoso en agua hasta alcanzar pH = 1. El sólido se filtró, secó y trituró en AcOEt/hexanos para obtener ácido 3-(metilamino)-5-(fenilamino)pirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxílico como un sólido de color amarillo (40 mg, rendimiento del 74%). CLEM (ES): >95% puro, m/z 346 [M+1]⁺.

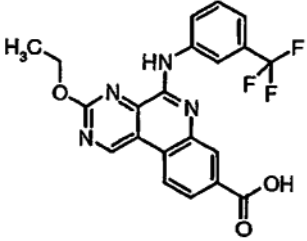
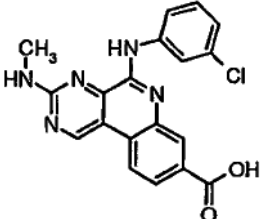
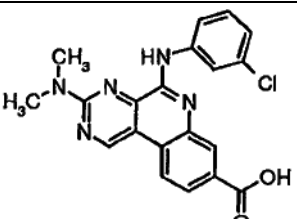
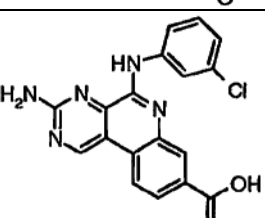
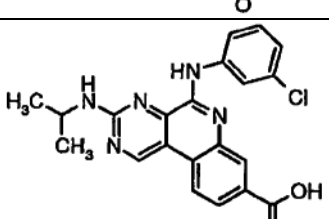
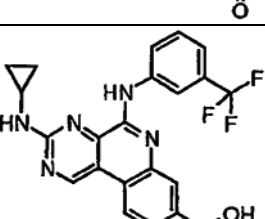
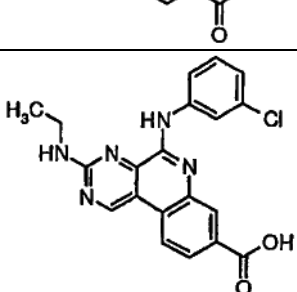
20 Los siguientes análogos (tabla 1C) se prepararon usando el mismo procedimiento Tras la purificación mediante HPLC preparativa y evaporación en un sistema Genevac, los materiales se aislaron en forma sólida.

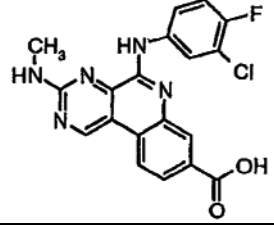
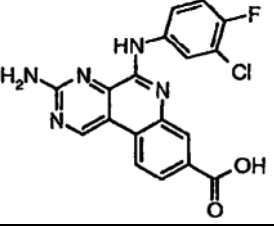
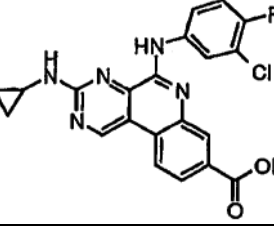
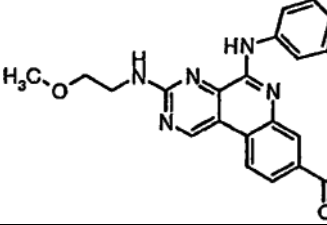
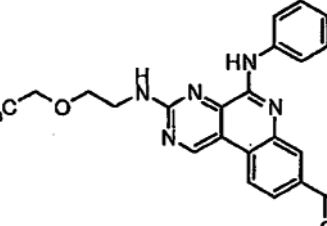
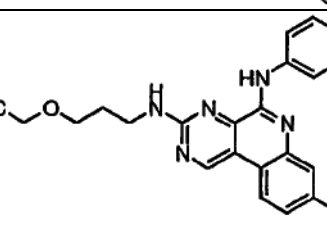
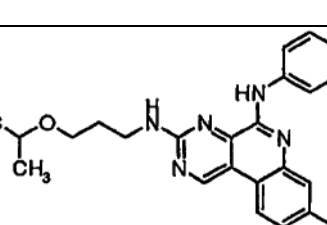
Tabla 1C

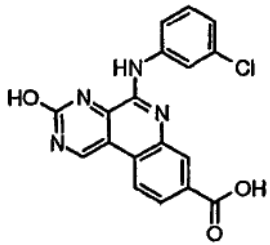
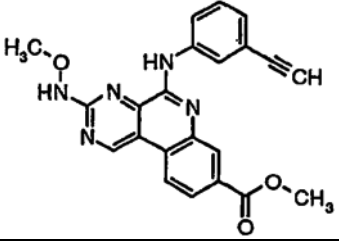
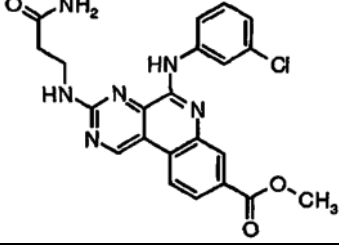
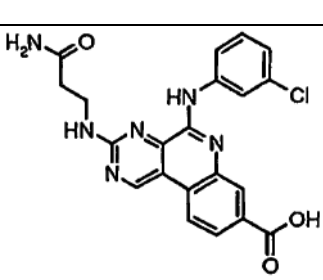
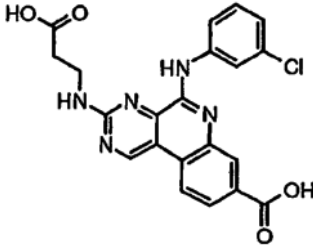
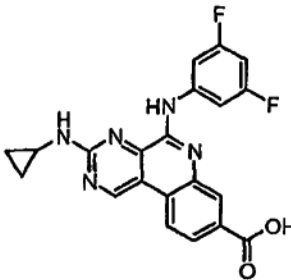
Estructura	Peso molecular	CLEM (ES) m/z
	371,39	372 [M+1] ⁺
	373,41	374 [M+1] ⁺
	389,41	390 [M+1] ⁺

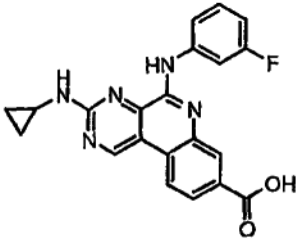
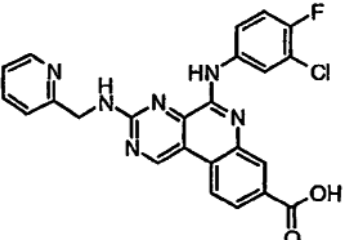
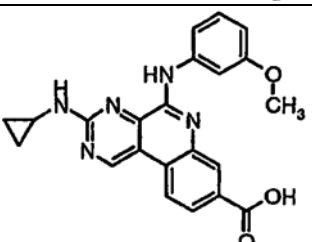
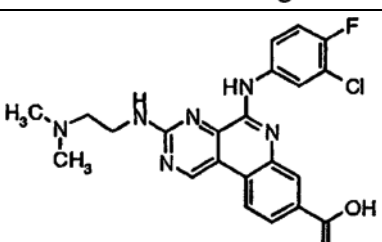
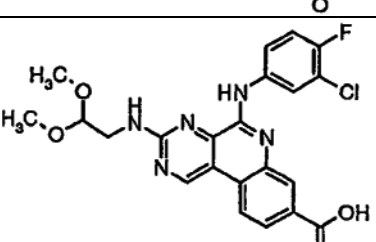
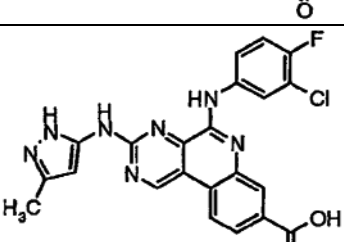
Estructura	Peso molecular	CLEM (ES) m/z
	375,38	376 [M+1] ⁺
	389,41	390 [M+1] ⁺
	414,46	415 [M+1] ⁺
	430,50	431 [M+1] ⁺
	444,49	445 [M+1] ⁺
	458,51	459 [M+1] ⁺

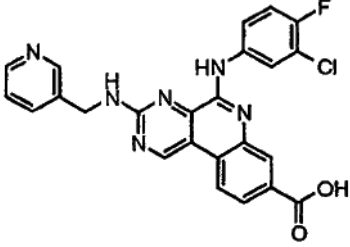
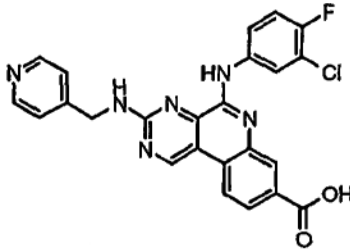
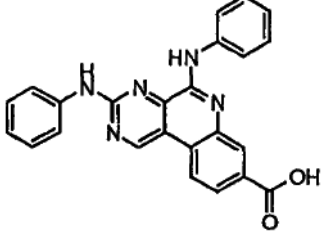
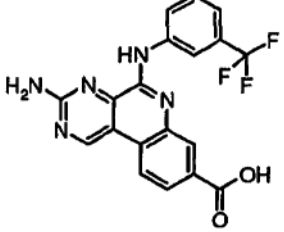
Estructura	Peso molecular	CLEM (ES) m/z
	395,41	396 [M+1] ⁺
	397,43	398 [M+1] ⁺
	413,43	414 [M+1] ⁺
	438,48	439 [M+1] ⁺
	482,53	483 [M+1] ⁺
	369,38	370 [M+1] ⁺
	405,84	406 [M+1] ⁺

Estructura	Peso molecular	CLEM (ES) m/z
	428,36	429 [M+1] ⁺
	379,80	380 [M+1] ⁺
	393,83	394 [M+1] ⁺
	365,77	366 [M+1] ⁺
	407,85	408 [M+1] ⁺
	439,39	440 [M+1] ⁺
	393,83	397 [M+1] ⁺

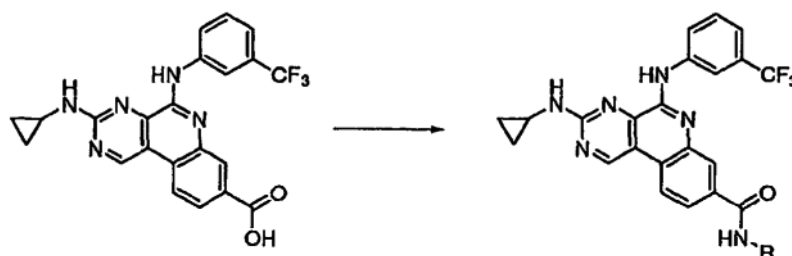
Estructura	Peso molecular	CLEM (ES) m/z
	397,79	398 [M+1] ⁺
	383,76	384 [M+1] ⁺
	423,83	424 [M+1] ⁺
	441,84	442 [M+1] ⁺
	427,46	428 [M+1] ⁺
	441,48	442 [M+1] ⁺
	455,51	456 [M+1] ⁺

Estructura	Peso molecular	CLEM (ES) m/z
	366,76	367 [M+1] ⁺
	399,40	400 [M+1] ⁺
	450,88	451 [M+1] ⁺
	436,85	437 [M+1] ⁺
	437,84	438 [M+1] ⁺
	407,37	408 [M+1] ⁺

Estructura	Peso molecular	CLEM (ES) m/z
	389,38	390 [M+1] ⁺
	401,42	402 [M+1] ⁺
	454,88	455 [M+1] ⁺
	474,87	475 [M+1] ⁺
	471,87	472 [M+1] ⁺
	463,85	464 [M+1] ⁺

Estructura	Peso molecular	CLEM (ES) m/z
	474,87	475 [M+1] ⁺
	474,87	475 [M+1] ⁺
	407,42	408 [M+1] ⁺
	399,33	400 [M+1] ⁺

Proceso 15



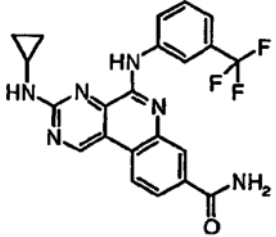
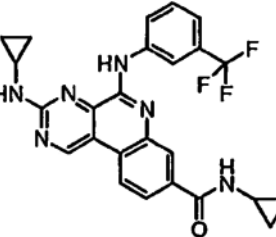
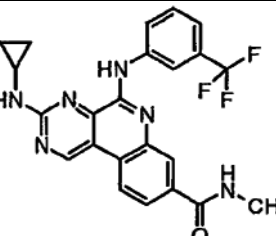
5

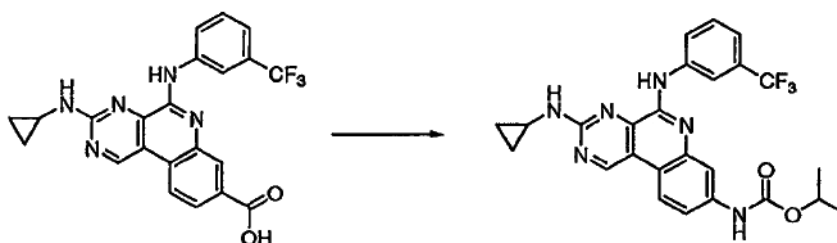
Se mezcló ácido 3-(ciclopropilamino)-5-(3-(trifluorometil)fenilamino)pirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxílico (20 mg) con 2 equivalentes de una amina primaria apropiada en NMP (0,5 ml). Se añadieron HOBt (14 mg), trietilamina (13 µl) y EDCI (18 mg) y la mezcla se agitó a 70°C durante una hora, se añadieron agua y HCl y el material se aisló mediante filtración. Este protocolo se usó para preparar los compuestos mostrados en la tabla 1D.

10

Tabla 1D

Estructura	PM	CLEM (ES) m/z
------------	----	---------------

	438,41	439 [M+1] ⁺
	478,47	479 [M+1] ⁺
	452,43	453 [M+1] ⁺

Proceso 16

5

El ácido 3-(ciclopropilamino)-5-(3-(trifluorometil)fenilamino)pirimido[4,5-c]quinolin-8-carboxílico (100 mg, 0,23 mmoles) se hizo reaccionar con difenilfosforil azida (50 μ l, 0,23 mmoles) y trietilamina (34 μ l, 0,23 mmoles) en isopropanol (8 ml). La mezcla se agitó a 95°C durante 3 horas. Los solventes se eliminaron y el residuo se repartió entre agua y etilacetato. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y los solventes se eliminaron al vacío. La adición de CH₂Cl₂ inducía la formación de un sólido que se eliminó por filtración y se secó para obtener isopropil 3-(ciclopropilamino)-5-(3-(trifluorometil)fenilamino)pirimido[4,5-c]quinolin-8-ilcarbamato. CLEM (ES): 90% puro, m/z 497 [M+1]⁺.

Ejemplo 4

15

Modulación de la actividad CK2 y PARP en ensayos *in vitro* libres de células

La actividad moduladora de los compuestos descritos en este documento se evaluó *in vitro* en ensayos CK2 libres de células. La actividad moduladora de los compuestos descritos en este documento se evaluó *in vitro* en ensayos PARP libres de células. Estos ensayos se describen a continuación.

Ensayo de CK2

Los compuestos de ensayo en solución acuosa se añadieron, en un volumen de 10 microlitros, a una mezcla de reacción que contenía 10 microlitros de tampón de dilución del ensayo (TDE; MOPS 20mM, pH 7,2, beta-glicerolfosfato 25 mM, EGTA 5 mM, ortovanadato sódico 1 mM y ditiotreitolo 1 mM), 10 microlitros de péptido sustrato (RRRDDDDSDDD, disuelto en TDE a una concentración de 1 mM), 10 microlitros de CK2 humana recombinante (25 ng disueltos en TDE; Upstate). Las reacciones se iniciaron mediante la adición de 10 microlitros de solución de

ATP (90% $MgCl_2$ 75 mM, 75 micromolar de ATP disuelto en ADB; 10% $[\gamma\text{-}^{33}P]ATP$ (solución madre de 1 mCi/100 μ l; 3000 Ci/mmol (Perkin Elmer) y se mantuvieron durante 10 minutos a 30 grados centígrados. Las reacciones se detuvieron con 100 microlitros de ácido fosfórico al 0,75 %, a continuación se transfirió y filtró a través de una placa de filtración de fosfocelulosa (Millipore). Tras lavar cada pocillo 5 veces con ácido fosfórico al 0,75%, la placa se secó al vacío durante 5 minutos y, tras la adición de 15 μ l de líquido de centelleo a cada pocillo, se midió la radioactividad residual usando un contador de luminiscencia Wallac.

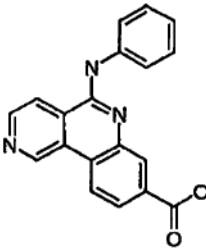
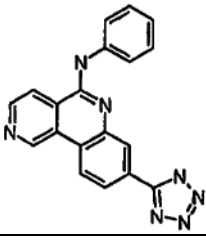
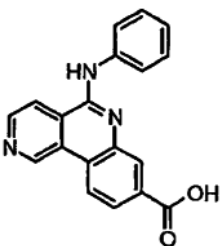
Ensayo de PARP

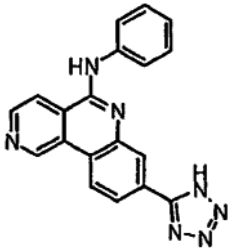
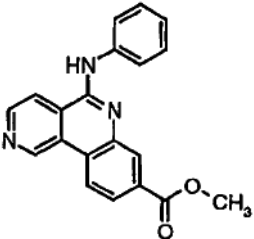
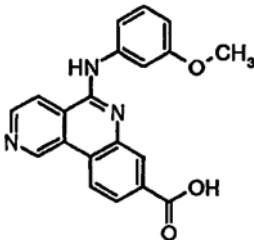
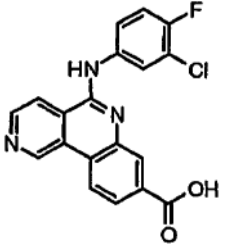
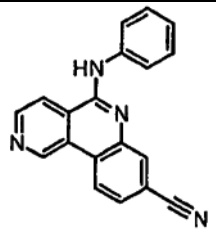
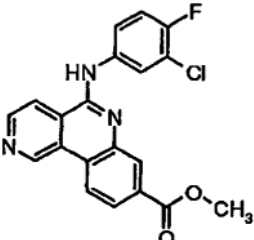
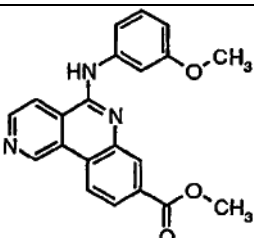
- 10 Los ensayos de PARP se realizaron usando un kit de ensayo de quimioluminiscencia para PARP (Trevigen). Brevemente, las reacciones se realizaron en tiras de pocillos recubiertos de histona, añadiendo 10 microlitros de compuesto del ensayo disuelto en tampón PARP 1X (preparado mezclando tampón PARP 20X diluido con agua de alta pureza) y 15 microlitros de enzima PARP-HSA diluida (diluida en tampón PARP 1X, 0,1 unidad por pocillo) a 25 microlitros de mezcla de PARP (preparada a partir de mezcla de PARP 10X y ADN activado 10X, ambos 2,5 microlitros por pocillos y 20 microlitros por pocillo de tampón PARP 1X). Las reacciones se incubaron a temperatura ambiente durante 60 minutos, a continuación, se eliminó el líquido. Tras lavar los pocillos cuatro veces con PBS (200 μ l), se añadieron 50 microlitros de solución STREP-HRP (peroxidasa de rábano picante, diluida 500 veces en diluyente Strep 1X) y las reacciones se dejaron incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente. El líquido se eliminó y, tras lavar los pocillos cuatro veces con PBS (200 μ l), se añadieron 50 microlitros de cada uno de los siguientes: PeroxyGlo A y B (sustratos quimioluminiscentes de la peroxidasa de rábano picante) y la quimioluminiscencia resultante se cuantificó en un lector de placas SpectraMax M5.

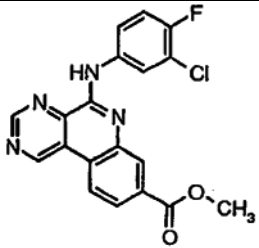
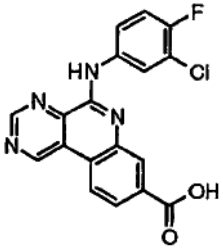
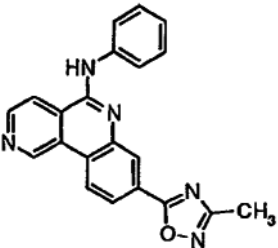
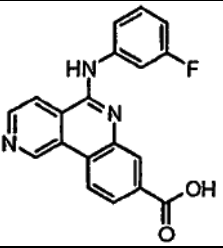
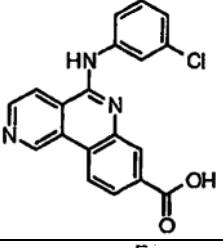
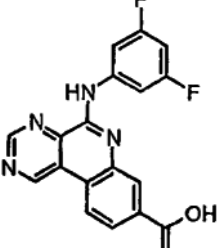
En las tablas 10 a 15 se muestran los efectos moduladores de los compuestos sobre la actividad CK2

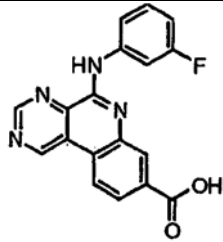
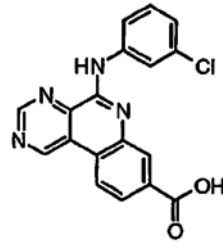
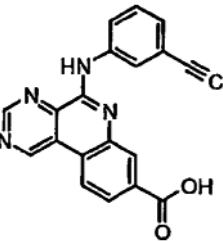
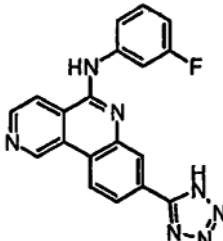
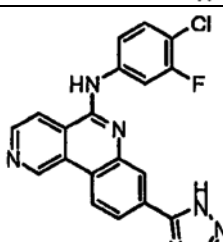
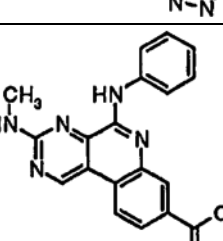
25

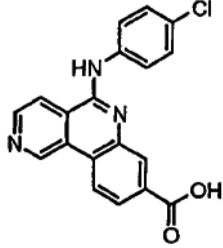
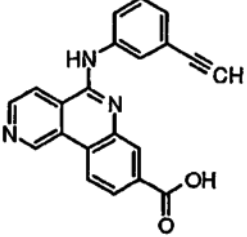
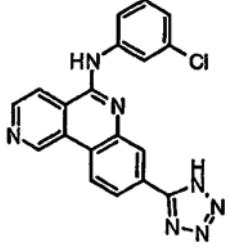
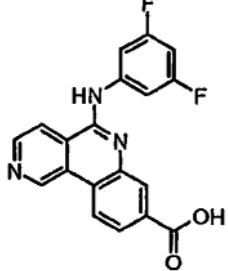
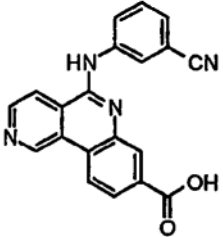
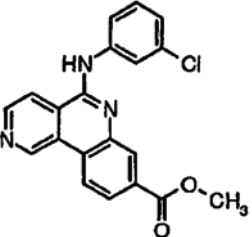
Tabla 10

