

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 559 779**

51 Int. Cl.:

C07D 495/04 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.08.2004 E 04768197 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.12.2015 EP 1675861**

54 Título: **Compuestos de pirimidotiofeno**

30 Prioridad:

29.08.2003 GB 0320300

02.12.2003 GB 0327924

29.06.2004 GB 0414467

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

15.02.2016

73 Titular/es:

VERNALIS (R&D) LIMITED (33.3%)

100 Berkshire Place, Wharfedale Road

Winnersh , Berkshire RG41 5RD , GB;

CANCER RESEARCH TECHNOLOGY LIMITED

(33.3%) y

THE INSTITUTE OF CANCER RESEARCH (33.3%)

72 Inventor/es:

DYMOCK, BRIAN WILLIAM;

DRYSDALE, MARTIN JAMES;

FROMONT, CHRISTOFE;

JORDAN, ALLAN y

BARRIL-ALONSO, XAVIER

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 559 779 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de pirimidotiofeno

Esta invención se refiere a compuestos de tieno[2,3-d]pirimidina bicíclicos sustituidos (en adelante denominados como "pirimidotiofeno") que tienen actividad inhibidora HSP90, a estos compuestos para el uso en medicina, en relación con enfermedades que son responsables de la inhibición de la actividad HSP90 tales como cánceres, y a composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos.

Fundamento de la invención

Las chaperonas moleculares mantienen el plegado y conformación apropiada de proteínas y son cruciales en la regulación del equilibrio entre síntesis y degradación de proteínas. Se ha mostrado que son importantes en la regulación de muchas funciones celulares importantes, tales como proliferación y apoptosis celular (Jolly y Morimoto, 2000; Smith et al., 1998; Smith, 2001).

Proteínas de choque térmico (PCT)

La exposición de las células a un número de estreses ambientales, que incluyen choque térmico, alcoholes, metales pesados y estrés oxidativo, da por resultado la acumulación celular de un número de chaperonas, normalmente conocidas como proteínas de choque térmico (PCT). La inducción de PCT protege la célula frente a un ataque de estrés inicial, mejora la recuperación y lleva al mantenimiento de un estado tolerante al estrés. También se ha visto claro, sin embargo, que ciertas PCT pueden jugar también un papel de chaperona molecular principal bajo condiciones libres de estrés, normales, regulando el plegado, degradación, localización y función correctos, de una lista creciente de proteínas celulares importantes.

Un número de familias multigen de PCT existen, con productos génicos individuales que varían en la expresión celular, la función y la localización. Se clasifican según el peso molecular, por ejemplo, HSP70, HSP90 y HSP27. Varias enfermedades en seres humanos pueden adquirirse como un resultado del mal plegado de proteínas (revisado por Tytell et al., 2001; Smith et al., 1998). Por tanto el desarrollo de terapias que interrumpan la maquinaria de chaperona molecular puede probar que son beneficiosos. En algunos procesos (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, enfermedades de priones y enfermedad de Huntington), las proteínas mal plegadas pueden provocar la agregación de proteínas dando por resultado trastornos neurodegenerativos. Además, las proteínas mal plegadas pueden dar por resultado la pérdida de la función de proteína tipo salvaje, llevando a desregulado de las funciones moleculares y fisiológicas en la célula.

Las PCT han estado implicadas también en el cáncer. Por ejemplo, hay evidencia de expresión diferencial de PCT que pueden relacionarse con la etapa de la progresión tumoral (Martin et al., 2000; Conroy et al., 1996; Kawanishi et al., 1999; Jameel et al., 1992; Hoang et al., 2000; Lebeau et al., 1991). Como resultado de la implicación de HSP90 en varias rutas oncogénicas críticas y el descubrimiento de que ciertos productos naturales con actividad anticancerígena están orientados a esta chaperona molecular, se ha desarrollado el fascinante nuevo concepto de que la inhibición de la función PCT puede ser útil en el tratamiento del cáncer. El primer inhibidor de chaperona molecular se somete habitualmente a ensayos clínicos.