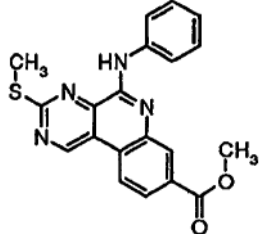
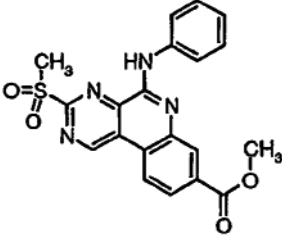
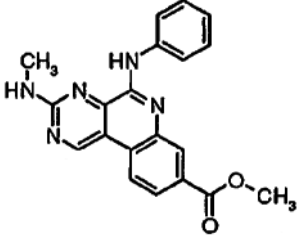
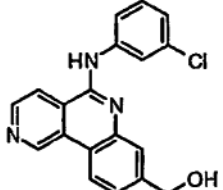
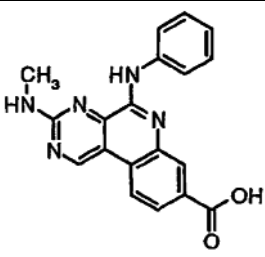
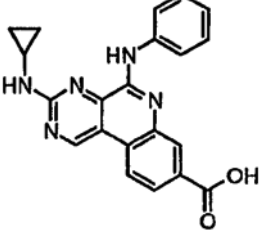
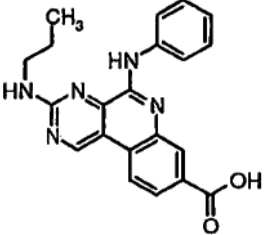
Compuesto	Inhibición de CK2	Inhibición de PARP
	$CI_{50} = 0,013 \mu M$	
	78% (a 1 μM)	
Estructura	CK2: CI_{50} (μM) (15 μM ATP)	CK2: CI_{50} (μM) (20 μM ATP)
	0,006	0,01

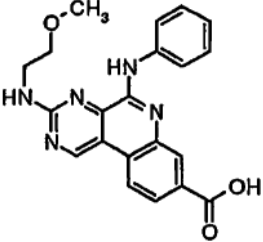
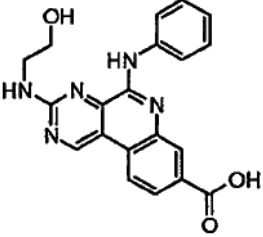
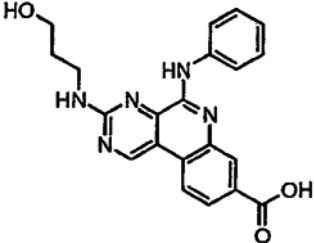
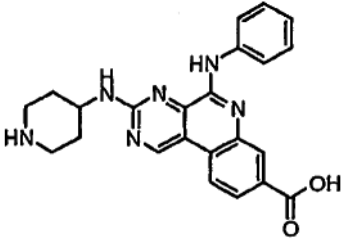
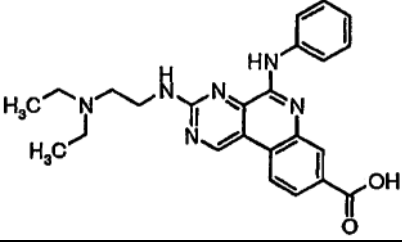
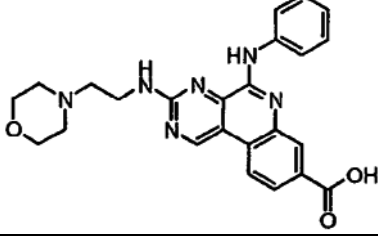
	0,07	0,06
	0,113	0,2
	0,004	0,007
	0,004	0,006
		
	1,469	1,661
	25	

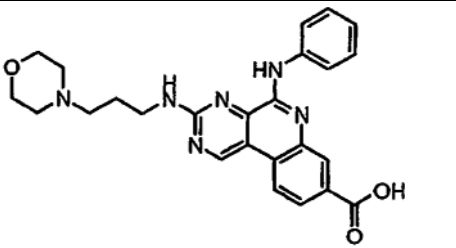
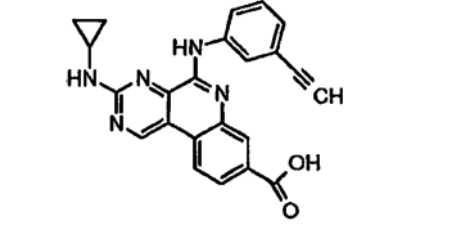
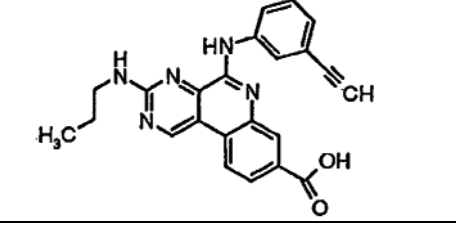
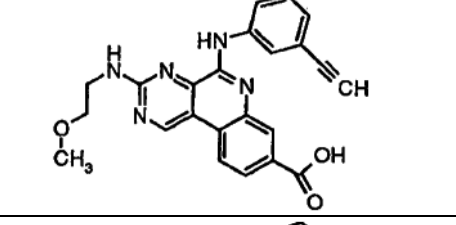
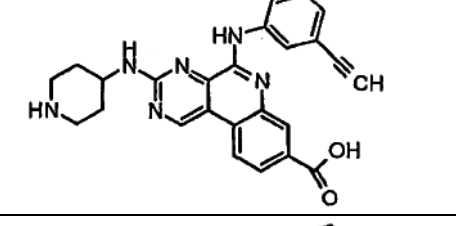
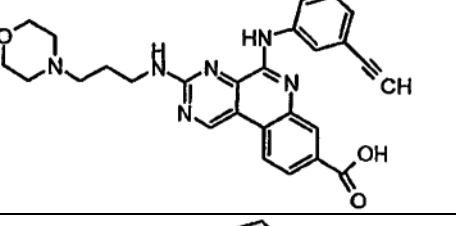
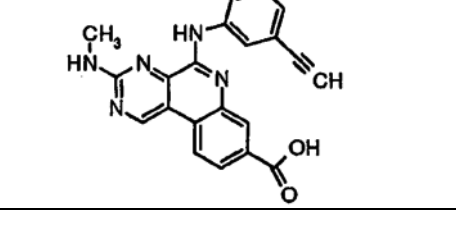
		
	0,01	
		
	0,005	
	0,002	
	0,006	

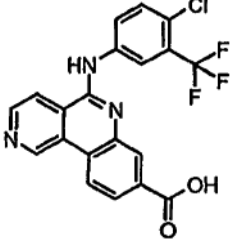
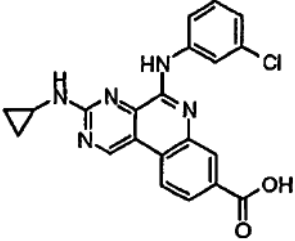
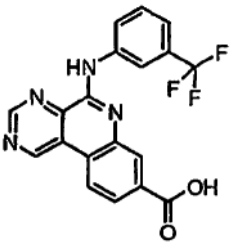
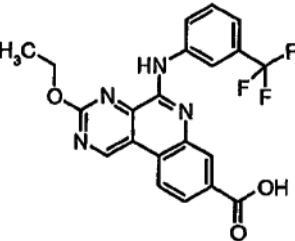
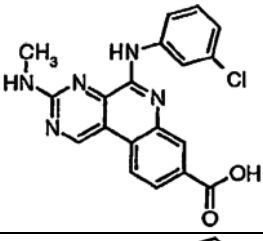
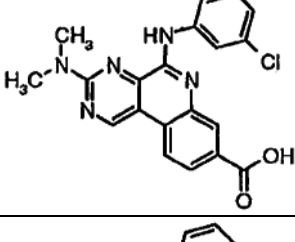
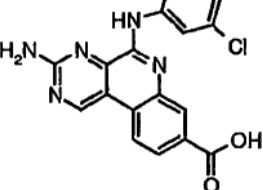
 <chem>O=C(O)c1ccc2c(c1)c3ncnc3n2Nc4ccc(F)cc4</chem>	0,006	
 <chem>O=C(O)c1ccc2c(c1)c3ncnc3n2Nc4ccc(Cl)cc4</chem>	0,007	
 <chem>O=C(O)c1ccc2c(c1)c3ncnc3n2Nc4ccc(C#C)cc4</chem>	0,006	
 <chem>C1=CN2C(=N1)N=CN=C2Nc3ccc(F)cc3C4=NN=NN4</chem>	0,047	
 <chem>C1=CN2C(=N1)N=CN=C2Nc3cc(Cl)c(F)cc3C4=NN=NN4</chem>	0,052	
 <chem>CC(=N)Nc1c2c(c3c1cnc3)C(=O)O2Nc4ccccc4</chem>	0,019	

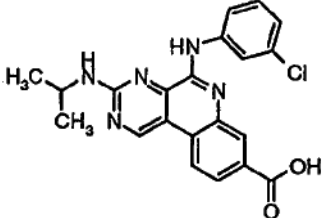
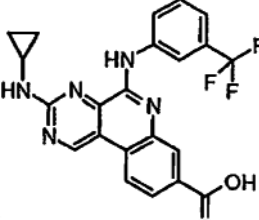
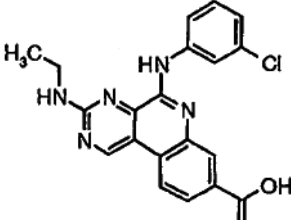
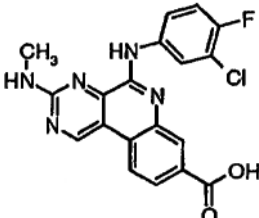
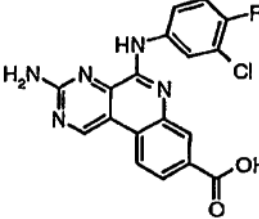
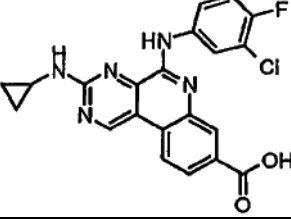
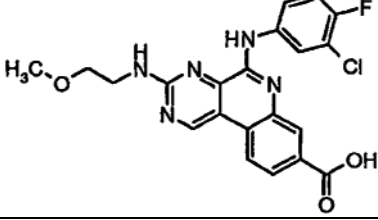
 <chem>O=C(O)c1ccc2nc3c(ncn3)c4ccc(Cl)cc42</chem>	0,007	
 <chem>O=C(O)c1ccc2nc3c(ncn3)c4cc(C#C)cc42</chem>	0,003	
 <chem>C1=NN=C1c2ccc3nc4c(ncn4)c5ccc(Cl)c(Cl)c53</chem>	0,045	
 <chem>O=C(O)c1ccc2nc3c(ncn3)c4cc(F)c(F)c42</chem>	0,005	
 <chem>O=C(O)c1ccc2nc3c(ncn3)c4cc(C#N)cc42</chem>	0,004	
 <chem>COC(=O)c1ccc2nc3c(ncn3)c4cc(Cl)cc42</chem>	> 0,5	

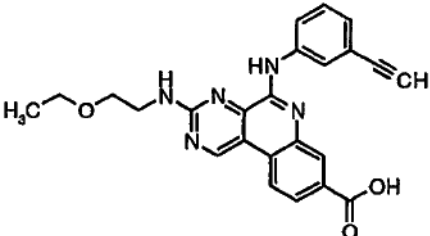
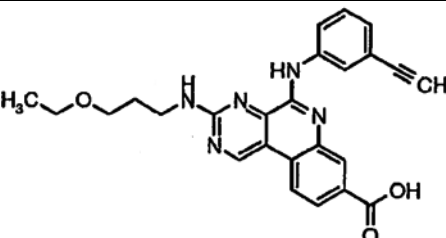
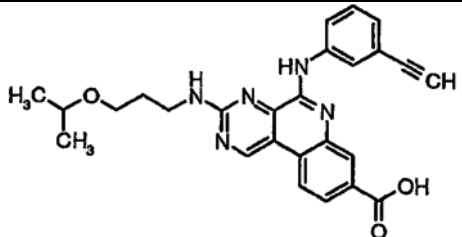
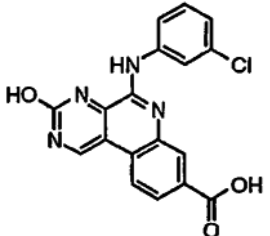
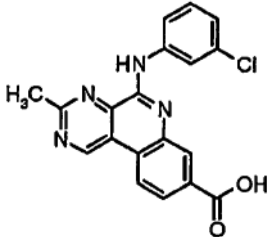
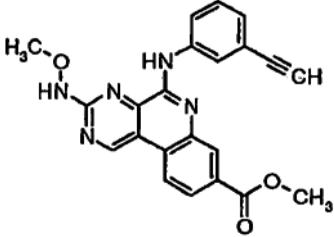
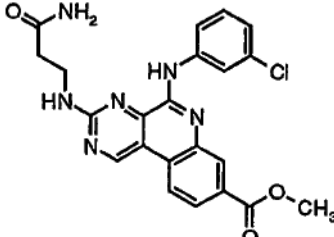
	> 0,5	
	> 0,5	
	> 0,5	
	0,711	
	0,018	
	0,027	
	0,051	

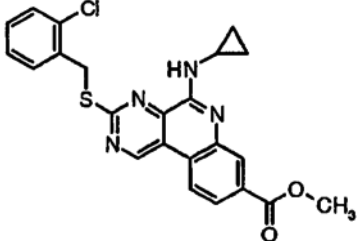
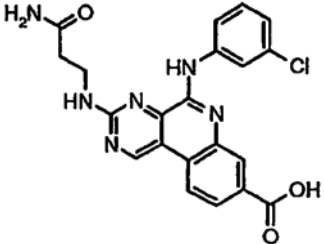
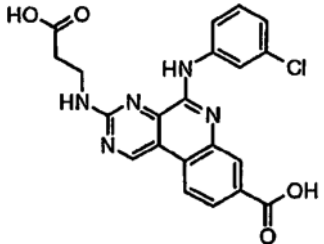
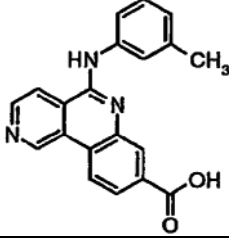
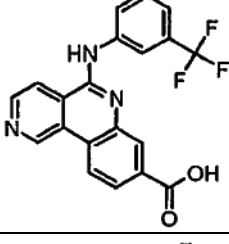
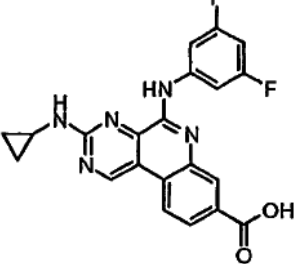
	0,069	
	0,02	
	0,026	
	0,056	
	0,163	
	0,107	

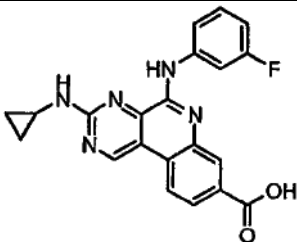
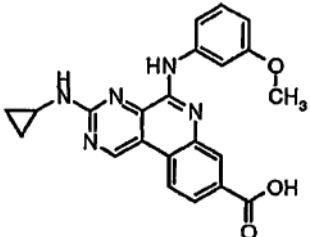
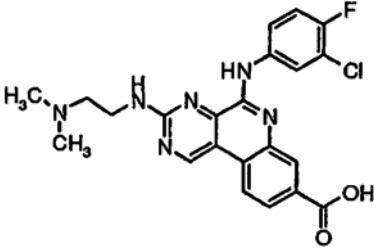
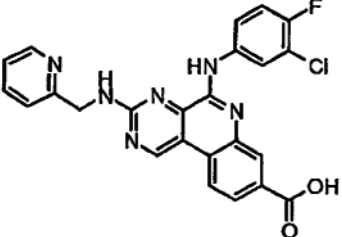
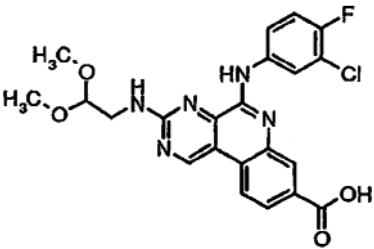
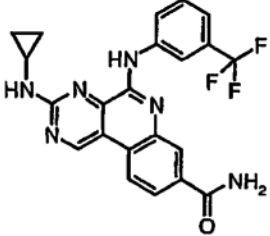
	0,089	
	0,046	
	0,06	
	0,04	
	0,144	
	0,25	
	0,009	

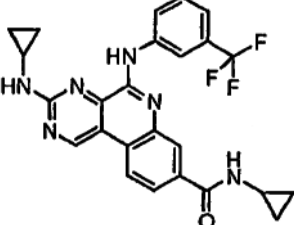
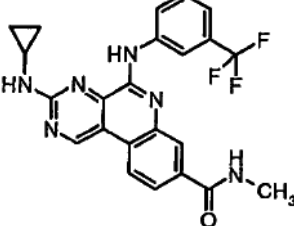
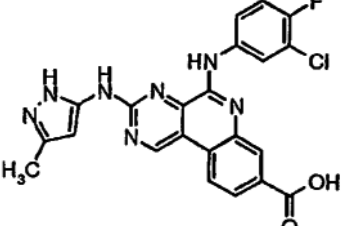
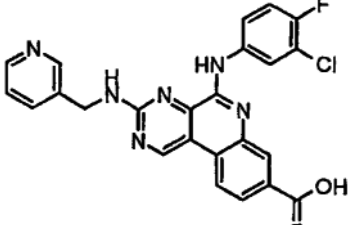
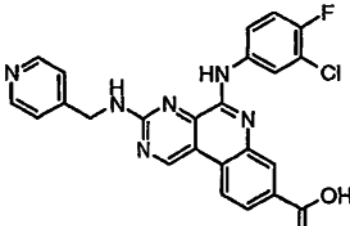
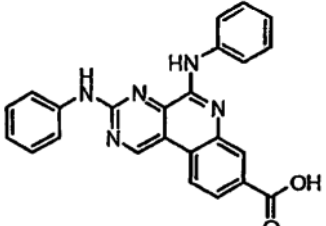
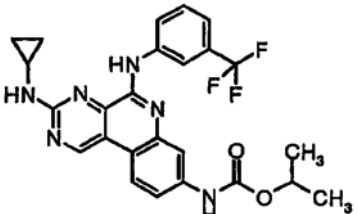
	0,018	
	0,013	
	0,011	
	> 0,75	
	0,018	
	> 0,75	
	0,004	

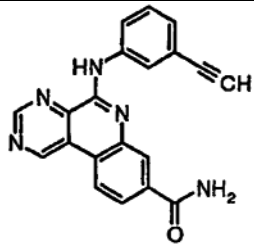
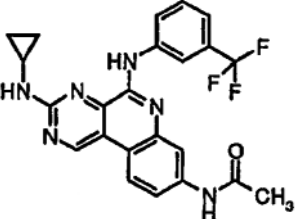
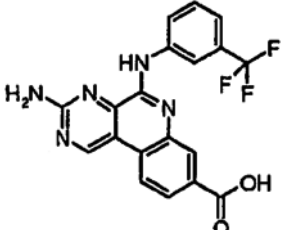
 <chem>CC(C)CNC1=NC2=C(N1)C(=O)C=C(C2)C3=CC=C(C=C3)N</chem>	0,134	
 <chem>C1CC1NC2=NC3=C(N2)C(=O)C=C(C3)C4=CC=C(C=C4)C(F)(F)F</chem>	0,009	
 <chem>CCNC1=NC2=C(N1)C(=O)C=C(C2)C3=CC=C(C=C3)N</chem>	0,03	
 <chem>CNC1=NC2=C(N1)C(=O)C=C(C2)C3=CC=C(C=C3)N</chem>	0,02	
 <chem>N1=NC2=C(N1)C(=O)C=C(C2)C3=CC=C(C=C3)N</chem>	0,007	
 <chem>C1CC1NC2=NC3=C(N2)C(=O)C=C(C3)C4=CC=C(C=C4)N</chem>	0,083	
 <chem>COCOCCNC1=NC2=C(N1)C(=O)C=C(C2)C3=CC=C(C=C3)N</chem>	0,052	

	0,171	
	0,107	
	0,349	
	0,214	
	0,172	
	> 0,75	
	> 0,75	

	> 0,75	
	0,028	
	0,021	
	0,006	
	0,011	
	0,102	

	0,086	
	0,134	
	0,168	
	0,356	
	0,103	
	> 0,75	

	> 0,75	
	> 0,75	
	0,513	
	0,027	
		
	0,185	
	> 0,75	

	0,087	
	> 0,75	
	0,014	

Ejemplo 5

Actividad moduladora de la proliferación celular

5

A continuación se describe un protocolo de ensayo de proliferación celular representativo usando colorante azul de Alamar (conservado a 4°C, usando 20 µl por pocillo).

Disposición de las placas de 96 pocillos y tratamiento con el compuesto

10

a. Separar las células y tratarlas con tripsina

b. Contar el número de células usando hemocitómetro.

15

c. Disponer 4000-5000 células por pocillo en 100 µl de medio y sembrar en una placa de 96 pocillos según la siguiente disposición de la placa. Añadir medio de cultivo celular sólo a los pocillos B10 a B12. Los pocillos B1 a B9 contienen células pero no se añade el compuesto.

ES 2 528 316 T3

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	VACÍOS											
B	NO SE AÑADE COMPUESTO									Medio		
										Solo		
C	10nM		100nM			1uM		10uM		Control		
D	10nM		100nM			1uM		10uM		Comp1		
E	10nM		100nM			1uM		10uM		Comp2		
F	10nM		100nM			1uM		10uM		Comp3		
G	10nM		100nM			1uM		10uM		Comp4		
H	VACÍOS											

d. Añadir 100 µl de dilución del fármaco 2X a cada pocillo en la concentración mostrada en la disposición de la placa anterior. Al mismo tiempo, añadir 100 µl de medio en los pocillos control (pocillos B10 a B12). El volumen total es de 200 µl/pocillo

e. Incubar durante cuatro (4) días a 37°C, en CO₂ al 5% en un incubador humidificado.

f. Añadir 20µl de reactivo azul de Alamar a cada pocillo.

10

g. Incubar durante cuatro (4) horas a 37°C, en CO₂ al 5% en un incubador humidificado.

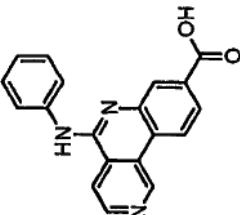
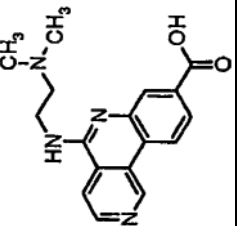
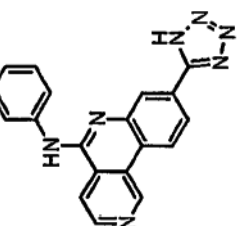
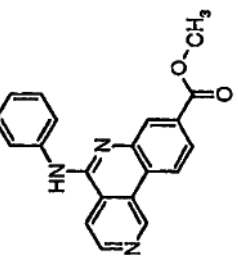
h. Registrar la fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 544 nm y a una longitud de onda de emisión de 590 nm usando un lector de microplacas.

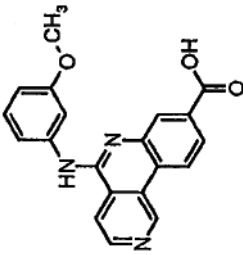
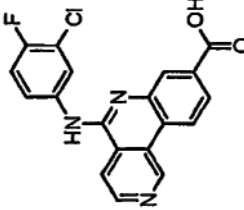
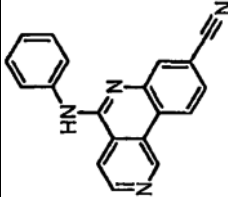
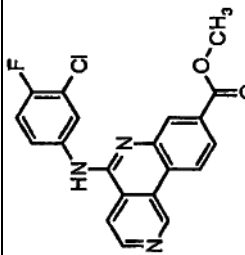
15

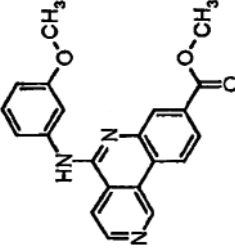
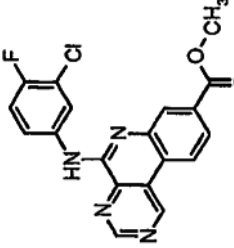
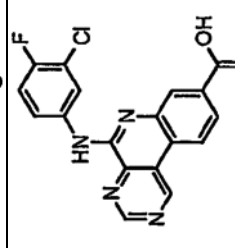
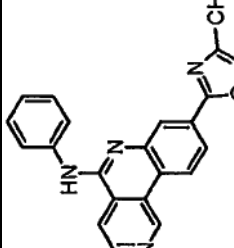
En los ensayos, las células se cultivan con un compuesto del ensayo durante aproximadamente cuatro días, a continuación, el colorante se añade a las células y se detecta la fluorescencia del colorante no reducido después de cuatro horas aproximadamente. Pueden utilizarse diferentes tipo de células en los ensayos (p. ej., células de carcinoma humano colorrectal HCT-116, células de cáncer de próstata humano PC-3 y células de carcinoma pancreático MiaPaca). A continuación se proporcionan los efectos antiproliferativos de compuestos representativos.