HSP90

El HSP90 constituye aproximadamente 1-2% de la proteína celular total, y está presente normalmente en la célula como un dímero en asociación con uno de un número de otras proteínas (véase, por ejemplo, Pratt, 1997). Es esencial para la viabilidad celular y muestra funciones duales de chaperona (Young et al., 2001). Juega un papel principal en la respuesta al estrés celular interactuando con muchas proteínas después de que su conformación nativa se haya alterado mediante diversos estreses ambientales, tales como choque térmico, asegurando el plegado adecuado de la proteína y evitando la agregación no específica (Smith et al., 1998). Además, recientes resultados sugieren que HSP90 puede jugar también un papel en el tamponado frente a los efectos de la mutación, presumiblemente corrigiendo el plegado inapropiado de proteínas mutantes (Rutherford y Lindquist, 1998). Sin embargo, HSP90 también tiene un importante papel regulador. Bajo condiciones fisiológicas normales, junto con su homólogo de retículo endoplásmico GRP94, SHP90 juega un papel de mantenimiento en la célula, manteniendo la estabilidad conformacional y la maduración de varias proteínas cliente claves. Estas pueden subdividirse en tres grupos: (a) receptores de hormona esteroidea, (b) Ser/Thr o tirosina quinasas (por ejemplo, ERBB2, RAF-1, CDK4 y LCK), y (c) un conjunto de proteínas aparentemente no relacionadas, por ejemplo, p53 mutante y la subunidad catalítica de telomerasa hTERT. Todas estas proteínas juegan papeles reguladores clave en muchos procesos fisiológicos y bioquímicos en la célula. Nuevas proteínas cliente de HSP90 se están identificando continuamente.

La familia HSP90 altamente conservada en seres humanos consiste en cuatro genes, específicamente las isoformas citosólicas HSP90 α y HSP90 β (Hickey et al., 1989), GRP94 en el retículo endoplasmático (Argon et al., 1999) y HSP75/TRAP1 en la matriz mitocondrial (Felts et al., 2000). Se cree que todos los miembros de la familia tienen un modo de acción similar, pero enlazan con diferentes proteínas cliente dependiendo de su localización en la célula. Por ejemplo, ERBB2 se conoce por ser una proteína cliente específica de GRP94 (Argon et al., 1999) y el receptor

del factor de necrosis tumoral tipo 1 (TNFR1) y RB se ha mostrado que ambos son clientes de TRAP1 (Song et al., 1995; Chen et al., 1996).

5 HSP90 participa en una serie de interacciones complejas con un intervalo de proteínas cliente y reguladoras (Smith, 2001). Aunque los detalles moleculares precisos permanecen pendientes de elucidar, los estudios bioquímicos y cristalográficos de rayos X (Prodromou et al., 1997; Stebbins et al., 1997) llevados a cabo durante los últimos años han proporcionado conocimientos cada vez más detallados en la función chaperona de HSP90.

10 Después de la anterior controversia en este tema, está ahora claro que HSP90 es una chaperona molecular dependiente de ATP (Prodromou et al, 1997), con la dimerización de los dominios de unión de nucleótidos siendo esencial para la hidrólisis de ATP, que es a su vez esencial para la función chaperona (Prodromou et al, 2000a). La unión de ATP da por resultado la formación de una estructura dimérica toroidal en que los dominios N terminales se ponen en contacto íntimo con cada uno de los otros dando por resultado un cambio conformacional conocido como el "mecanismo de sujeción" (Prodromou y Pearl, 2000b).

Inhibidores de HSP90 conocidos

15 La primera clase de inhibidores de HSP90 que se descubrió fue la clase benzoquinona ansamicina, que incluye los compuestos herbimicina A y geldanamicina. Se mostró que invertían el fenotipo maligno de los fibroblastos transformados por el oncogén *v-Src* (Uehara et al., 1985) y posteriormente mostraban potente actividad antitumoral en modelos animales tanto *in vitro* (Schulte et al., 1998) como *in vivo* (Supko et al., 1995).