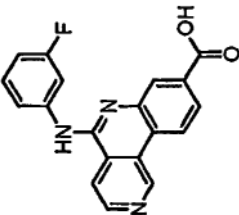
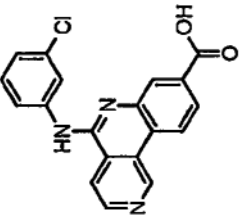
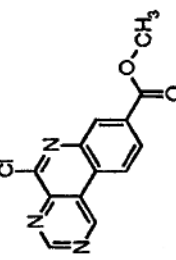
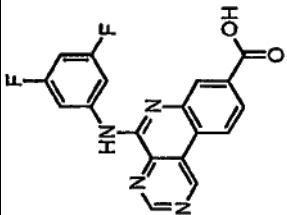
20

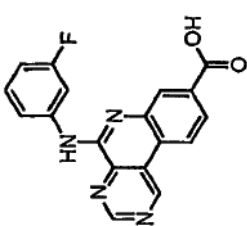
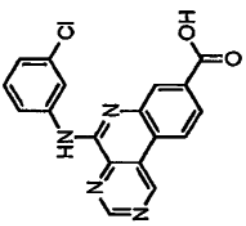
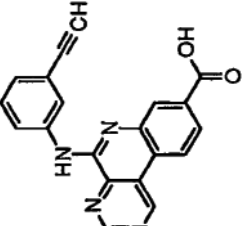
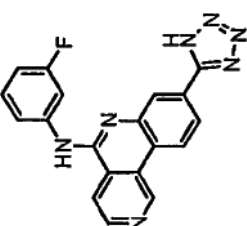
Tabla 18

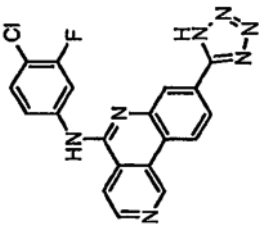
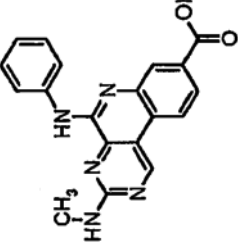
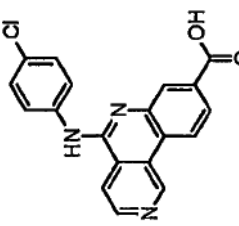
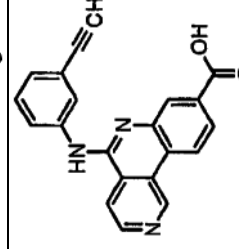
Estructura	CI50 (μM) A375	CI50 (μM) HCT-116	CI50 (μM) MiaPaCa	CI50 (μM) H1299	CI50 (μM) PC3	CI50 (μM) Jurkat	CI50 (μM) Hs578T
	18,36	13,29	7,51	6,84	15,43	23,67	14,86
	> 10	> 10		3,80	17,89	23,79	12,90
	> 10	> 10					
		15,00		13,07	11,26	6,83	4,78

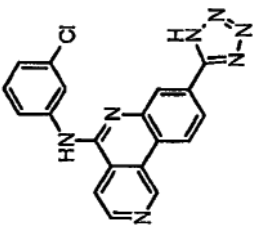
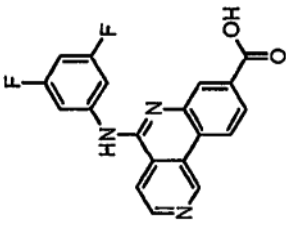
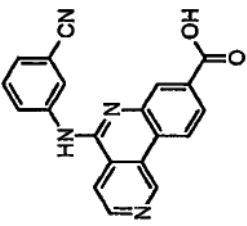
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	> 10	> 10	10,73	17,39	6,52	12,90
	3,21	4,34	3,06	3,08	4,86	2,68	3,31
	6,90						
	3,94			8,46	9,02	4,25	2,62

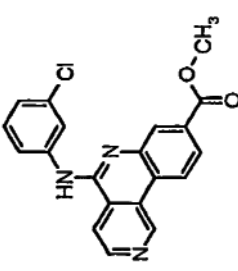
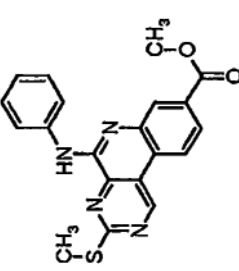
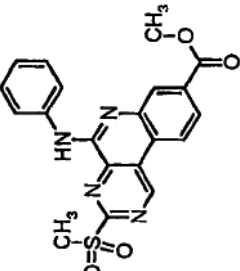
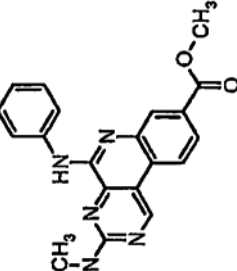
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	15,00		7,16	11,30	3,40		1,82
	> 10		15,40	15,85	20,26		3,70
	> 10		7,55	18,76	4,29		9,70
	> 10						

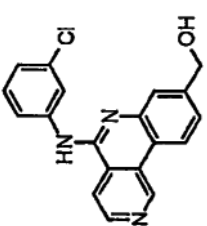
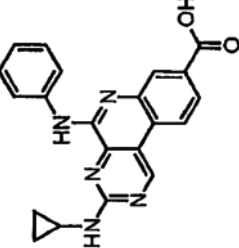
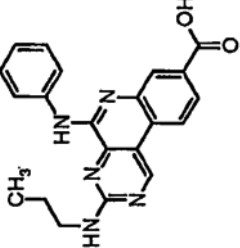
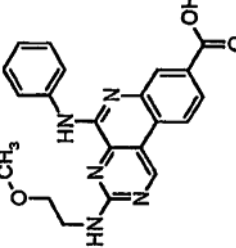
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
			6,86	8,32	9,23	3,19	5,89
	3,95	4,02	2,74	3,08	1,51	2,37	0,67
		1,71	2,92				
	2,63	4,06	0,85	6,62	7,50	2,59	5,90

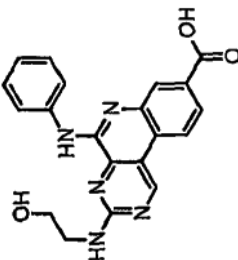
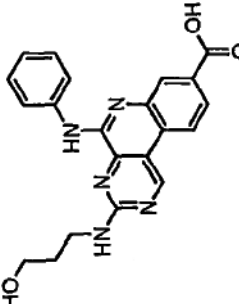
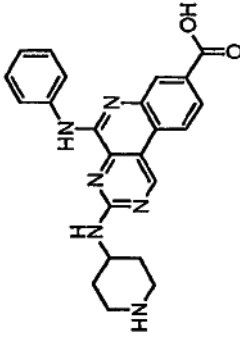
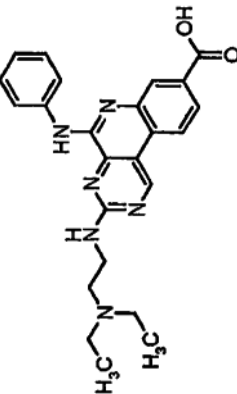
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	5,11	7,10	3,36	7,24	4,71	1,89	3,43
	5,45	7,19	2,09	3,01	9,14	0,88	11,16
	4,12	5,86	0,67	1,55	3,13	1,80	2,86
	> 10	> 10	> 10	> 50	> 50	9,43	

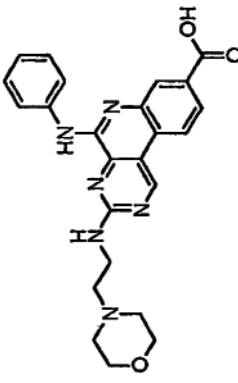
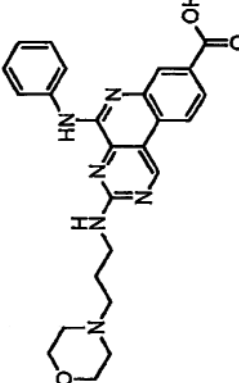
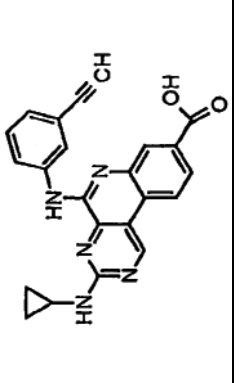
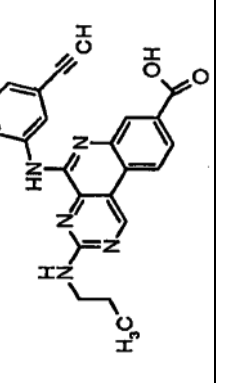
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	> 10	> 10	> 50	> 50	18,76	
	1,92	2,99	1,09	2,42	3,14	0,73	1,84
	4,80	6,72	2,70	1,94	8,63	2,53	6,64
	7,36	10,80	3,85	3,65	16,82	2,78	4,03

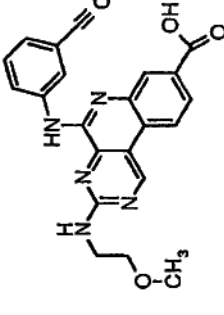
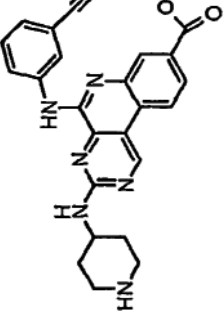
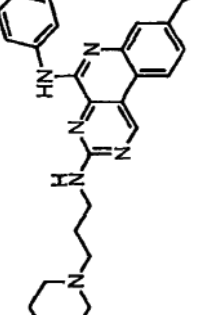
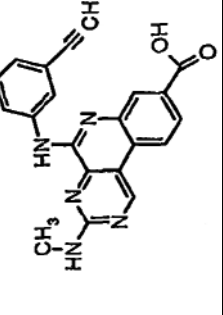
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	> 10	> 10	> 50	46,58	14,25	
	5,40	4,33	1,35	8,91	10,14	2,41	9,09
	> 10	> 10	> 10		26,38	22,00	35,59

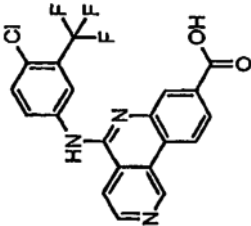
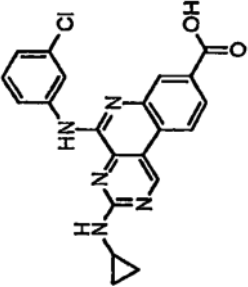
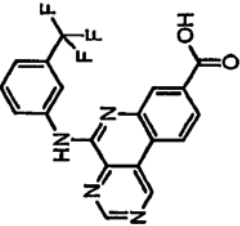
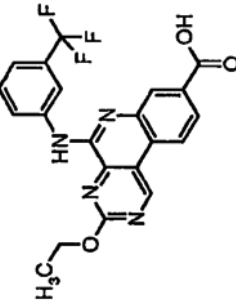
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	> 10	> 10	> 10			
	9,56	9,56	> 10	> 10			
	0,97	0,97	2,82	2,82			
	4,06	4,06	> 10	> 10			

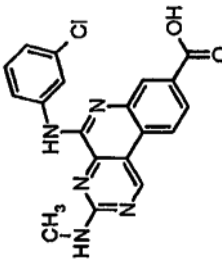
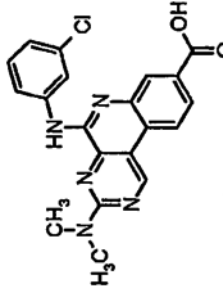
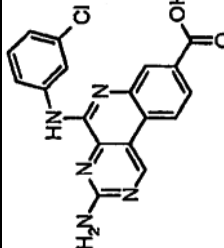
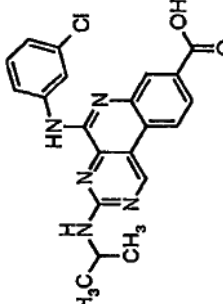
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	4,28	4,05					
	1,94	0,68			2,42		
	> 10	2,99			4,53		
	> 10	3,20			5,80		

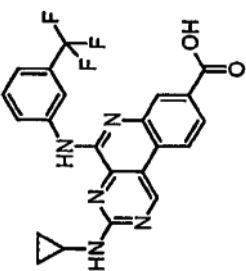
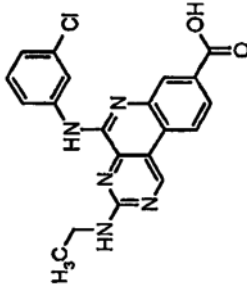
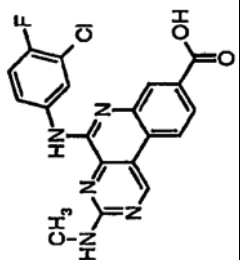
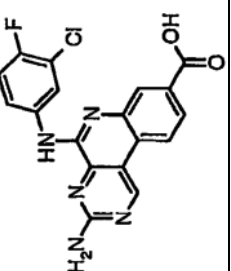
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	> 10	16,22			26,13	
	> 10	> 10	11,88			7,90	
	> 10	> 10	14,40			18,91	
	> 10	> 10	1,45			13,07	

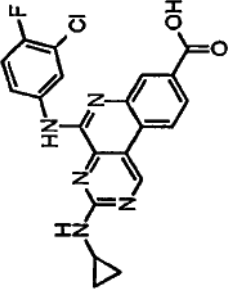
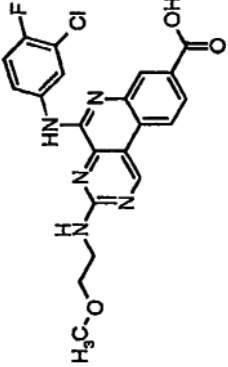
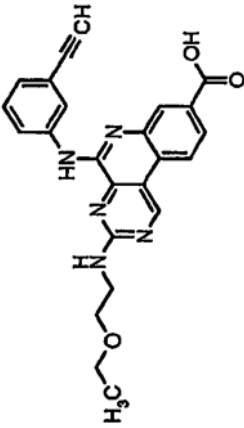
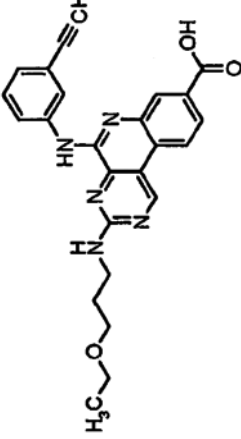
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	> 10	1,69			5,70	
	> 10	> 10	1,36			2,18	
		7,30	1,20			1,27	
		> 10	2,32			2,67	

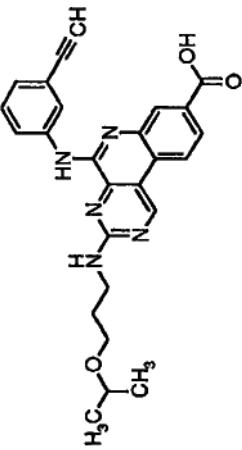
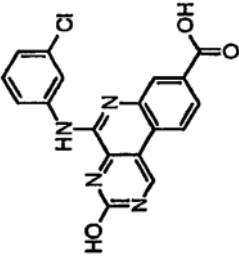
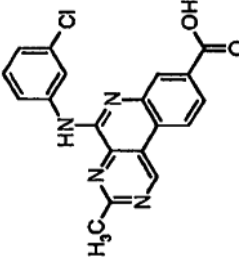
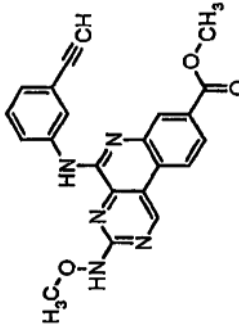
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	8,05	1,00				0,94	
	> 10	8,62				9,55	
	> 10	2,26				3,69	
	4,69	2,34				1,29	

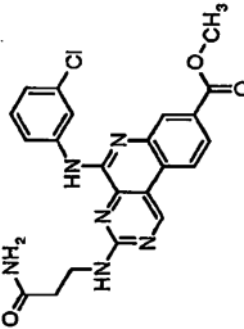
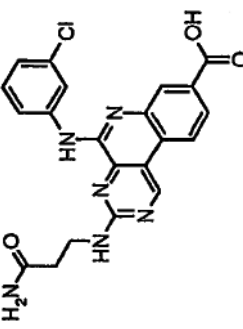
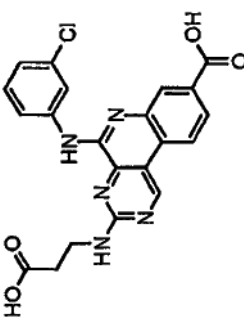
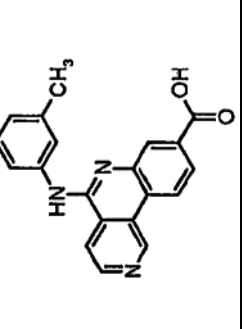
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	3,99	9,09				3,05	
	7,82	0,47				1,29	
	> 10	2,23				2,53	
	> 10	18,06				35,93	

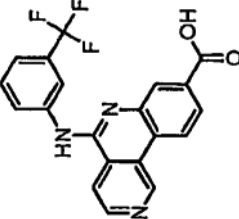
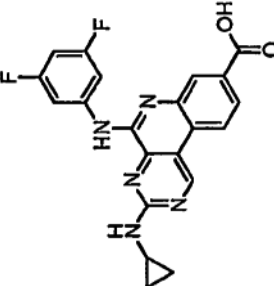
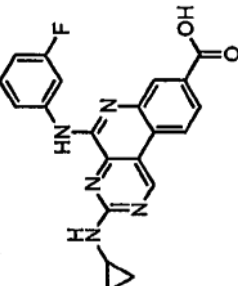
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	1,75				1,09	
	> 10	> 50				5,83	
	> 10	0,88				1,14	
	> 10	5,45				18,42	

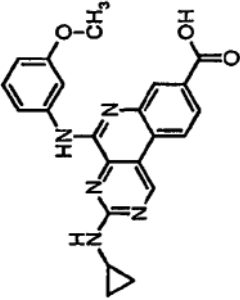
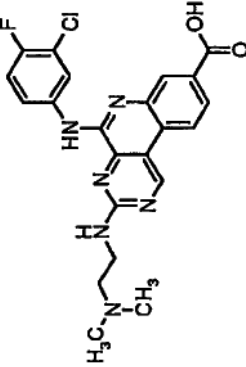
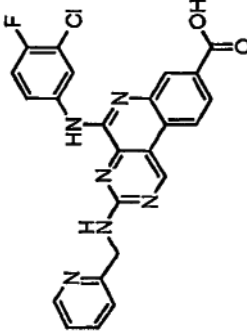
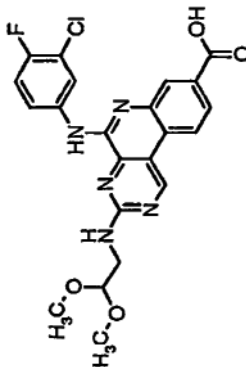
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	0,65				3,13	
	> 10	0,92				3,06	
	> 10	0,65				1,24	
	11,25	0,95				4,34	

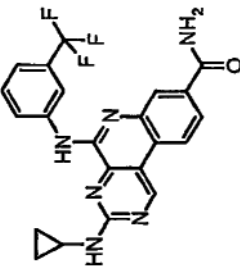
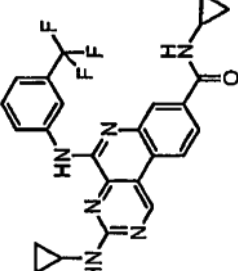
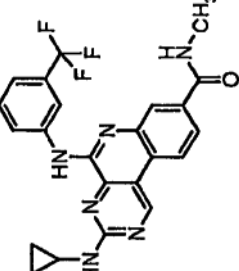
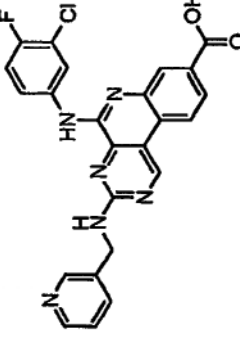
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	0,37				1,54	
	> 10	1,08				0,41	
	> 10	0,62				1,13	
	> 10	0,87				0,39	

Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	> 10	2,01			2,37	
	> 10	> 10	> 50			> 50	
	> 10	> 10	5,39			4,95	
	> 10	> 10	> 50			26,98	

Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	17,06	4,41				
	> 10	> 50	37,71				
	> 10	> 50	> 50			> 50	
	> 10	8,33	3,45				

Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	5,14	8,55	3,15				
	> 10	2,32	6,02				
	> 10	3,27	3,56				

Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	2,85	3,44				
	> 10	2,14	1,25				
	> 10	8,21	2,59				
	> 10	3,41	1,12				

Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	3,97				1,16	
	> 10					3,92	
	> 10		11,91			3,65	
	> 10		1,97			1,50	

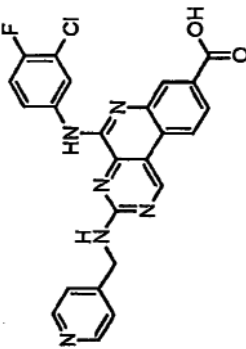
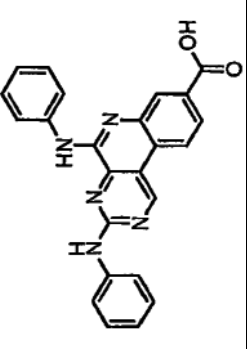
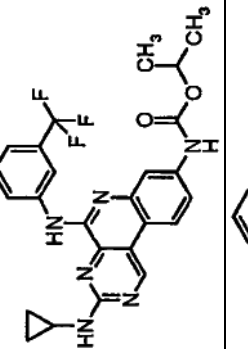
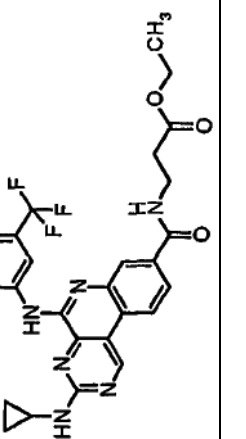
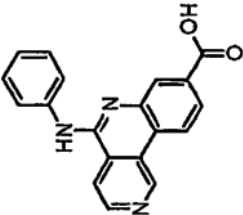
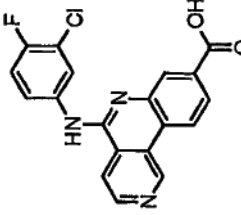
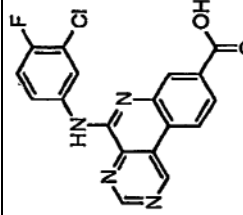
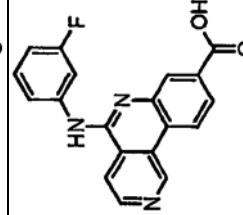
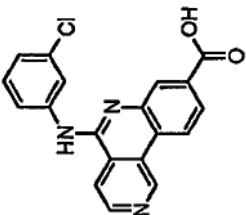
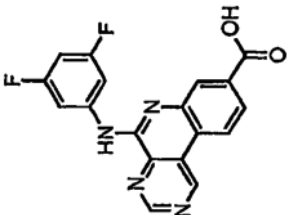
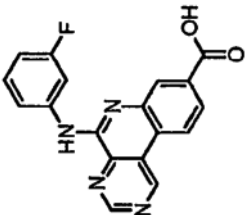
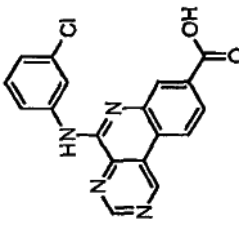
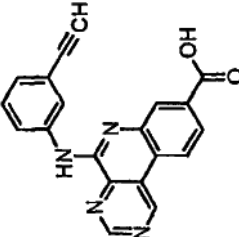
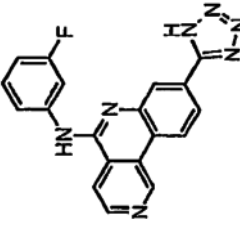
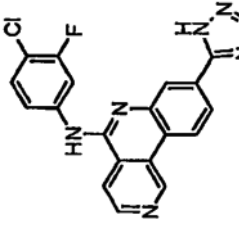
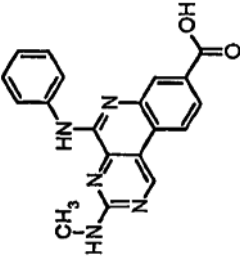
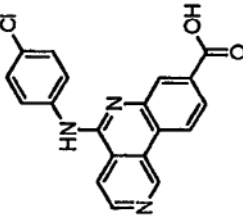
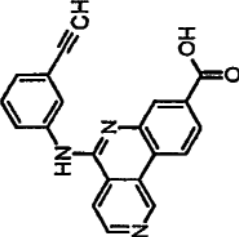
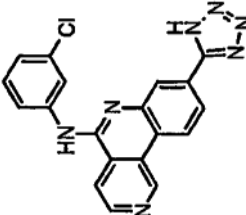
Estructura	CI50 (µM) A375	CI50 (µM) HCT-116	CI50 (µM) MiaPaCa	CI50 (µM) H1299	CI50 (µM) PC3	CI50 (µM) Jurkat	CI50 (µM) Hs578T
	> 10	> 10	4,50			5,11	
	> 10	> 10	5,12			8,98	
	> 10	> 10				1,16	
	> 10	> 10	0,33			3,75	

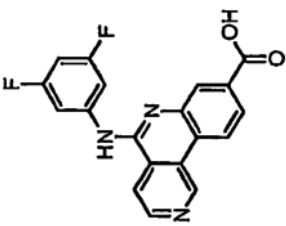
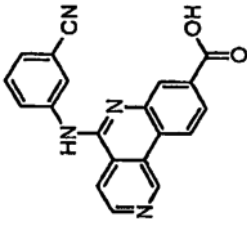
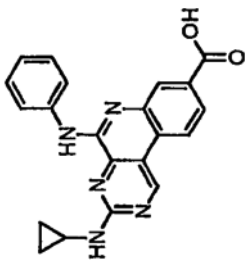
Tabla 19

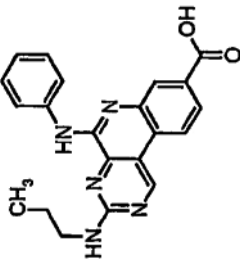
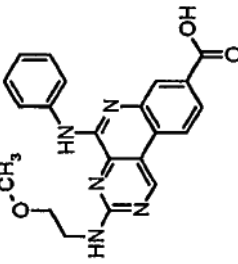
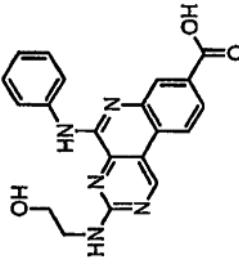
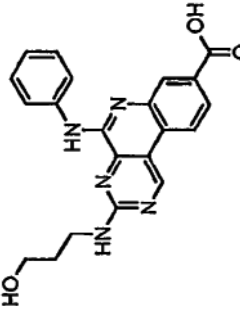
Estructura	CI50 (μM) A549	CI50 (μM) MCF-7	CI50 (μM) LNCaP	CI50 (μM) MDAMB231	CI50 (μM) Raji	CI50 (μM) HL-60	CI50 (μM) K-562
	4,16	10,79	8,18	2,66	13,70	4,86	4,01
	6,83	8,24	4,57	6,13	4,51	1,92	4,95
				1,11			
	16,65						

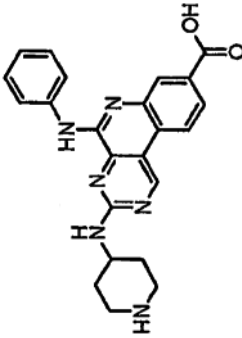
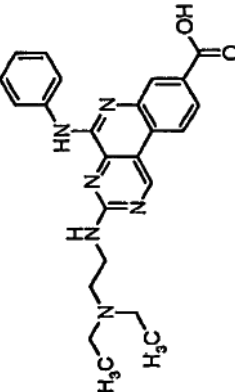
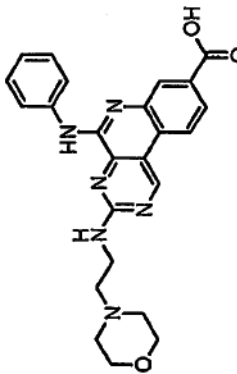
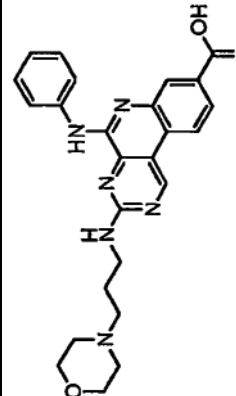
Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
	6,59	17,68	4,89	6,66	3,32	2,64	2,99
	24,58	2,02	1,83	3,10	8,47	1,85	2,41
	14,10	1,06	1,36	0,84	4,51	9,68	1,77

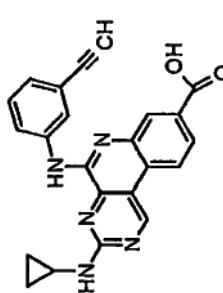
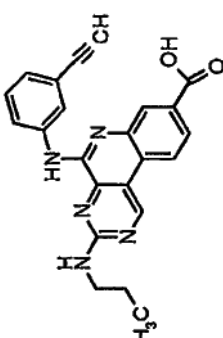
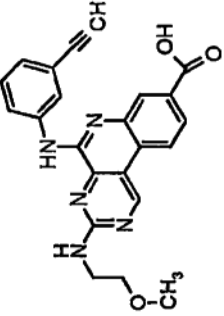
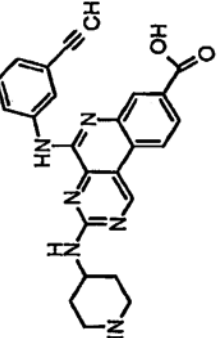
Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
	28,46	1,79	1,56	1,18	7,35	1,13	
	21,21	1,27	1,40	4,25	4,49	1,20	
	> 50	> 50	< 0,2	> 50		40,62	
	> 50	5,94	48,24	> 50		> 50	

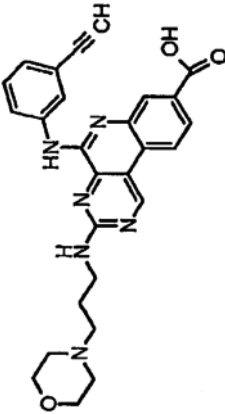
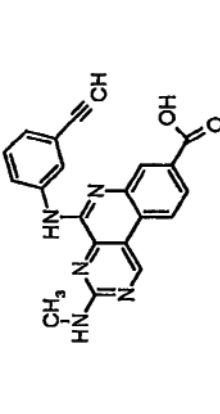
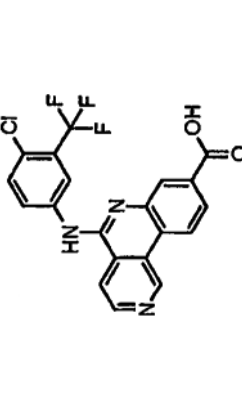
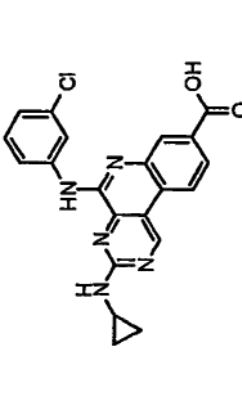
Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
	13,86	3,40	1,44	2,38	4,97	0,73	1,68
	9,74	0,76	7,39	3,79	5,46	3,74	8,65
	30,24	1,43	17,08	11,80	4,28	5,59	3,33
	> 50	> 50	37,38	> 50			31,21

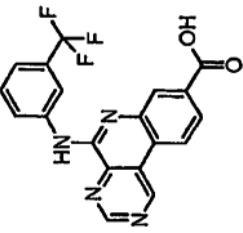
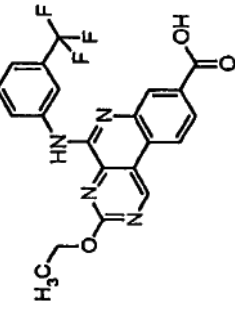
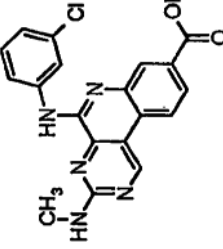
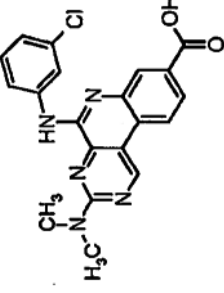
Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
 <chem>O=C(O)c1ccc2nc3c(ncn3c2)Nc4cc(F)c(F)cc4</chem>	27,37	1,89	10,76	11,04	6,35	4,81	3,26
 <chem>O=C(O)c1ccc2nc3c(ncn3c2)Nc4ccc(C#N)cc4</chem>	> 50	40,95	15,51	28,65			9,15
 <chem>O=C(O)c1ccc2nc3c(ncn3c2)Nc4ccccc4Nc5cnc6c5nnc6N7CC7</chem>				0,73			

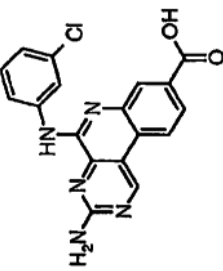
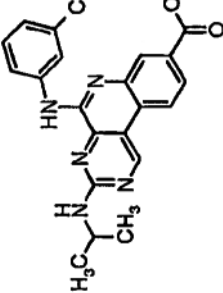
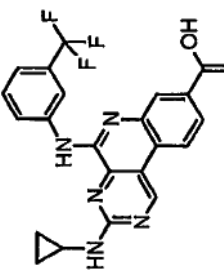
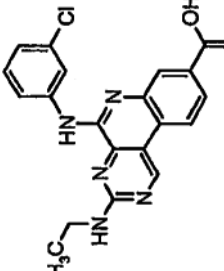
Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
				18,16			
				24,45			
				> 50			
				48,21			

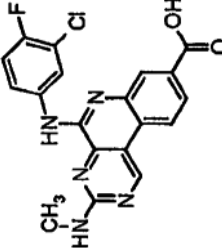
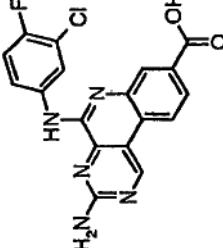
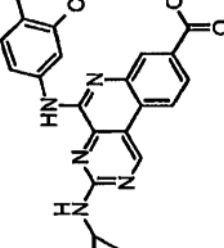
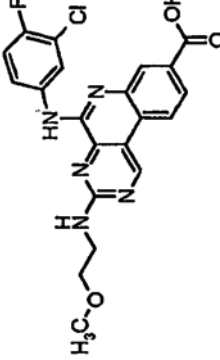
Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
				> 50			
				10,51			
				2,44			
				> 50			

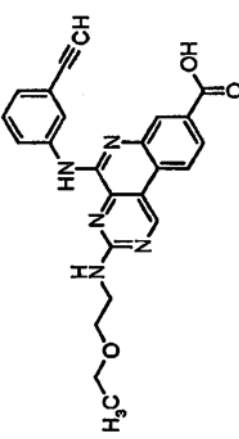
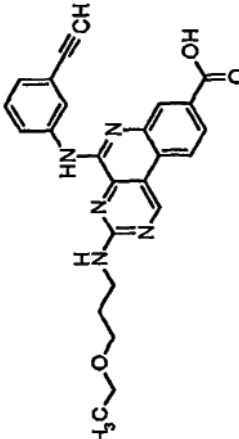
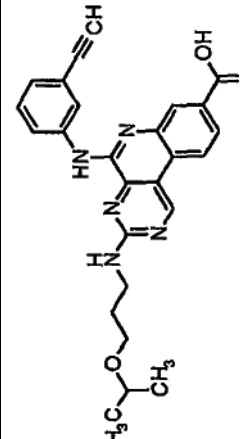
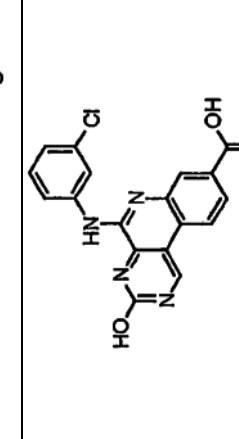
Estructura	CI50 (μM) A549	CI50 (μM) MCF-7	CI50 (μM) LNCaP	CI50 (μM) MDAMB231	CI50 (μM) Raji	CI50 (μM) HL-60	CI50 (μM) K-562
				4,90			
				10,44			
				4,74			
				> 50			

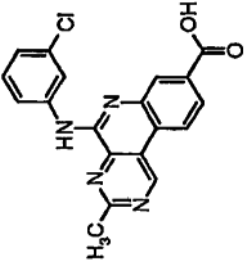
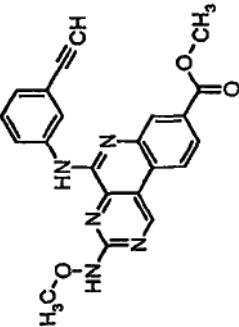
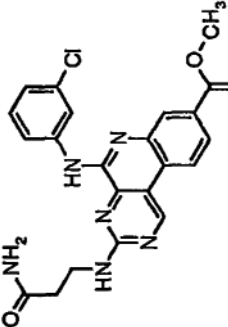
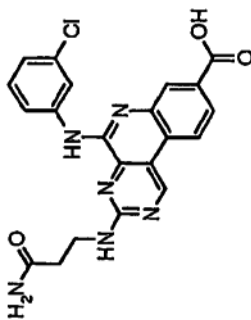
Estructura	CI50 (μM) A549	CI50 (μM) MCF-7	CI50 (μM) LNCaP	CI50 (μM) MDAMB231	CI50 (μM) Raji	CI50 (μM) HL-60	CI50 (μM) K-562
				12,45			
				5,21			
				4,43			
				3,93			

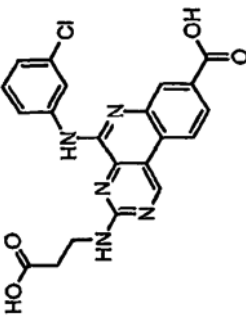
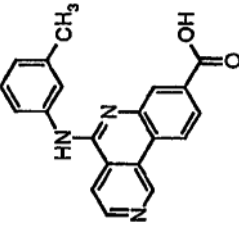
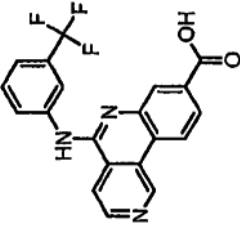
Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
				2,93			
				26,52			
				8,28			
				9,82			

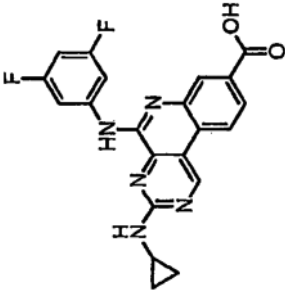
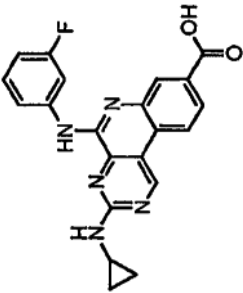
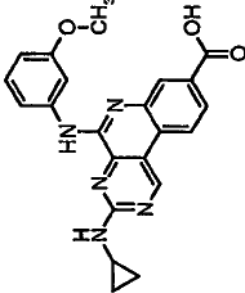
Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
				4,12			
				20,77			
				9,19			
				6,87			

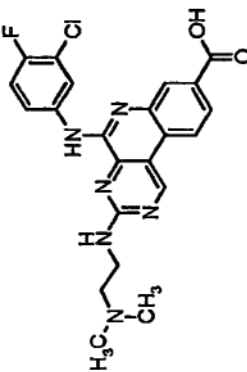
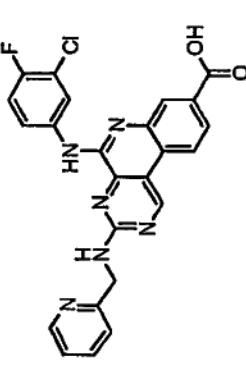
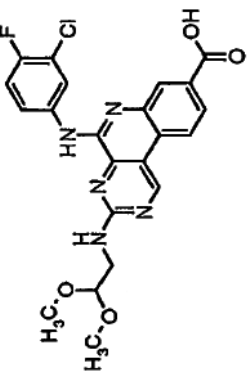
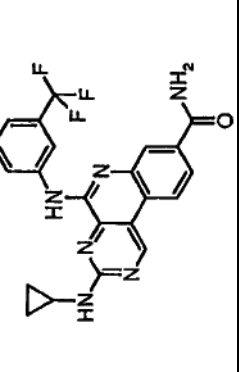
Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
				15,77			
				6,53			
				7,12			
				12,63			

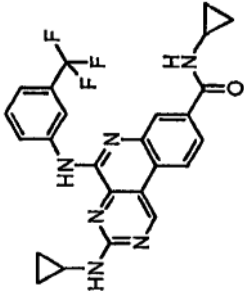
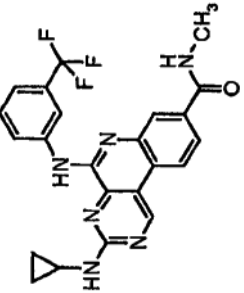
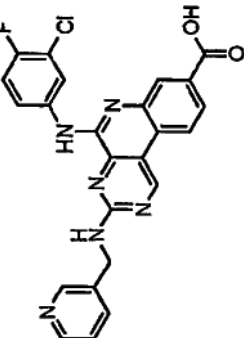
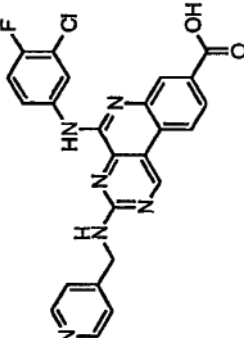
Estructura	CI50 (μM) A549	CI50 (μM) MCF-7	CI50 (μM) LNCaP	CI50 (μM) MDAMB231	CI50 (μM) Raji	CI50 (μM) HL-60	CI50 (μM) K-562
				31,58			
				5,22			
				7,05			
				> 50			

Estructura	Cl50 (µM) A549	Cl50 (µM) MCF-7	Cl50 (µM) LNCaP	Cl50 (µM) MDAMB231	Cl50 (µM) Raji	Cl50 (µM) HL-60	Cl50 (µM) K-562
				5,48			
				> 50			
				27,18			
				> 50			

CI50 (μM) A549	CI50 (μM) MCF-7	CI50 (μM) LNCaP	CI50 (μM) MDAMB231	CI50 (μM) Raji	CI50 (μM) HL-60	CI50 (μM) K-562
Estructura 			> 50			
			17,50			
			13,02			

Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
				23,04			
				12,77			
				20,11			

Estructura	CI50 (μM) A549	CI50 (μM) MCF-7	CI50 (μM) LNCaP	CI50 (μM) MDAMB231	CI50 (μM) Raji	CI50 (μM) HL-60	CI50 (μM) K-562
				> 50			
				33,72			
				25,43			
				> 50			

Estructura	CI50 (μM) A549	CI50 (μM) MCF-7	CI50 (μM) LNCaP	CI50 (μM) MDAMB231	CI50 (μM) Raji	CI50 (μM) HL-60	CI50 (μM) K-562
				39,84			
				10,47			
				5,48			
				12,11			

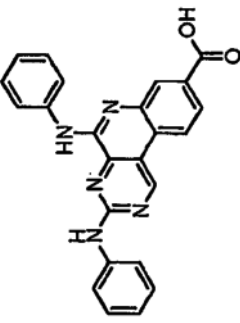
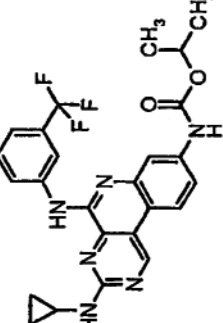
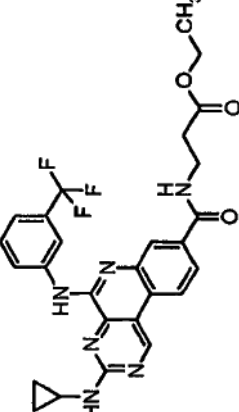
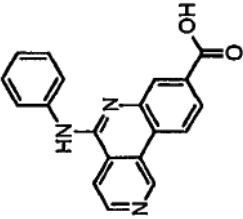
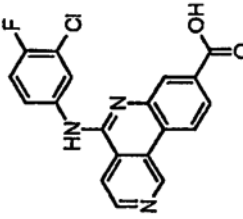
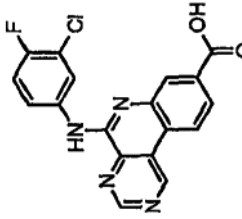
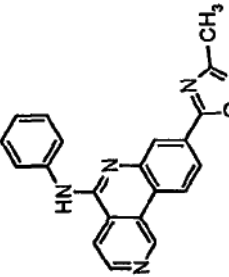
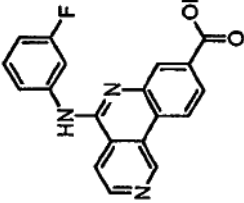
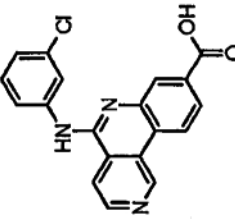
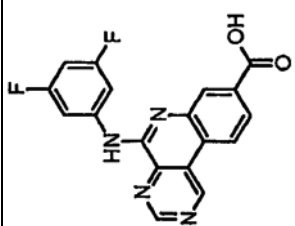
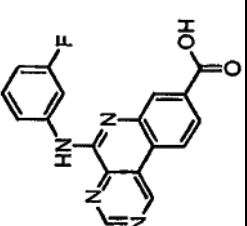
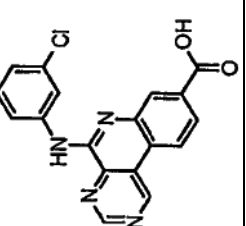
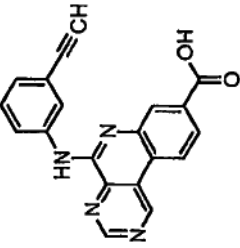
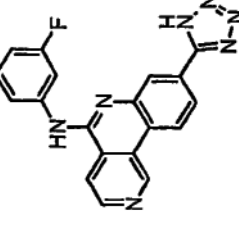
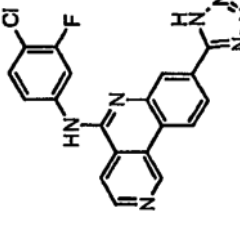
Estructura	CI50 (µM) A549	CI50 (µM) MCF-7	CI50 (µM) LNCaP	CI50 (µM) MDAMB231	CI50 (µM) Raji	CI50 (µM) HL-60	CI50 (µM) K-562
				19,23			
				4,27			
				2,52			

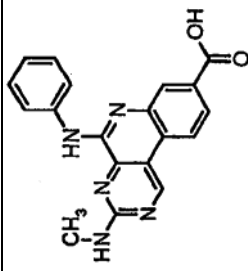
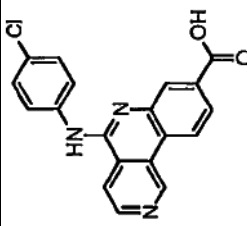
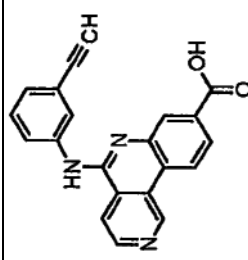
Tabla 19b

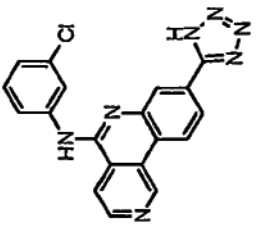
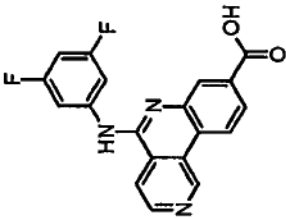
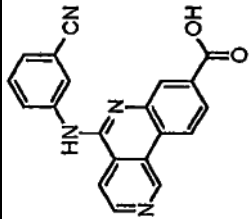
Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM) 10A	MCF-CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	10,85	8,92	> 50	20,65	3,84	37,52			
	1,50	2,20	1,84	7,33		8,69			
	3,55		3,37						

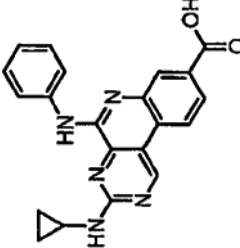
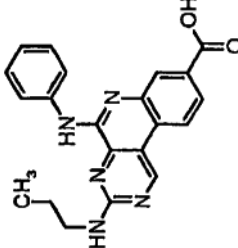
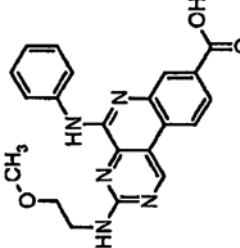
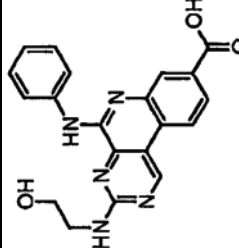
Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM) 10A	MCF-CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
									
							12,78		
	2,75	1,96	17,81	9,03	0,53	10,26	1,56	10,46	

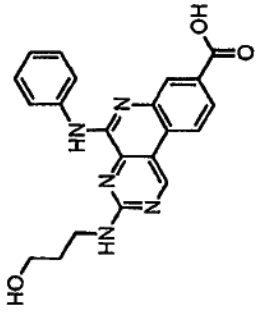
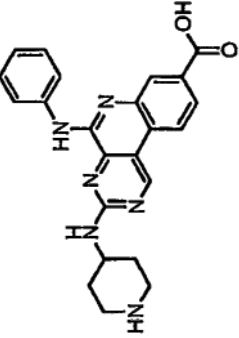
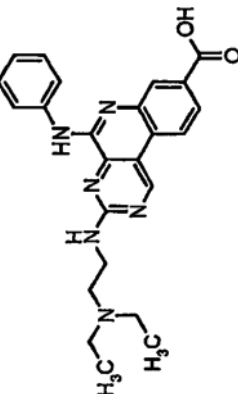
Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM) SK-10A	MCF-CI50 (μM) MCF-10A	CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	3,34	5,69	9,34	6,98	1,08		4,19	12,43		
	3,48	6,16	3,79	14,37			6,16	16,96		
	1,48	8,62	18,67	8,97			4,10	12,97		

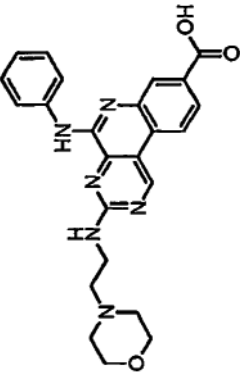
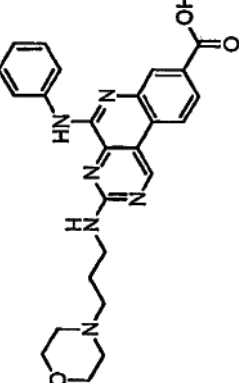
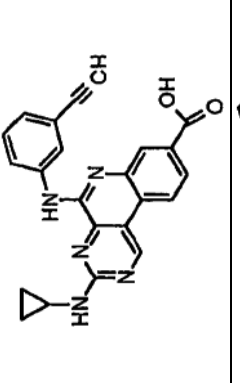
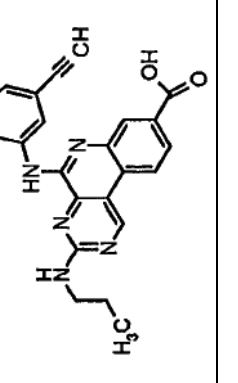
Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM) 10A	MCF-CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	2,58	7,04	2,34	20,17	0,64	7,33	12,44	8,81	
			> 50						
			> 50						

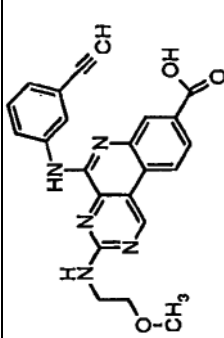
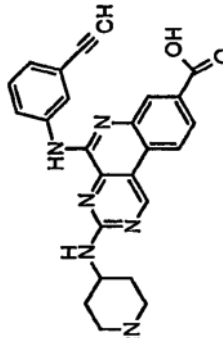
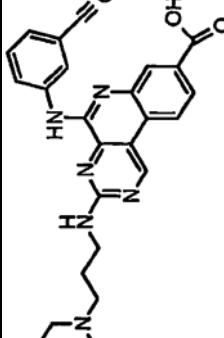
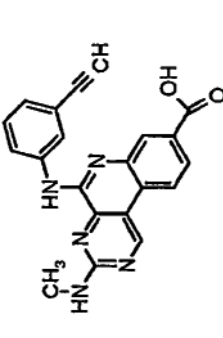
Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM) 10A	MCF-CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	1,83	9,56	15,88	1,06		4,06	15,34	5,68	
	6,38	1,57	25,80	15,33		9,10	26,85		
	3,70	4,44	4,07	23,38	0,73	13,78	45,47		

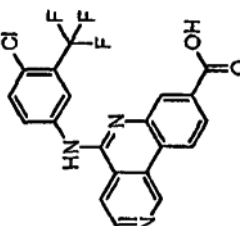
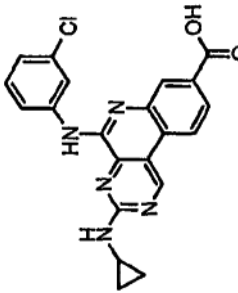
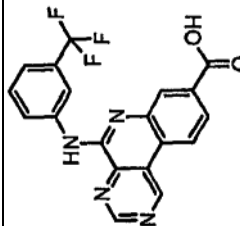
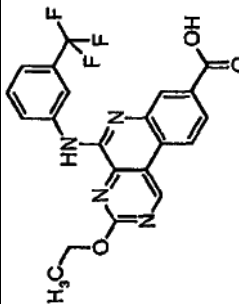
Estructura	CI50 BxPC3	(μM) CI50 COLO205	(μM) CI50 PanC1	(μM) CI50 OV-3	SK- CI50 (μM) 10A	MCF- CI50 (μM) H460	(μM) CI50 HT29	(μM) CI50 60/MX2	HL-
			> 50						
	1,63	3,62	24,00	10,10		7,53	16,64		
	3,62		> 50				41,82		

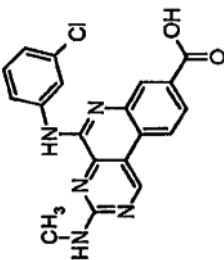
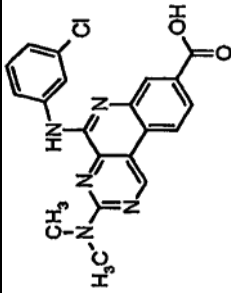
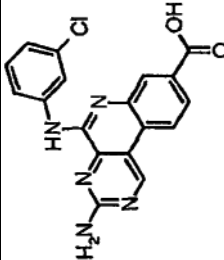
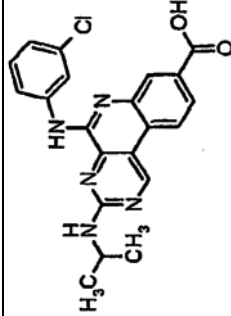
Estructura	CI50 BxPC3	CI50 COLO205	CI50 PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK- CI50 (μM) OV-3	CI50 (μM) 10A	MCF- CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	2,16		5,02							
	5,83		4,28							
	3,92		32,63							
	23,53		> 50							

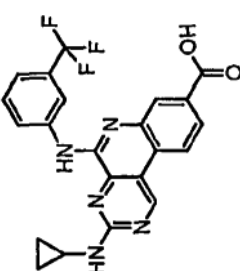
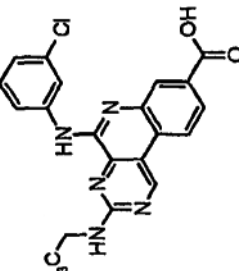
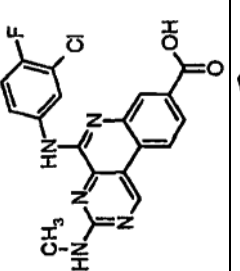
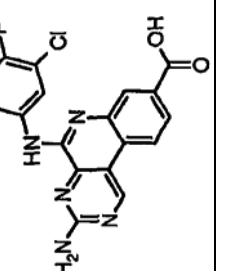
Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM) SK-OV-3	CI50 (μM) MCF-10A	CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
 <chem>CCCCNC1=NC2=C(NC3=CC=CC=C3)N=CN=C2C(=O)C1=CC=C(C(=O)O)C3=CC=CC=C3</chem> 9,41	34,16									
 <chem>C1CCNCC1NC2=NC3=C(NC4=CC=CC=C4)N=CN=C3C(=O)C2=CC=C(C(=O)O)C5=CC=CC=C5</chem> 8,36	> 50									
 <chem>CC(C)CNCCNC1=NC2=C(NC3=CC=CC=C3)N=CN=C2C(=O)C1=CC=C(C(=O)O)C4=CC=CC=C4</chem> 10,70	> 50									

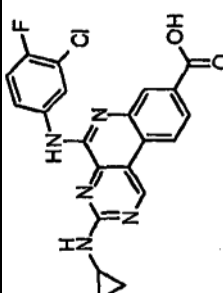
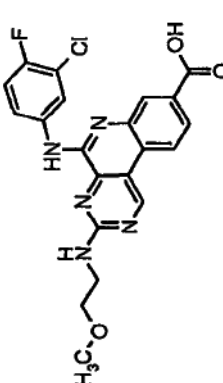
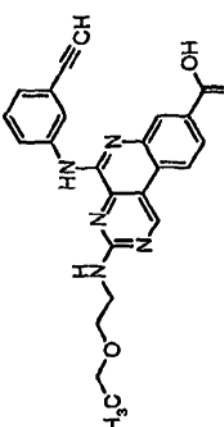
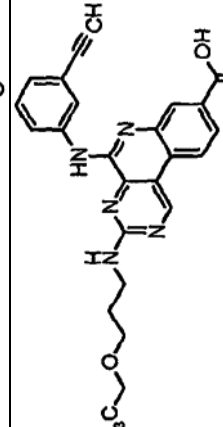
Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM) SK-OV-3	CI50 (μM) MCF-10A	CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	4,67		27,45							
	1,65		> 50							
	1,05		5,79							
	3,00		8,12							

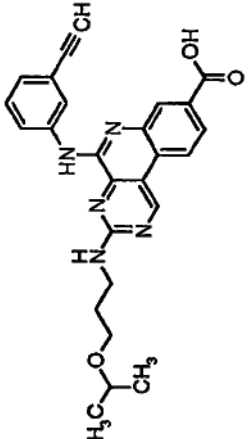
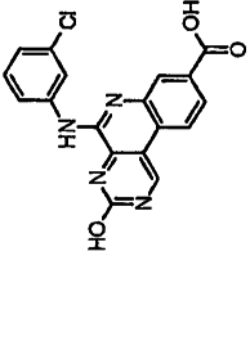
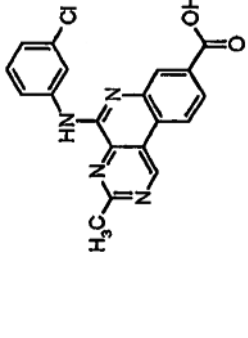
Estructura	CI50 BxPC3	CI50 COLO205	CI50 PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK- CI50 (μM) OV-3	CI50 (μM) 10A	MCF- CI50 (μM) 10A	CI50 H460	CI50 HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	1,17		4,61								
	25,31		> 50								
	3,60		11,24								
	1,60		13,76								

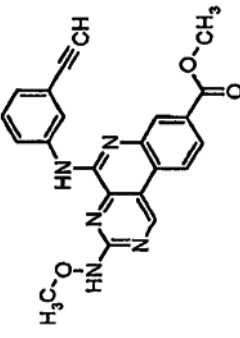
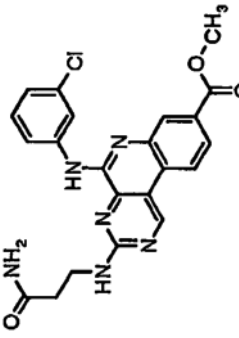
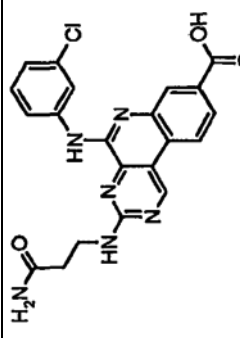
Estructura	CI50 BxPC3	CI50 COLO205	CI50 PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK- CI50 (μM) 10A	MCF- CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	2,60		17,87						
	1,95		4,61						
	4,31		35,20						
	49,61		> 50						

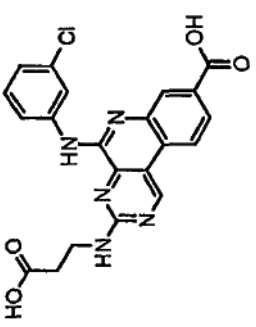
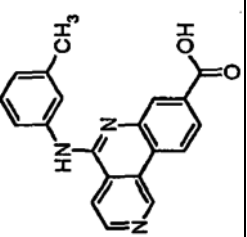
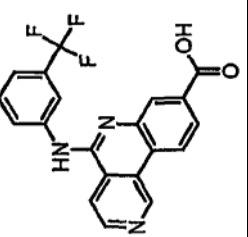
Estructura	CI50 BxPC3	(μM) CI50 COLO205	(μM) CI50 PanC1	(μM) CI50 OV-3	SK- CI50 (μM) 10A	MCF- CI50 (μM) H460	(μM) CI50 HT29	(μM) CI50 60/MX2	HL-
	2,56		8,30						
	42,69		> 50						
	0,61		3,62						
	36,90		33,21						

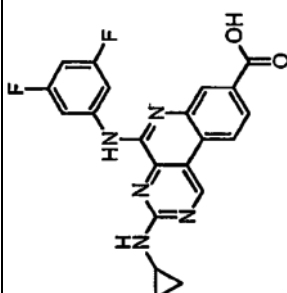
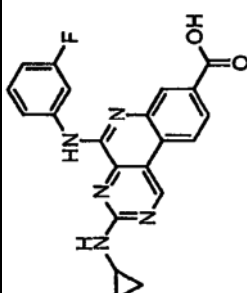
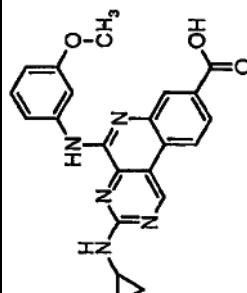
Estructura	CI50 BxPC3	(μM) CI50 COLO205	(μM) CI50 PanC1	(μM) CI50 OV-3	SK- CI50 (μM) OV-3	CI50 (μM) 10A	MCF- CI50 (μM) H460	(μM) CI50 HT29	(μM) CI50 60/MX2	HL-
	10,01		2,03							
	2,37		1,61							
	1,46		> 50							
	0,70		8,03							

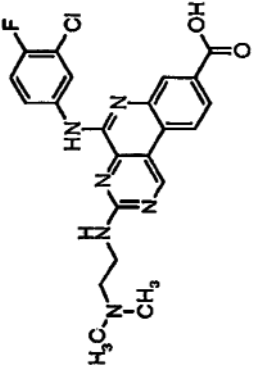
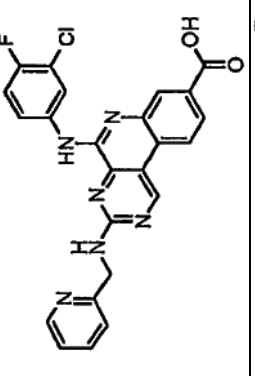
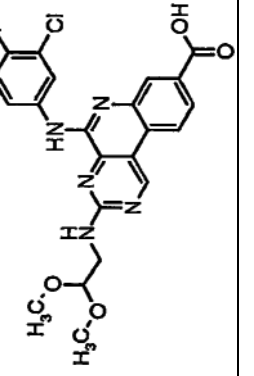
Estructura	CI50 BxPC3	(μM) CI50 COLO205	(μM) CI50 PanC1	(μM) CI50 OV-3	SK- CI50 (μM) OV-3	CI50 (μM) 10A	MCF- CI50 (μM) 10A	CI50 H460	(μM) CI50 HT29	(μM) CI50 60/MX2	HL-
	9,48		8,53								
	1,61		> 50								
	0,69		2,41								
	0,48		1,04								

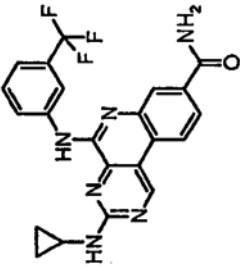
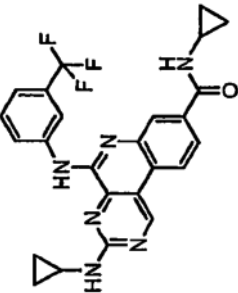
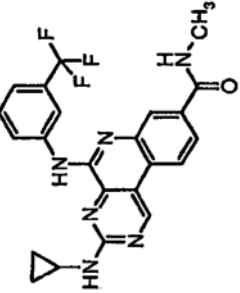
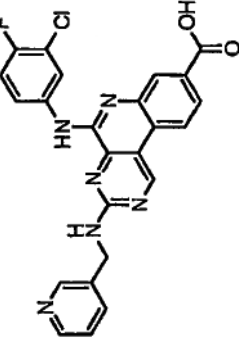
Estructura	CI50 BxPC3	(μM) CI50 COLO205	(μM) CI50 PanC1	(μM) CI50 OV-3	SK- CI50 (μM) 10A	MCF- CI50 (μM) H460	(μM) CI50 HT29	(μM) CI50 60/MX2	HL-
 <chem>CC(C)OCCCNc1nc2nc(Nc3ccc(C#C)cc3)c4ccc(O)cc4n2</chem> 0,97			3,10						
 <chem>CC(C)OCCCNc1nc2nc(Nc3ccc(Cl)cc3)c4ccc(O)cc4n2</chem> 15,85			> 50						
 <chem>CC(C)OCCCNc1nc2nc(Nc3ccc(Cl)cc3)c4ccc(O)cc4n2</chem> 8,88			> 50						

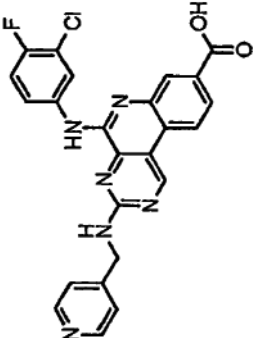
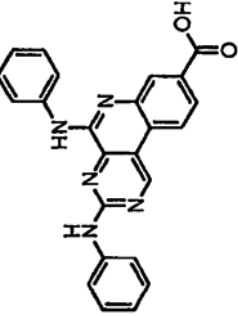
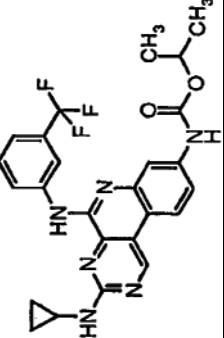
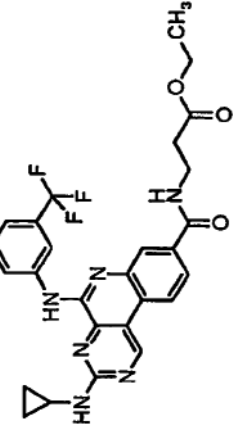
Estructura	CI50 BxPC3	CI50 COLO205	CI50 PanC1	CI50 (µM) OV-3	SK- CI50 (µM) 10A	MCF- CI50 (µM) H460	CI50 (µM) HT29	CI50 (µM) 60/MX2	HL-
	40,00		> 50						
	2,62		25,46						
	20,85		> 50						

Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM)	CI50 (μM) MCF-10A	CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
 <chem>CC(=O)OCCNC1=NC2=C(NC3=CC=C(C=C3)Cl)N=CN=C2C4=CC=C(C=C4)C(=O)O</chem> 43,49			> 50							
 <chem>CC(=O)OCCNC1=NC2=C(NC3=CC=C(C=C3)C)N=CN=C2C4=CC=C(C=C4)C(=O)O</chem> 2,23, i			37,95							
 <chem>CC(=O)OCCNC1=NC2=C(NC3=CC=C(C=C3)C(F)(F)F)N=CN=C2C4=CC=C(C=C4)C(=O)O</chem> 2,60			27,16							

Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM) SK-OV-3	CI50 (μM) MCF-10A	CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	14,89		16,11							
	9,89		2,81							
	8,68		3,48							

Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM) SK-OV-3	CI50 (μM) MCF-10A	CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	1,52		44,94							
	11,12		> 50							
	2,86		41,52							

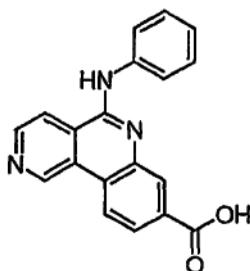
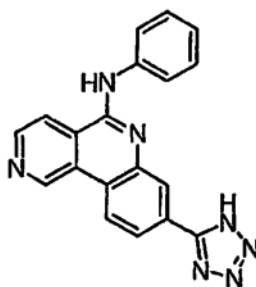
Estructura	CI50 BxPC3	CI50 COLO205	CI50 PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK- CI50 (μM)	CI50 (μM) 10A	MCF- CI50 (μM)	CI50 H460	CI50 HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	0,33		> 50								
	2,73		16,03								
	3,00		18,92								
	3,16		20,88								

Estructura	CI50 (μM) BxPC3	CI50 (μM) COLO205	CI50 (μM) PanC1	CI50 (μM) OV-3	SK-CI50 (μM) 10A	MCF-CI50 (μM) H460	CI50 (μM) HT29	CI50 (μM) 60/MX2	HL-
	7,33								
	40,09		3,72						
	0,90		9,88						
	8,76		0,44						

Ejemplo 6Modulación de la actividad CK2 endógena

- 5 La línea celular de leucemia humana Jurkat T se mantuvo en medio RPMI 1640 (Cambrex) suplementado con suero fetal de ternera al 10% y gentamicina a 50 ng/ml. Antes del tratamiento las células se lavaron, se resuspendieron a una densidad de aproximadamente 10^6 células/mililitro en medio que contenía suero fetal de ternera al 1% y se incubaron en presencia de las cantidades indicadas de fármaco durante dos horas. Las células se recogieron mediante centrifugación, se lisaron usando un tampón hipotónico (Tris/HCl 20 mM pH 7.4; EDTA 2 mM; EGTA 5 mM; mercaptoetanol 10 mM; NaF 10 mM; ácido okadaico 1 μ M, glicerol al 10% v/v; NP-40 al 0,05%, mezcla de inhibidores de proteasas al 1%) y la proteína del lisado clarificado se diluyó a 1 microgramo por microlitro en tampón de dilución del ensayo (TDE; MOPS 20mM, pH 7.2, β -glicerofosfato 25 mM, EGTA 5mM, ortovanadato sódico 1mM y ditioneitol 1mM). A 20 microlitos de proteína diluida se añadieron 10 microlitos de péptido sustrato (RRRDDDSSDD, disuelto en TDE a una concentración de 1 mM) y 10 microlitos mezcla de inhibidores de PKA (Upstate). Las reacciones se iniciaron mediante la adición de 10 microlitos de solución de ATP (90% $MgCl_2$ 75 mM, ATP 100 μ M disuelto en TDE; 10% [γ - ^{33}P]ATP (solución madre de 1 mCi/100 microlitos; 3000 Ci/mmol (Perkin Elmer)) y se mantuvieron durante 15 minutos a 32 grados centígrados. Las reacciones se detuvieron con 100 microlitos de ácido fosfórico al 0,75 %, a continuación se transfirió y filtró a través de una placa de filtración de fosfocelulosa (Millipore). Después de lavar cada pocillo 5 veces con ácido fosfórico al 0,75%, la reactividad residual se midió usando un contador de luminiscencia de Wallac.

Las actividades moduladoras de los dos compuestos evaluados por el ensayo se muestran en la Figura 1. A continuación se proporcionan las estructuras de los compuestos:

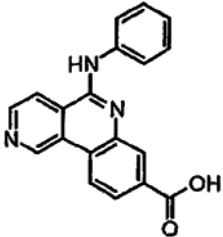
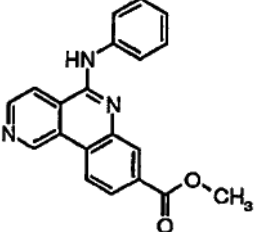
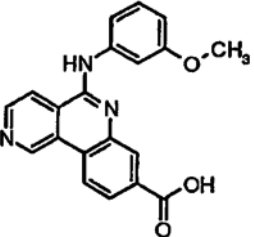
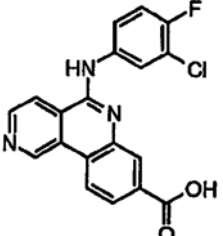
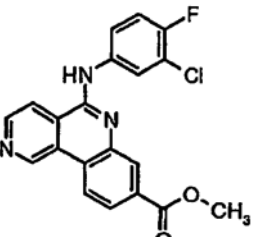
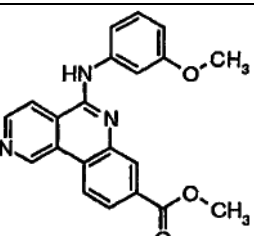
**Compuesto 1****Compuesto 2.**

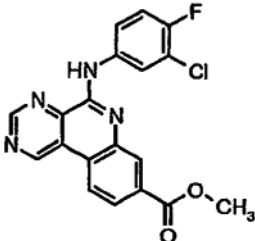
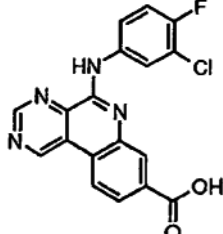
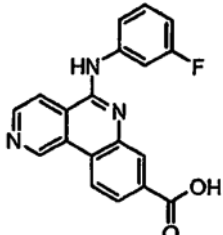
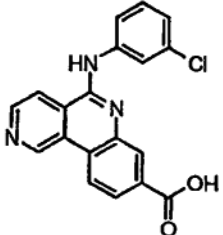
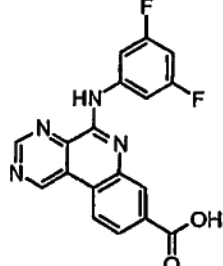
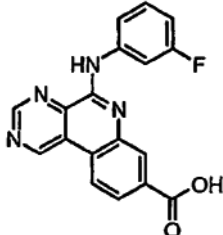
25

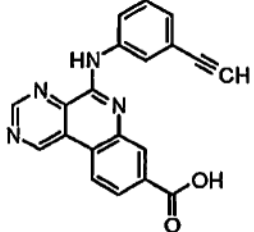
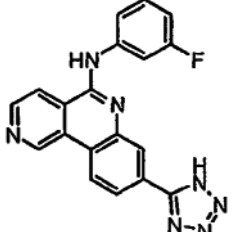
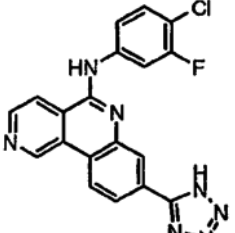
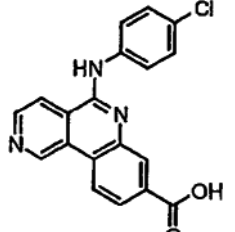
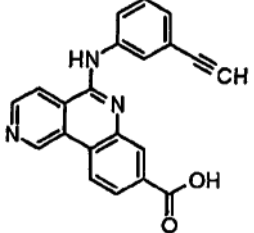
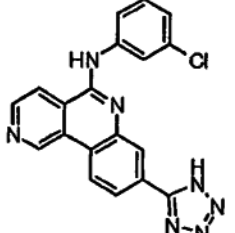
Como se muestra en la figura 1, cada uno de los dos compuestos inhibía significativamente la actividad CK2 endógena en comparación con el control no tratado. Cada uno de los dos compuestos también inhibía más potencialmente la actividad CK2 endógena en comparación con el compuesto de referencia 4,5,6,7-tetrabromobenzotriazol (TBB), un inhibidor de CK2 conocido (Ruzzene y col., Biochem J. 15: 364(Pt 1):41-7 (2002)).

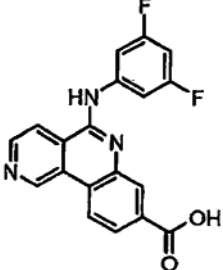
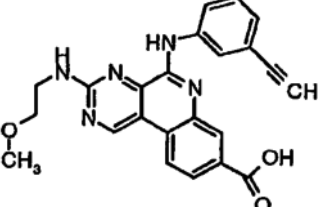
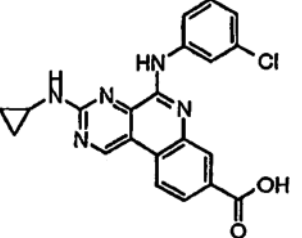
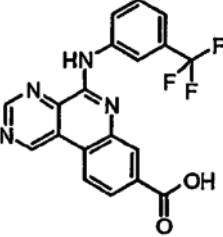
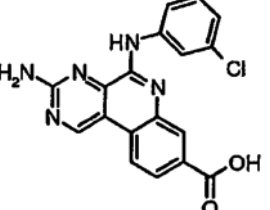
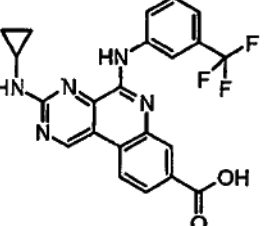
30

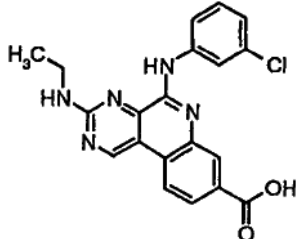
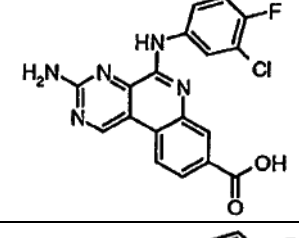
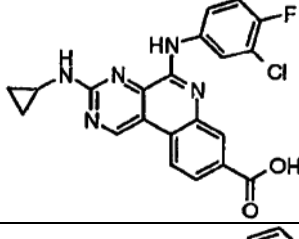
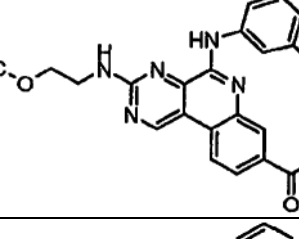
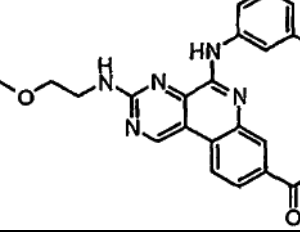
Tabla 20b: Modulación de la actividad CK2 endógena

Estructura	Modulación de la actividad CK2 endógena CI50 (μM)
	7,4
	19,87
	2,325
	0,464
	7,066
	> 50

Estructura	Modulación de la actividad CK2 endógena CI50 (μM)
 <chem>COC(=O)c1ccc2nc3c(ncn3c2)Nc4cc(F)c(Cl)cc4</chem>	> 50
 <chem>OC(=O)c1ccc2nc3c(ncn3c2)Nc4cc(F)c(Cl)cc4</chem>	1,056
 <chem>OC(=O)c1ccc2nc3c(ncn3c2)Nc4cc(F)cc4</chem>	2,933
 <chem>OC(=O)c1ccc2nc3c(ncn3c2)Nc4cc(Cl)cc4</chem>	0,1
 <chem>OC(=O)c1ccc2nc3c(ncn3c2)Nc4cc(F)c(F)cc4</chem>	0,269
 <chem>OC(=O)c1ccc2nc3c(ncn3c2)Nc4cc(F)cc4</chem>	0,026

Estructura	Modulación de la actividad CK2 endógena CI50 (μM)
 <chem>O=C(O)c1ccc2c(c1)cnc3c2ncn3Nc4ccc(C#C)cc4</chem>	0,098
 <chem>C1=CN=CN=C1c2ccc(cc2Nc3cc(F)cc3)C4=NN=NN4</chem>	0,63
 <chem>C1=CN=CN=C1c2ccc(cc2Nc3cc(Cl)c(F)cc3)C4=NN=NN4</chem>	0,22
 <chem>O=C(O)c1ccc2c(c1)cnc3c2ncn3Nc4ccc(Cl)cc4</chem>	0,017
 <chem>O=C(O)c1ccc2c(c1)cnc3c2ncn3Nc4ccc(C#C)cc4</chem>	0,07
 <chem>C1=CN=CN=C1c2ccc(cc2Nc3cc(Cl)cc3)C4=NN=NN4</chem>	1,016

Estructura	Modulación de la actividad CK2 endógena CI50 (μM)
	1,351
	0,01
	0,01
	0,098
	0,044
	0,01

Estructura	Modulación de la actividad CK2 endógena CI50 (μM)
	0,01
	0,044
	0,03
	0,047
	0,172

Ejemplo 7

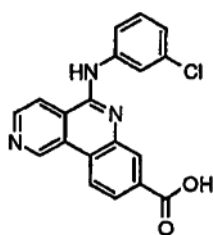
Evaluación de las propiedades farmacocinéticas

- 5 Las propiedades farmacéuticas de los fármacos se estudiaron en ratones ICR tras un bolo intravenoso (i.v.) y dosis orales (p.o.) de fármaco a 5 mg/kg y 25 mg/kg, respectivamente. Las muestras de sangre se extrajeron en puntos temporales predeterminados y se separó el plasma. El plasma se separó a partir de las muestras de sangre extraídas a los 5, 15 y 30 minutos y 1, 2, 4, 8 y 24 horas antes de la dosis.
- 10 Los niveles del fármaco se cuantificaron mediante el procedimiento de CL/EM/EM descrito a continuación. Se aplicó un análisis farmacocinético no compartimental para la administración intravenosa. Se usó una norma trapezoidal lineal para registrar el AUC(0-24). La $t_{1/2}$ terminal y la C_0 se calcularon usando los últimos tres y los últimos tres puntos de datos, respectivamente.
- 15 El bioanálisis se realizó usando un equipo de CL/EM/EM Quattro Micro en el modo de detección MRM, con un patrón interno (PI). Brevemente, se prepararon muestras de plasma de 15 μl para análisis usando precipitación de

proteínas con 120 µl de acetonitrilo. Los sobrenadantes se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se sometieron a análisis por CL/EM/EM usando una columna de HPLC Phenomenex Polar-RP. Las fases móviles fueron NH₄HCO₃ 10 mM en agua (solución-A) y NH₄HCO₃ 10 mM en metanol (solución-B). La columna se equilibró inicialmente con solución B al 25% y se siguió con solución B al 100% durante 5 minutos. El procedimiento tenía un intervalo 5 dinámico de 1 a 10 000 ng/ml. La cuantificación de los analitos se realizó en modo batch con dos curvas de calibrado por agrupamiento según la lista de muestras bioanalíticas.

Los perfiles farmacocinéticos y los parámetros farmacocinéticos estimados del compuesto A1 que aparecen a continuación se muestran en la figura 2A y en la tabla 21.

10

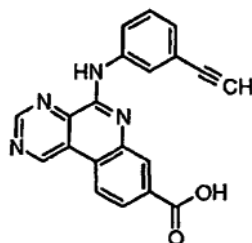


A1

Tabla 21. Parámetros farmacocinéticos estimados tras la administración intravenosa y oral de 5 y 25 mg/kg, respectivamente

Parámetro FC	i.v.	p.o.	Unidades
Dosis	5	25	mg/kg
AUC _(0-8 h)	2910	1580	
AUC _(0-24 h)	3337	2915	ng.h.ml ⁻¹
AUC _(0-Inf)	3364	3149	ng.h.ml ⁻¹
C _{máx-obs}	ND	343	ng/ml
C _{p0-exp}	13 201	ND	ng/ml
T _{máx}	ND	0,25	h
K _{el}	0,1586	0,1076	h ⁻¹
t _{1/2}	4,4	6,4	h
V _d	9,4	ND	l/kg
ACL _s	1,5	ND	l/kg/h
F(0-8 h)	ND	10,9	%
F(0-inf h)	ND	18,7	%

Los perfiles farmacocinéticos y los parámetros farmacocinéticos estimados del compuesto de prueba que aparece a continuación se muestran en la figura 2B y en la tabla 22.



A2

20

Tabla 22. Parámetro farmacocinéticos estimados tras las dosis i.v. y p.o.

Parámetro FC	i.v.	p.o.	Unidad
Dosis	3,4	24,5	mg/kg
AUC _(0-8 h)	3716	6005	
AUC _(0-24 h)	4806	9120	ng.h.ml ⁻¹
AUC _(0-Inf)	4898	10895	ng.h.ml ⁻¹
C _{máx-obs}	4744	1600,5	ng/ml

Cp0-exp	5631	ND	ng/ml
T _{máx}	ND	0,5	h
Kel	0,1418	0,0594	h ⁻¹
t _{1/2}	4,9	11,7	h
Vd	4,9	ND	l/kg
ACL _s	0,7	ND	l/kg/h
F _(0,24 h)	ND	26,5	%
F _(0-Inf)	ND	31,1	%

Ejemplo 8

Evaluación de la eficacia del compuesto en la supresión tumoral

5 La actividad *in vivo* del compuesto A1 y del compuesto A2 (previamente mostrado) se evaluó mediante administración intravenosa y oral a ratones con xenoinjertos portadores de tumores. En los experimentos *in vivo* se siguieron protocolos aprobados por el Comité para la Utilización y Atención de Animales. Los ratones NCr nu/nu hembras se obtuvieron de Taconic Farms y se alojaron por grupos en una instalación ventilada con un ciclo de luz
10 12/12 horas. Todos los materiales de alojamiento y el agua se autoclavaron antes de su uso. Los ratones se mantuvieron con acceso libre a pienso de laboratorio irradiados con radiación gamma y a agua acidificada. Los animales se manipularon en cabinas de flujo laminar.

El tamaño del tumor (mm³) se calculó usando la fórmula $(l \times g^2)/2$, donde g = grosor y l = longitud en mm del tumor. El
15 peso del tumor se estimó asumiendo que 1 mg es equivalente a 1 mm³ de volumen tumoral.

Para la administración intravenosa del compuesto A1, los animales se inocularon por vía subcutánea en la parte derecha del lomo con 5×10^6 células MiaPaca. Los tumores se controlaron dos veces a la semana y, a continuación, diariamente cuando se acercaban al tamaño apropiado para el estudio. El día 1 del estudio, los animales se
20 asignaron aleatoriamente a grupos de tratamiento de n = 5 con tamaños medios del tumor por grupo de 160 mm³.

Grp 1	Media	160,966	UTC
Grp 2	Media	161,816	Gemzar
Grp 3	Media	161,807	30mg/kg CK2 Compuesto
Grp 4	Media	159,621	60mg/kg CK2 Compuesto
% Dif.		1,363	
DE		1,034	

Los animales recibieron 14 dosis de vehículo, Gemzar a 100 mg/kg cada 3 días o compuesto A1 a 30 mg/kg o 60 mg/kg mediante administración intravenosa diaria. Las mediciones del volumen tumoral (figura 3A) y el peso corporal
25 (figura 3B) se registraron los días 3, 6, 8, 10, 13 y 15. En las figuras 3C y 3D se muestran las fotografías de animales control específicos sin tratar y animales a los que se administraron 60 mg/kg del compuesto A1. El compuesto A1 se denomina "inhibidor de CK2" en las figuras 3A, 3B, 3C y 3D. El compuesto A1 también se administró por vía oral a animales con injerto xenógrafo de células MiaPaca e inhibía el crecimiento tumoral. El compuesto A1 se formuló como una sal sódica a 10 mg/ml con PEG 300 al 2% y se tamponó a pH 8,4 usando tampón fosfato sódico. El
30 compuesto A1, cuando se administraba por vía oral a los animales a dosis de 100 mg/kg al día x 8 y, a continuación, 200 mg/kg al día x 5, inhibía significativamente el crecimiento tumoral en relación con un grupo control no tratado. Se usó como control positivo Gemzar™ administrado a una dosis de 80 mg/kg por vía i.p. cada tres días. El compuesto A1 también se administró mediante administración oral a 100 mg/kg a animales portadores de xenoinjertos de MCF-7 y a 150 mg/kg a animales portadores de xenoinjertos de PC-3, y en ambos grupos de estudio, inhibía
35 significativamente el crecimiento tumoral.

También se determinó que el compuesto A1 reducía la actividad CK2 en los tumores. La evaluación de la actividad CK2 en los tumores mostró que los tumores de animales tratados con el compuesto A1 presentaban aproximadamente el 40% de la actividad CK2 de los tumores de animales no tratados con el compuesto A1 o
40 tratados con Gemzar™.

Se evaluó la distribución del compuesto A1 en el plasma y en los tumores de los animales. En los animales a los que se administraron 30 mg/kg de compuesto A1 i.v., 60 mg/kg de compuesto A1 i.v. y 200 mg/kg de compuesto A1 por vía oral, se identificaron en el plasma concentración de aproximadamente 6,8; 2,2 y 9,5 micromolar del compuesto
45 A1, respectivamente y en los tumores se identificaron concentraciones de aproximadamente 42,9; 7,0 y 6,4 micromolar, respectivamente.

También se evaluó la tinción de caspasas como marcador para el tratamiento de los tumores con el compuesto A1. En los animales tratados con 60 mg/kg del compuesto A1 por administración i.v., los niveles de tinción en las células de caspasa-3 eran cuatro veces mayores que en las células control no tratadas. Estos resultados sugieren que la tinción de la caspasa-3 puede ser útil como biomarcador para controlar la inhibición de la proliferación celular y la inhibición tumoral.

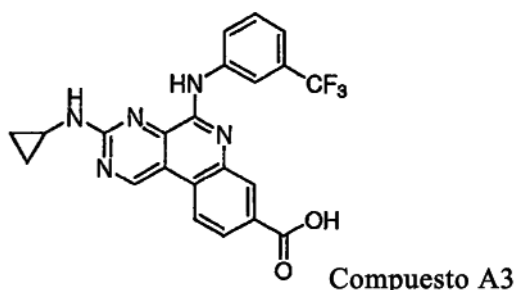
Para la evaluación del compuesto A2, este compuesto se administró mediante administración intravenosa e intraperitoneal a ratones con xenoinjertos portadores de tumores. Los animales fueron inoculados por vía subcutánea en la parte derecha del lomo con 5×10^6 células BC-PC3. Los tumores se controlaron dos veces a la semana y, a continuación, diariamente cuando se acercaban al tamaño apropiado para el estudio. El día 1 del estudio, los animales se asignaron aleatoriamente a grupos de tratamiento de $n = 8$ ($n=5$ para los grupos controles positivo y negativo) con tamaños tumorales medios por grupo de 97 mm^3 .

Grp 1	Media	97,80	CST
Grp 2	Media	96,95	Gemzar cada 3 día
Grp 3	Media	96,68	50 mg/kg CX-5011 i.v. 2v/d x10días
Grp 4	Media	98,95	60 mg/kg CX-5011 i.v. diario x7días
Grp 5	Media	96,51	100 mg/kg CX-5011 i.v. 2v/d x7días
% Dif.	2,50		
DE	1,01		

Los animales recibieron 17 dosis de vehículo, Gemzar a 100 mg/kg cada 3 días o compuesto a 60 mg/kg al día mediante administración por vía intravenosa o 100 mg/kg dos veces al día mediante administración intraperitoneal. Un grupo (Nº 3) recibió 10 dosis del compuesto a 50 mg/kg dos veces al día mediante administración intravenosa. Las mediciones del volumen tumoral y el peso corporal se registraron los días 1, 4, 7, 11, 13, 15 y 18 y los datos mostraron que el compuesto A2 inhibía significativamente la progresión del tumor (figura 4A) mientras que no alteraba significativamente el peso corporal (figura 4B). La administración del compuesto A2 a animales portadores de xenoinjertos de MiaPaca mediante administración i.v. a 50 y 60 mg/kg y mediante administración i.p. a 100 mg/kg inhibía significativamente la progresión del tumor. Así mismo, la administración del compuesto A2 a animales portadores de xenoinjertos de MDA-MB-321 mediante administración i.v. a 30 y 60 mg/kg y mediante administración oral a 200 mg/kg inhibía significativamente la progresión del tumor. La administración del compuesto A2 a animales portadores de xenoinjertos de MiaPaca mediante administración oral a 100 mg/kg diarios x 8 y 200 mg/kg diarios x 6 inhibía significativamente la progresión del tumor. Se utilizó una sal de meglumina del compuesto A2 a pH 10,0 y a 10 mg/ml como formulación oral para los estudios.

Los estudios farmacocinéticos del compuesto A2 se realizaron en los casos en que los 30 mg/kg del compuesto se administraron por vía i.v. diariamente x 6. Las muestras de plasma, sangre y tumor se obtuvieron los días 1, 4 y 6 y se sacrificaron tres animales por cada punto temporal. El estado de equilibrio se alcanzó aproximadamente a los tres días, la pendiente terminal disminuyó, la semivida era más del doble, la concentración mínima era 4-5 veces superior a los seis días y no se observaron diferencias significativas entre el día 4 y el día 6.

La administración del compuesto A3 a animales portadores de xenoinjertos de MiaPaca mediante administración por vía i.v. también inhibía significativamente la progresión del tumor.



40 **Ejemplo 9**

Modulación de la actividad proteína quinasa no CK2

Los compuestos descritos en este documento también se caracterizan por su actividad moduladora *in vitro* frente a proteína quinasas distintas a CK2. El análisis *in vitro* se realiza usando protocolos conocidos (p. ej., protocolos de ensayo descritos en la dirección de [Internet upstate.com/img/pdf/KP_Assay Protocol_Booklet_v3.pdf](http://Internet.upstate.com/img/pdf/KP_Assay_Protocol_Booklet_v3.pdf)). Los

compuestos descritos en este documento se seleccionan en los ensayos y se priorizan en función de su actividad moduladora frente a proteína quinasas distintas de CK2 y su especificidad para CK2 o PARP.

Ejemplo 10

5

Evaluación de la inhibición de la angiogénesis mediante el ensayo de formación del tubo endotelial

Se realizó un ensayo de formación de tubo endotelial humano usando el sistema de angiogénesis de 96 pocillos BioCoat™ de BD, usando el protocolo recomendado por el fabricante.

10

Brevemente, se suspendieron células HUVEC (de la ATCC) en 150 µl de medio que contenía SFT al 10% a 4×10^5 células/ml en cada uno de los 96 pocillos de la placa recubierta de matrigel en presencia o ausencia de diversas concentraciones del compuesto A2. La placa se incubó durante 18 horas a 37°C. Las células se tiñeron con calceína AM y los resultados se visualizaron mediante microscopía de fluorescencia y por contraste de fase. Se observó que el compuesto A2 inhibía la formación del tubo en el ensayo descrito anteriormente a lo largo de un intervalo de concentración de 1 a 5 µM.

15

Ejemplo 11

20 Modulación de la actividad proteína quinasa en ensayos *in vitro* libres de células

En un ensayo de PIM-1, se añadieron los compuestos de ensayo en solución acuosa a un volumen de 5 µl, a una mezcla de reacción que contenía 5 µl de tampón de reacción 2x (MOPS 40mM, pH 7,0, EDTA 1 mM), 2,5 µl de solución de PIM-1 humana (10 ng), 2,5 µl de péptido sustrato (KKRNRTLTK) y 10 µl de solución de ATP - 98% (MgCl₂ 75 mM, ATP 37,5 µM) 2% ([γ-³³P]ATP: 3000Ci/mmol - Perkin Elmer). Las reacciones se incubaron durante 10 min a 30°C, se detuvieron con 100 µl de ácido fosfórico al 0,75%, a continuación, se transfirieron y filtraron a través de una placa de filtración de fosfoocelulosa (Millipore). Tras lavar cada pocillo 5 veces con ácido fosfórico al 0,75%, se añade líquido de centelleo (15 µl) a cada pocillo. La radiactividad residual se mide usando un contador de luminiscencia. El compuesto A2 inhibía PIM-1 con una CI₅₀ = 189 nM.

30

Adicionalmente se comprobó la actividad del compuesto A2 frente a otras proteínas quinasas. Los siguientes datos de CI₅₀ de inhibición quinasa se obtuvieron usando ensayos radiométricos para quinasas estandarizados para cada quinasa en particular, que suponen la unión al filtro de proteínas sustrato marcadas con ³³P para la quinasa de interés. Cada valor de CI₅₀ se determinó para un intervalo de 10 concentraciones de fármaco. Las condiciones de reacción están disponibles en la dirección de Internet upstate.com/discovery/services/ic50_profiler.q.

35

Quinasa	CI50 (nM)
CDK1/ciclinaB(h)	226
CK2(h)	2
CK2α2(h)	1
c-RAF(h)	> 1000
DYRK2(h)	354
Flt3(h)	721
Flt4(h)	815
HIPK3(h)	56
ZIPK(h)	34

Los siguientes datos de inhibición de la quinasa se determinaron usando ensayos radiométricos estandarizados de quinasas para cada quinasa en particular, lo que supone la unión al filtro de proteínas sustrato marcadas con ³³P para la quinasa de interés. Cada porcentaje de actividad se determinó a una concentración del fármaco de 5 µM. Las condiciones de reacción están disponibles en la dirección de Internet upstate.com/discovery/services/ic50_profiler.q.

40

Quinasa	% actividad a 0,5 µM
CK2α2(h)	-7
CK2(h)	-2
Flt4(h)	-1
HIPK3(h)	10
HIPK2(h)	11
ZIPK(h)	12

ES 2 528 316 T3

Quinasa	% actividad a 0,5 μ M
Flt3(D835Y)(h)	17
Pim-1(h)	27
Flt3(h)	42
Mer(h)	46
MELK(h)	49
DYRK2(h)	50
CDK1/ciclinaB(h)	52
GSK3 β (h)	56
MSK2(h)	56
DRAK1(h)	62
CDK2/ciclinaA-(h)	63
Lck(h)	63
Mnk2(h)	63
SRPK1(h)	66
KDR(h)	67
c-RAF(h)	69
IGF-1R(h)	73
CDK7/ciclinaH/MAT1(h)	77
NEK2(h)	77
Rsk1(h)	78
EGFR(L861Q)(h)	79
MLK1(h)	80
p70S6K(h)	80
LOK(h)	84
EGFR(L858R)(h)	89
PKA(h)	90
TrkA(h)	90
Ab1(h)	91
EGFR(T790M)(h)	92
PRAK(h)	93
Aurora-A(h)	94
Flt1(h)	95
MAPK1(h)	95
MST1(h)	96
FAK(h)	97
ROCK-1(h)	97
CHK1(H)	99
EphA7(h)	99
JAK2(h)	99
PKC α (h)	99
Tie2(h)	99
Blk(m)	100
CDK9/ciclina T1(h)	100
CK1 γ 3(h)	100
cKit(D816H)(h)	101
IKK α (h)	101
F(1-530 h)	101
TAK1(h)	101
Fer(h)	103
FGFR1(h)	103
CaMKI(h)	104

Quinasa	% actividad a 0,5 μ M
PKB α (h)	104
CK1 γ 1(h)	105
IR(h)	105
PKG1 α (h)	105
eEF-2K(h)	106
Plk3(h)	106
Ron(h)	106
CK1 γ 2(b)	107
FGFR2(h)	107
MAPKAP-K2(h)	107
PKD2(h)	107
ARK5(h)	108
CDK6/ciclinaD3(h)	108
DDR2(h)	109
Lyn(h)	109
PDGFR α (h)	109
PDGFR α (D842V)(h)	109
Rse(h)	109
Yes(h)	109
BRK(h)	110
PDGFR β (h)	110
PDK1(h)	110
Ros(h)	110
cKit(V560G)(h)	111
Hck(h)	111
PKC θ (h)	111
ALK(h)	112
PAK2(h)	112
cKit(h)	114
Fyn(h)	114
ASK1(h)	116
Snk(h)	117
Bmx(h)	118
ZAP-70(h)	118
IRAK4(h)	119
EGFR(T790M,L858R)(h)	121
Met(h)	122
EGFR(h)	123
EphA5(h)	125
ErbB4(h)	126
MKK7 β (h)	133
MEK1(h)	136
Fes(h)	139
EphB4(h)	144
CSK(h)	146
Fms(h)	174

La citación de las patentes, solicitudes de patentes, publicaciones y documentos anteriores no supone admitir que ninguna de las anteriores es la técnica previa pertinente, ni tampoco constituye admisión alguna sobre los contenidos o fechas de estas publicaciones o documentos.

La invención descrita en este documento de forma ilustrativa puede ponerse en práctica adecuadamente en ausencia de cualquier elemento no específicamente descrito en este documento. Por tanto, por ejemplo, en cada ejemplo de este documento cualquiera de los términos "que comprende", "compuesto esencialmente de" y "compuesto por" puede sustituirse por cualquier de los otros dos términos. Por tanto, los términos y las expresiones que se han empleado se usan como términos de la descripción y no como limitación.

En este documento se describen los procedimientos E1 a E9:

10 E1. Un procedimiento para identificar una molécula candidata que interacciona con una proteína PARP, que comprende poner en contacto una proteína PARP y un compuesto que tiene una estructura de fórmula XIII, XIV, XV o XVI con una molécula candidata en condiciones en las que el compuesto y la proteína interaccionan y determinar si la cantidad del compuesto que interacciona con la proteína se modula en relación con una interacción control entre el compuesto y la proteína sin la molécula candidata, donde una molécula candidata que modula la cantidad del compuesto que interacciona con la proteína relativa a la interacción control se identifica como molécula 15 candidata que interacciona con la proteína.

E2. El procedimiento de E1, donde la proteína PARP comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID N.º 1 o una variante sustancialmente idéntica de la misma.

20 E3. El procedimiento de E1 o E2, donde la proteína está en una célula.

E4. El procedimiento de una cualquiera de las realizaciones E1-E3, donde la proteína está en un sistema libre de células.

25 E5. El procedimiento de una cualquiera de E1-E4, donde la proteína, el compuesto o la molécula está en asociación con una fase sólida.

E6. El procedimiento de una cualquiera de E1-E5, donde la interacción entre el compuesto y la proteína se detecta mediante un marcador detectable.

30

E7. El procedimiento de E6, donde la proteína comprende un marcador detectable.

E8. El procedimiento de E6, donde el compuesto comprende un marcador detectable.

35 E9. El procedimiento de una cualquiera de E1-E5, donde la interacción entre el compuesto y la proteína se detecta sin un marcador detectable.

En este documento se describen los procedimientos F1 a F5:

40 F1. Un procedimiento para modular la actividad de una proteína PARP, que comprende poner en contacto un sistema que comprende la proteína con un compuesto que tiene una estructura de fórmula XIII, XIV, XV o XVI en una cantidad eficaz para modular la actividad de la proteína.

F2. El procedimiento de F1, donde la actividad de la proteína está inhibida.

45

F3. El procedimiento de F1 o F2, donde la proteína está en una célula.

F4. El procedimiento de una cualquiera de F1-F3, donde el sistema es un sistema libre de células.

50 F5. El procedimiento de una cualquiera de F1-F4, donde la proteína o el compuesto está en asociación con una fase sólida.

En este documento se describen los procedimientos G1 a G12:

55 G1. Un procedimiento para inhibir la proliferación celular, que comprende poner en contacto las células con un compuesto que tiene una estructura de fórmula XIII, XIV, XV o XVI en una cantidad eficaz para inhibir la proliferación de las células.

G2. El procedimiento de G1, donde las células están en una línea celular.

60

G3. El procedimiento de G2, donde las células están en una línea celular de cáncer.

G4. El procedimiento de G3, donde la línea celular de cáncer es una línea celular de cáncer de mama, cáncer de

próstata, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer hematopoyético, cáncer colorrectal, cáncer de piel y cáncer de ovario.

G5. El procedimiento de G4, donde la línea celular cancerosa es una línea celular de cáncer de mama, cáncer de próstata o cáncer de páncreas.

G6. El procedimiento de G1, donde las células están en un tejido.

G7. El procedimiento de G1, donde las células están en un sujeto.

10

G8. El procedimiento de G1, donde las células están en un tumor.

G9. El procedimiento de G1, donde las células están en un tumor en un sujeto.

15 G10. El procedimiento de uno cualquiera de G1-G9, que además comprende inducir apoptosis celular.

G11. El procedimiento de G1, donde las células son del ojo de un sujeto que tiene degeneración macular.

G12 El procedimiento de G1, donde las células son de un sujeto que tiene degeneración macular.

20

La presente invención proporciona H1 a H4:

H1. Un compuesto que tiene una estructura de fórmula XIII, XIV, XV o XVI para tratar una afección relacionada con proliferación celular aberrante, donde la afección proliferativa celular es un cáncer asociado a tumor, un cáncer no tumoral o degeneración macular.

25

H2. El procedimiento de la realización H1, donde el cáncer es de mama, próstata, páncreas, pulmón, colorrectal, piel u ovario.

30 H3. El procedimiento de la realización H1, en el que la condición proliferativa celular es

H4. El procedimiento de la realización H3, donde el cáncer no tumoral es un cáncer hematopoyético.

También se describen en este documento los procedimientos J1 a J6

35

I1. Un procedimiento para tratar el cáncer o una enfermedad inflamatoria en un sujeto que necesita de dicho tratamiento que comprende:

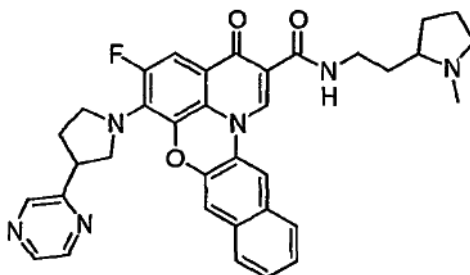
40 Administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéutico que tiene una estructura de fórmula XIII, XIV, XV o XVI o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

Administrar al sujeto una molécula que inhibe PARP o CK2 en una cantidad que es eficaz para potenciar un efecto deseado del efecto terapéutico.

45 I2. El procedimiento de I1, donde la molécula que inhibe PARP o CK2 es un compuesto que tiene una estructura de fórmula I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV, XV o XVI, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

I3. El procedimiento de I1, donde el agente terapéutico es:

50



o un isómero específico o mezcla de isómeros del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

14. El procedimiento de cualquiera de I1-I3, donde el agente terapéutico y la molécula que inhibe PARP o CK2 se administran sustancialmente al mismo tiempo.

15. El procedimiento de cualquiera de I1-I3, donde el agente terapéutico y la molécula que inhibe PARP o CK2 se usan de forma concurrente por el sujeto.

16. El procedimiento de cualquiera de I1-I3, donde el agente terapéutico y la molécula que inhibe PARP o CK2 están combinada en una composición farmacéutica. También se describen en este documento las composiciones I7 a I11:

10 17. Composición farmacéutica que comprende un agente terapéutico de cualquiera de las fórmulas TA1-1, TA2, TA3-1, TA4-1, TA5-1 o TA6 mezcladas con una molécula que inhibe PARP o CK2, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

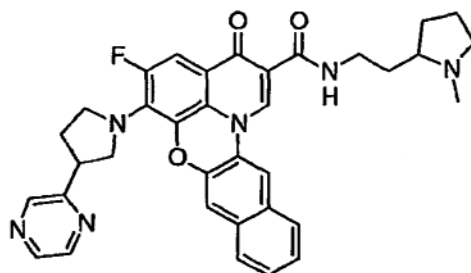
18. La composición farmacéutica de I7, donde la molécula que inhibe PARP o CK2 es un inhibidor de PARP y es un compuesto conocido mostrado anteriormente o es GPI 15427 o GPI 16539.

19. La composición farmacéutica de I7, donde la molécula que inhibe PARP o CK2 es un compuesto de fórmula I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV, XV o XVI, como se describe en este documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 I10. La composición farmacéutica de I9, donde el agente terapéutico es un compuesto de fórmula TA2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

I11. Una composición farmacéutica que comprende:

25 una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de fórmula TA2:



30 o un isómero específico o mezcla de isómeros del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

mezclado con una cantidad de un inhibidor de PARP o una sal farmacéuticamente aceptable de un inhibidor de PARP, donde el inhibidor de PARP se selecciona a partir del grupo compuesto por GPI 15427 y GPI 16539, y los compuestos conocidos mostrados anteriormente; y

35 donde la cantidad del inhibidor de PARP o la sal farmacéuticamente aceptable de un inhibidor de PARP es una cantidad que es eficaz para potenciar un efecto deseado del agente terapéutico.

La presente invención también proporciona las realizaciones M2 a M16:

40 M2. El compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI donde Z⁵ es N.

M3. El compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI, donde R es un resto carboxi o carboxi bioisótero.

45 M4. El compuesto de la realización M3, donde el resto carboxi es un carboxilato o un ácido carboxílico.

M5. El compuesto de fórmula XIII, XIV, XV, XVI, donde R⁹ se selecciona a partir de -C≡CR, -C≡CH, -CH₃, -CH₂CH₃, -CF₃, -CFN, -C≡N, -OR y halógeno.

50 M6. El compuesto de la realización M5, donde R⁹ se selecciona a partir de halógeno, -C≡CR o -C≡CH.

M7. El compuesto de la realización M6, donde R⁹ es halógeno.

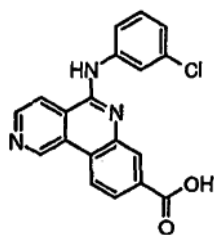
M8. El compuesto de la realización M7, donde R⁹ es cloro.

M9. El compuesto de la realización M7, donde R⁹ es bromo.

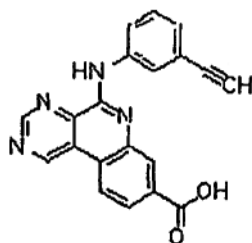
M10. El compuesto de la realización M6, donde R⁹ es -C≡CH.

5

M11. El compuesto de la realización M8, que tiene la siguiente estructura



10 M12. El compuesto de la realización M10, que tiene la siguiente estructura



M13. El compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI donde p es uno o dos.

15

M14. El compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI donde p es uno

M15. El compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI donde n es uno o dos.

20 M16. El compuesto de Fórmula XIII, XIV, XV o XVI donde n es uno

También se describen en este documento los procedimientos N1 a N7:

25 N1 Un procedimiento de identificación de una molécula cantidad que interacciona con una serina-treonina proteína quinasa, que comprende:

poner en contacto una composición que contiene una serina-treonina proteína quinasa y un compuesto que tiene una estructura de fórmula XIII, XIV, XV o XVI en el que el compuesto y la proteína interaccionan con una molécula candidata, y

30

determinar si la cantidad del compuesto que interacciona con la proteína se modula en relación con una interacción control entre el compuesto y la proteína sin la molécula candidata, mientras que una molécula candidata que modula la cantidad del compuesto que interacciona con la proteína en relación con la interacción control se identifica como molécula candidata que interacciona con la proteína.

35

N2 El procedimiento de N1, donde la serina-treonina proteína quinasa es una serina-treonina proteína quinasa humana.

40 N3. El procedimiento de N1, donde la serina-treonina proteína quinasa se selecciona a partir del grupo compuesto por CK2, CK2α2, Pim-1, CDK1/ciclinaB, c-RAF, Mer, MELK, DYRK2, FIt3, FIt3 (D835Y), FIt4, HIPK3, HIPK2, ZIPK y ZIPK.

45 N4. El procedimiento de N1, donde la serina-treonina proteína quinasa contiene uno o más de los siguientes aminoácidos en las posiciones correspondientes a las enumeradas en CK2: leucina en la posición 45, metionina en la posición 163 e isoleucina en la posición 174.

N5. El procedimiento de N4, donde la serina treonina proteína quinasa se selecciona a partir del grupo compuesto por CK2, STK10, HIPK2, HIPK3, DAPK3, DYK2 y PIM-1.

N6. El procedimiento de N1, donde la proteína, el compuesto o la molécula están en asociación con una fase sólida.

5

N7. El procedimiento de N1, donde la interacción entre el compuesto y la proteína se detecta mediante un marcador detectable.

También se describen en este documento los procedimientos O1 y O2:

10

O1. Un procedimiento de modulación de una actividad serina-treonina quinasa, que comprende poner en contacto un sistema que comprende una proteína serina-treonina proteína quinasa con un compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI en una cantidad eficaz para la modulación de la actividad de la proteína.

15 O2. El procedimiento de la reivindicación O1, donde la actividad proteína quinasa se transfiere a un fosfato gamma de adenosina trifosfato a un sustrato peptídico o proteico.

La presente invención también proporciona P1:

20 P1. Un compuesto de fórmula I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV, XV o XVI para tratar el dolor o la inflamación.

También se describe en este documento el procedimiento P2:

25 P2. Un procedimiento para identificar un compuesto que reduce la inflamación o el dolor, que comprende:

pone en contacto un sistema con un compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI; y

30 detectar un signo de dolor o un signo de inflamación en el sistema, donde un compuesto que modula el signo de dolor o signo de inflamación en relación con una molécula control se identifica como un compuesto que reduce la inflamación o en dolor.

La presente invención también proporciona P3: Un compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI para inhibir la angiogénesis.

35

También se describe en este documento el procedimiento P4:

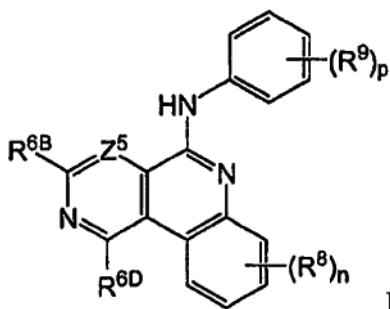
P4. Un procedimiento para identificar un compuesto que modula la angiogénesis, que comprende poner en contacto un sistema con un compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI; y

40

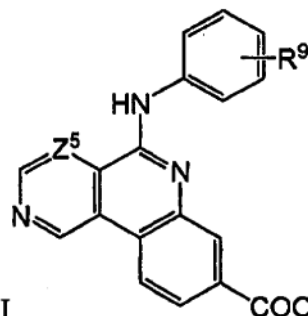
detectar angiogénesis o un signo de angiogénesis en el sistema, donde un compuesto que modula la angiogénesis o un signo de angiogénesis en relación con una molécula control se identifica como un compuesto que modula la angiogénesis.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto con una estructura de fórmula XIII, XIV, XV o XVI:

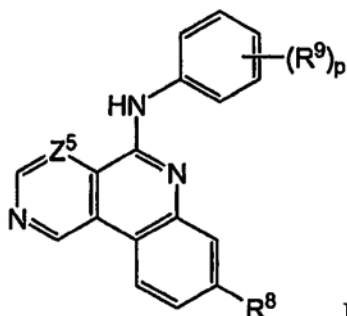


Fórmula XIII

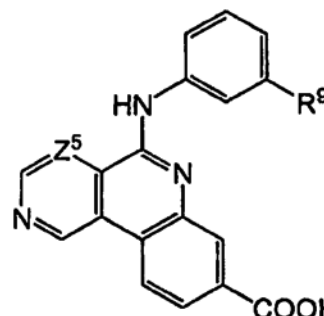


Fórmula XIV

5



Fórmula XV



Fórmula XVI

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:

10

Z⁵ es N o CR^{6A};

15 cada R^{6A}, R^{6B}, R^{6D} y R⁸ independientemente es H o un grupo alquilo C1-C8, cicloalquilo C3-C8, heteroalquilo C2-C8, heterocicloalquilo C3-C8, alquelinilo C2-C8, cicloalqueninilo C3-C8, heteroalqueninilo C2-C8, heterocicloalqueninilo C3-C8, alquiniilo C2-C8, heteroalquiniilo C2-C8, acilo C1-C8, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C12, arilalquilo C7-C12 o heteroarilalquilo C6-C12 opcionalmente sustituido.

20 o cada R^{6A}, R^{6B}, R^{6D} y R⁸ independientemente es halo, CF₃, OR, NR₂, NROR, NRNR₂, SR, SOR, SO₂R, SO₂NR₂, NRSO₂R, NRCONR₂, NRCOOR, NRCOR, CN, COOR, carboxi bioisótero, CONR₂, OOCR, COR o NO₂, R⁹ es independientemente un grupo alquilo C1-C8, cicloalquilo C3-C8, heteroalquilo C2-C8, heterocicloalquilo C3-C8, alqueniilo C2-C8, cicloalqueniilo C3-C8, heteroalqueniilo C2-C8, heterocicloalqueniilo C3-C8, alquiniilo C2-C8, heteroalquiniilo C2-C8, acilo C1-C8, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C12, arilalquilo C7-C12 o heteroarilalquilo C6-C12 opcionalmente sustituido o

25 R⁹ es independientemente halo, OR, NR₂, NROR, NRNR₂, SR, SOR, SO₂R, SO₂NR₂, NRSO₂R, NRCONR₂, NRCOOR, NRCOR, CN, COOR, CONR₂, OOCR, COR o NO₂,

30 donde cada R es independientemente H o un grupo alquilo C1-C8, cicloalquilo C3-C8, heteroalquilo C2-C8, heterocicloalquilo C3-C8, alquelinilo C2-C8, cicloalqueninilo C3-C8, heteroalqueninilo C2-C8, heterocicloalqueninilo C3-C8, alquiniilo C2-C8, heteroalquiniilo C2-C8, acilo C1-C8, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C10, arilalquilo C7-C12 o heteroarilalquilo C6-C12,

35 y donde dos R en el mismo átomo o en átomos adyacentes pueden estar unidos para formar un anillo de 3-8 átomos, que opcionalmente contiene uno o más N, O o S;

y cada grupo R y cada anillo formado por la unión de dos grupos R conjuntamente, está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados a partir de halo, =O, =N-CN, N-OR', =NR', OR', =NR'₂, SR', SO₂R', SO₂NR'₂, NR'SO₂R', NR'CONR'₂, NR'COOR', NR'COR', CN, COOR', CONR'₂, OOCR', COR' y NO₂,

donde cada R' es independientemente H, alquilo C1-C6, cicloalquilo C3-C6, heteroalquilo C2-C6, heterocicloalquilo C3-C6, acilo C1-C6, arilo C6-C10, heteroarilo C5-C10, arilalquilo C7-12 o heteroarilalquilo C6-12, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados entre halo, alquilo C1-C4, cicloalquilo C3-C4, heteroalquilo C1-C4, heterocicloalquilo C3-C4, acilo C1-C6, hidroxilo, amino y =O;

y donde dos R' puede estar unidos para formar un anillo de 3-7 átomos que opcionalmente contiene hasta tres heteroátomos seleccionados a partir de N, O y S;

10 n es de 0 a 4; y

p es de 0 a 4; y

el sustituyente opcional mencionado anteriormente se selecciona a partir del grupo compuesto por halo, =O, =N-CN, =N-OR, =NR, OR, NR₂, SR, SO₂R, SO₂NR₂, NRSO₂R, NRCONR₂, NRCOOR, NRCOR, CN, C≡CR, COOR, CONR₂, OOCR, COR y NO₂, donde cada R es independientemente H, alquilo C1-C8, cicloalquilo C3-C8, heteroalquilo C2-C8, heterocicloalquilo C3-C8, acilo C1-C8, alqueno C2-C8, cicloalqueno C3-C8, heteroalqueno C2-C8, heterocicloalqueno C3-C8, alquino C2-C8, heteroalquino C2-C8, arilo C6-C10 y heteroarilo C5-C10, y cada R está opcionalmente sustituido con halo, =O, =N-CN, =N-OR', =NR', OR', NR'₂, SR', SO₂R', SO₂NR'₂, NR'SO₂R', NR'CONR'₂, NR'COOR', NR'COR', CN, C=CR', COOR', CONR'₂, OOCR', COR' y NO₂, donde cada R' es independientemente H, alquilo C1-C8, cicloalquilo C3-C8, heteroalquilo C2-C8, heterocicloalquilo C3-C8, acilo C1-C8, arilo C6-C10 o heteroarilo C5-C10;

y donde un grupo heteroalquilo es un grupo alquilo que tiene 1-3 heteroátomos O, S o N o combinaciones de los mismos dentro del resto estructural, un grupo heteroalqueno es un grupo alqueno que tiene 1-3 heteroátomos O, S o N o combinaciones de los mismos dentro del resto estructural y un grupo heteroalquino es un grupo alquino que tiene 1-3 heteroátomos O, S o N o combinaciones de los mismos dentro del resto estructural.

2. El compuesto según la reivindicación 1, donde Z⁵ es N.

30

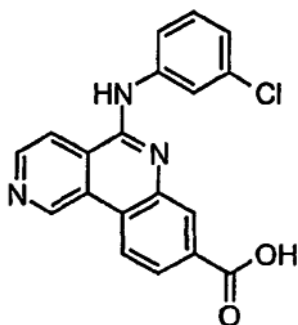
3. El compuesto según la reivindicación 1, donde R⁸ es un carboxilato o ácido carboxílico.

4. El compuesto según la reivindicación 1, donde R⁹ se selecciona a partir de -C≡CR, -C≡CH, -CH₃, -CH₂CH₃, -CF₃, -C≡N, -OR y halógeno.

35

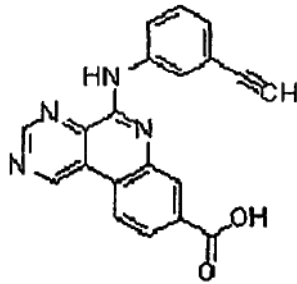
5. El compuesto según la reivindicación 4, donde R⁹ se selecciona a partir de halógeno o -C≡CH.

6. El compuesto según la reivindicación 5, que tiene la siguiente estructura



40

7. El compuesto según la reivindicación 5, que tiene la siguiente estructura



8. El compuesto según la reivindicación 5, donde p es uno o dos.
- 5 9. El compuesto según la reivindicación 5, donde n es uno o dos.
10. Un compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI, según se define en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para uso en el tratamiento de una afección relacionada con proliferación celular aberrante, donde la afección de proliferación celular se selecciona a partir de un cáncer asociado a tumor, un cáncer no asociado a tumor y degeneración macular.
- 10 11. Un compuesto para su uso según la reivindicación 10, donde el cáncer es de mama, próstata, páncreas, pulmón, colorrectal, piel u ovario.
- 15 12. Un compuesto para su uso según la reivindicación 10, donde el cáncer no tumoral es un cáncer hematopoyético.
13. Un compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI, según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso en el tratamiento del dolor o la inflamación.
- 20 14. Un compuesto de fórmula XIII, XIV, XV o XVI, según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso en la inhibición de la angiogénesis.

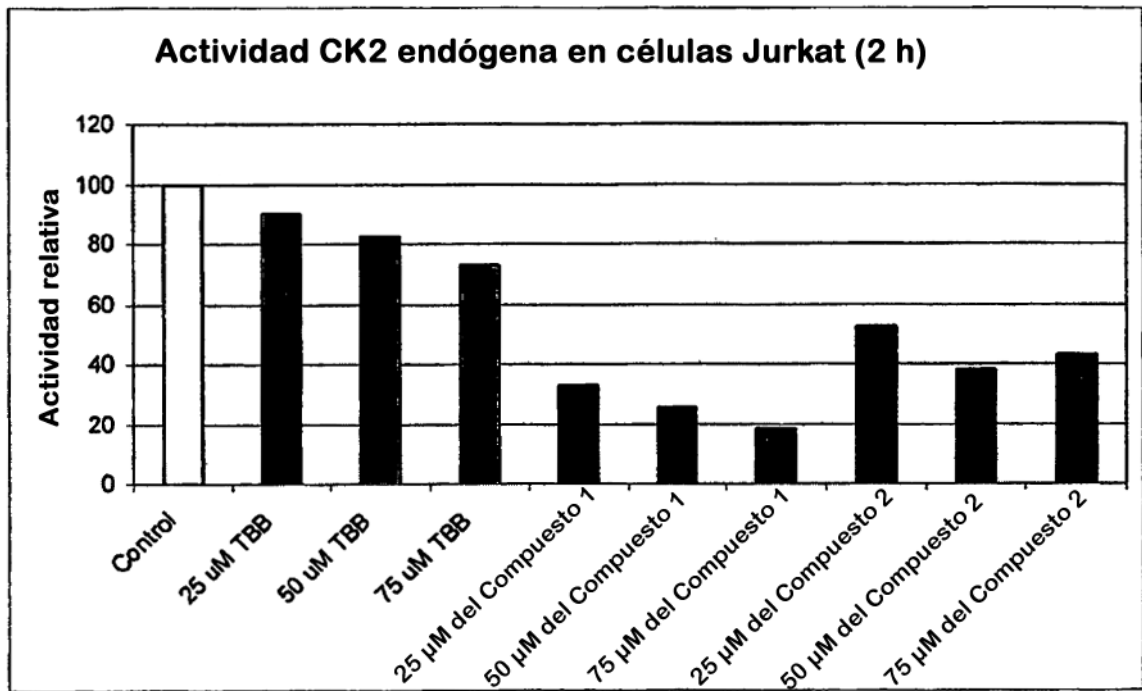


FIGURA 1

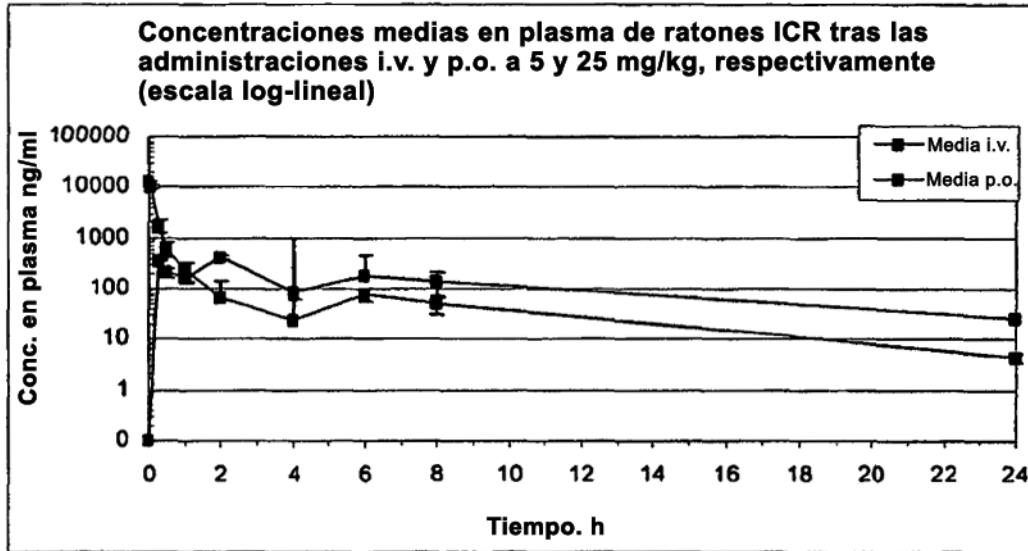


FIGURA 2A

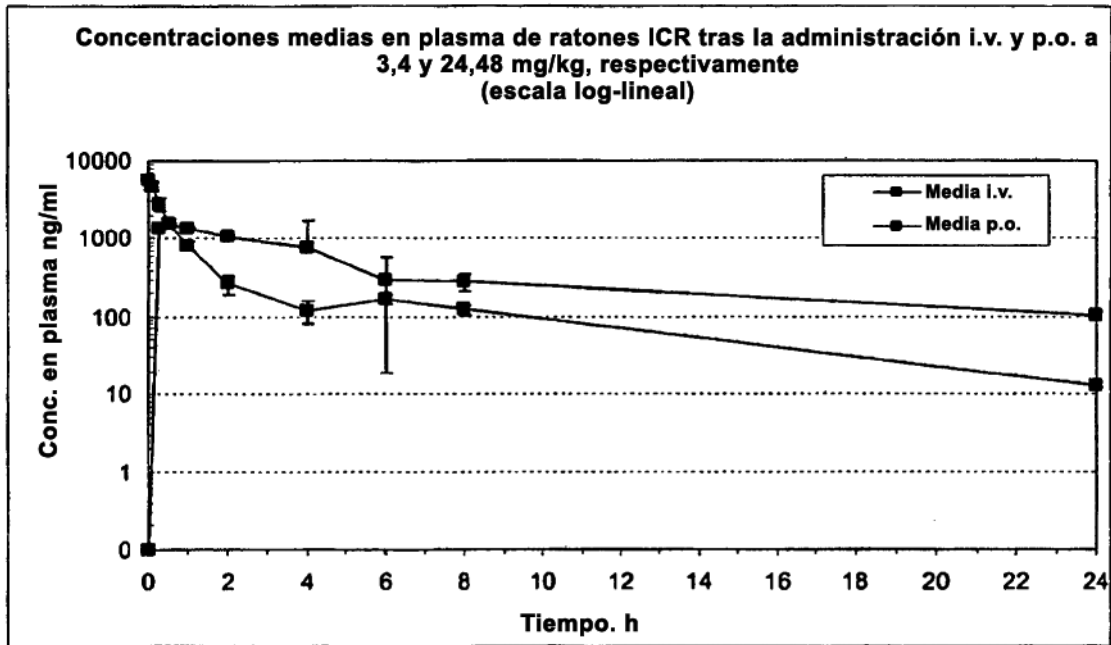


FIGURA 2B

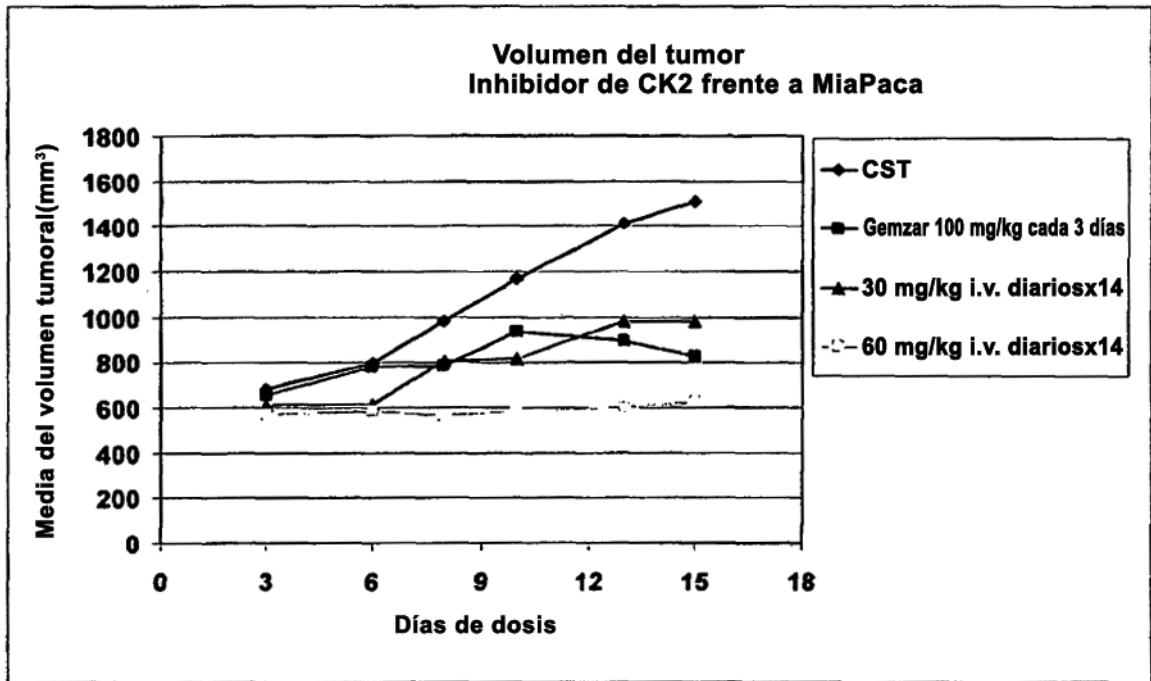


FIGURA 3A

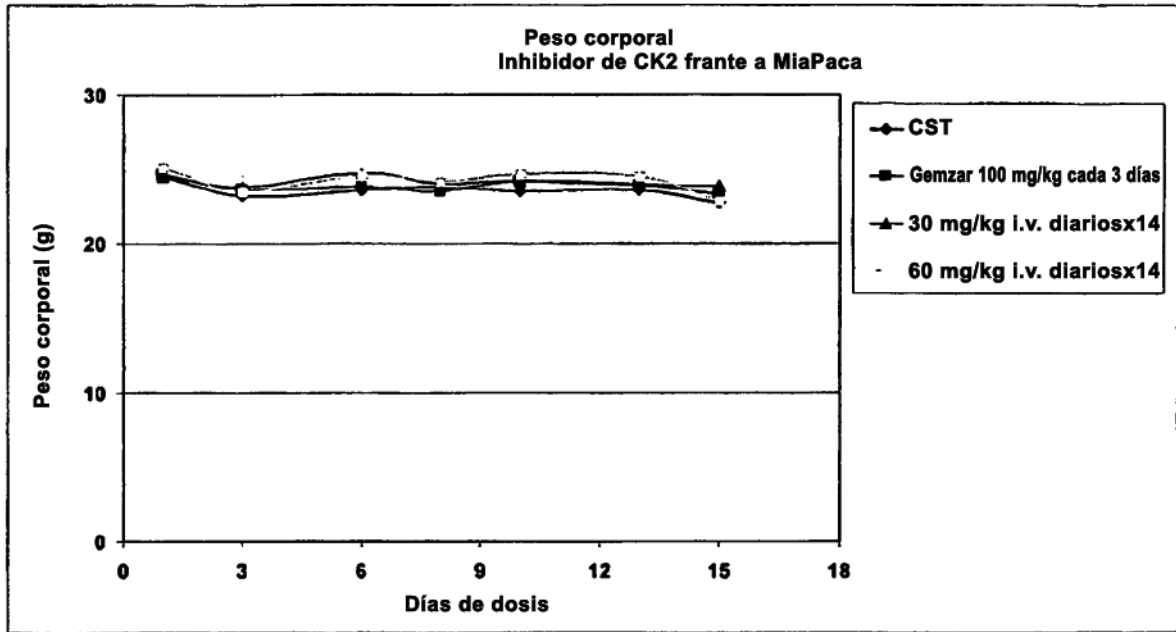


FIGURA 3B



FIGURA 3C

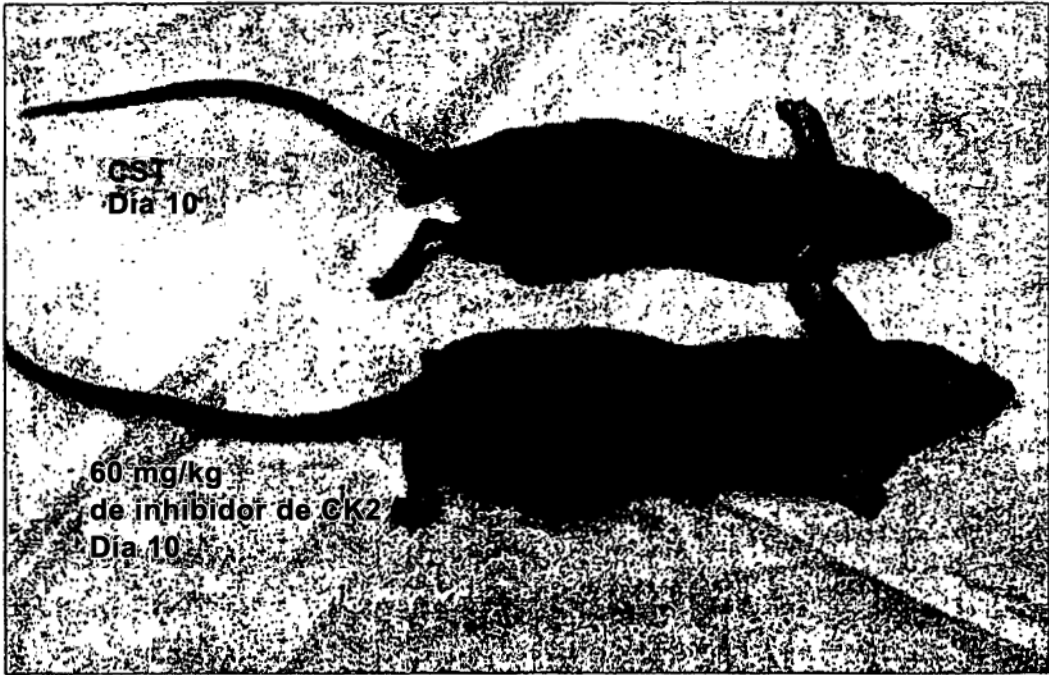


FIGURA 3D

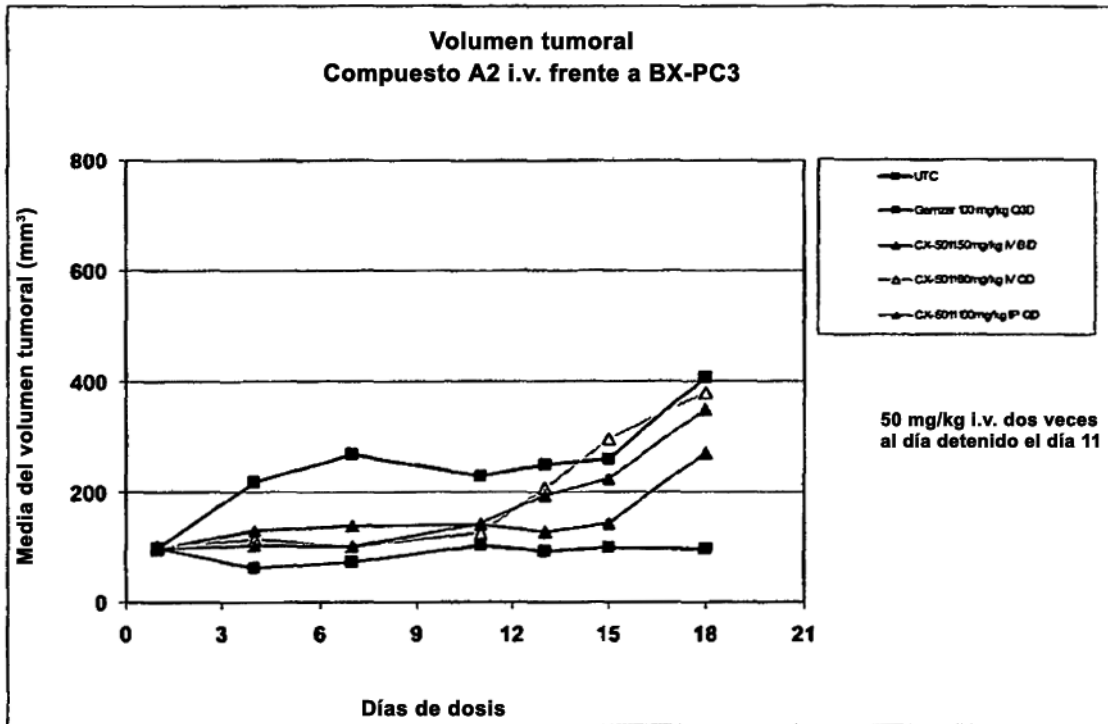


FIGURA 4A

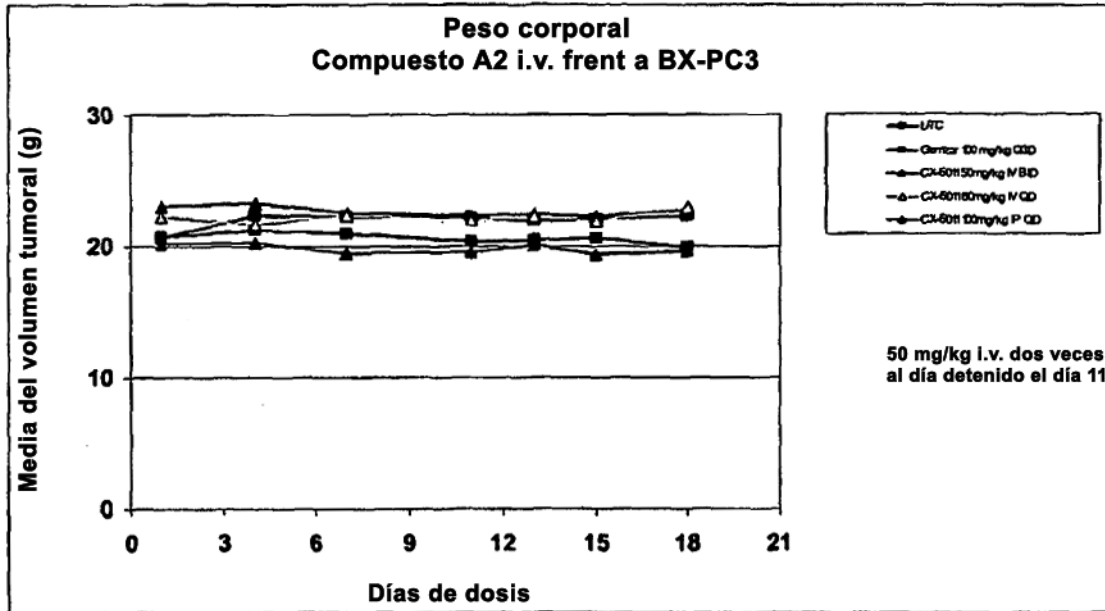


FIGURA 4B