20 Los estudios de inmunoprecipitación y matriz de afinidad han mostrado que el mecanismo principal de acción de la geldanamicina implica unirse a HSP90 (Whitesell et al., 1994; Schulte y Neckers, 1998). Además, los estudios cristalográficos de rayos X han mostrado que la geldanamicina compite en el sitio de unión de ATP e inhibe la actividad ATPasa intrínseca de HSP90 (Prodromou et al., 1997; Panaretou et al., 1998). Esto a su vez evita la formación de complejos de HSP90 multiméricos maduros capaces de chaperonizar proteínas cliente. Como resultado, las proteínas cliente están orientadas a la degradación por medio de la ruta de ubiquitina proteosoma. 17-Alilamio, 17-desmetoxigeldanamicina (17AAG) retiene la propiedad de la inhibición de HSP90 dando por resultado la disminución de proteína cliente y la actividad antitumoral en los modelos de cultivo celular y xenoinjerto (Schulte et al, 1998; Kelland et al, 1999), aunque tiene significativamente menos hepatotoxicidad que la geldanamicina (Page et al, 1997). 17AAG está siendo evaluada actualmente en ensayos clínicos en Fase I.

30 El radicicol es un antibiótico macrocíclico mostrado para invertir el fenotipo maligno de fibroblastos transformados por *v-Src* y *v-Ha-Ras* (Kwon et al, 1992; Zhao et al, 1995). Se mostró que degradaba un número de proteínas de señalización como una consecuencia de la inhibición de HSP90 (Schulte et al., 1998). Los datos cristalográficos de rayos X confirmaron que el radicicol también enlaza con el dominio N terminal de HSP90 e inhibe la actividad ATPasa intrínseca (Roe et al., 1998). El radicicol carece de actividad antitumoral *in vivo* debido a la naturaleza química inestable del compuesto.

35 Los antibióticos de cumarina se conocen por inhibir la ADN girasa bacteriana en un sitio de unión a ATP homólogo al del HSP90. La cumarina, novobiocina, se mostró que enlazaba al extremo carboxi de HSP90, es decir, en un sitio diferente al ocupado por las benzoquinona ansamicinas y radicicol que enlazan al extremo N (Marcu et al., 2000b). Sin embargo, esto aún dio por resultado la inhibición de la función HSP90 y la degradación de un número de proteínas de señalización chaperonadas con HSP90 (Marcu et al., 2000a). La geldanamicina no puede unirse a HSP90 tras la novobiocina; esto sugiere que alguna interacción entre los dominios N y C terminales debe existir y es coherente con la vista de que ambos sitios son importantes para las propiedades de chaperona HSP90.

40 Un inhibidor HSP90 con base de purina, PU3, se ha mostrado que da por resultado la degradación de moléculas de señalización, incluyendo ERBB2, y que provoca la detención del ciclo celular y la diferenciación en las células de cáncer de mama (Chiosis et al., 2001).

45 Las publicaciones de patente WO 2004/050087 y WO 2004/056782 se refieren a clases conocidas de derivados de pirazol que son inhibidores de HSP90.

HSP90 como una diana terapéutica

50 Debido a su implicación en la regulación de un número de rutas de señalización que son crucialmente importantes en la conducción del fenotipo de un tumor, y el descubrimiento de que ciertos productos naturales bioactivos ejercen sus efectos por medio de actividad HSP90, la chaperona molecular HSP90 se está evaluando actualmente como una nueva diana para el desarrollo de fármaco anticancerígeno (Neckers et al., 1999).

El mecanismo predominante de acción de la geldanamicina, 17AAG, y el radicicol implica la unión a HSP90 al sitio de unión de ATP situado en el dominio N terminal de la proteína, que lleva a la inhibición de la actividad ATPasa intrínseca de HSP90 (véase, por ejemplo, Prodromou et al., 1997; Stebbins et al., 1997; Panaretou et al., 1998).

La inhibición de la actividad ATPasa de HSP90 evita el reclutamiento de co-chaperonas y estimula la formación de un tipo de heterocomplejo de HSP90 a partir del cual estas proteínas cliente se dirigen para la degradación por medio de la ruta de ubiquitina proteosoma (véase, por ejemplo, Neckers et al., 1999; Kelland et al., 1999).

5 El tratamiento con inhibidores de HSP90 lleva a la degradación selectiva de proteínas importantes implicadas en la proliferación celular, regulación del ciclo celular y apoptosis, procesos que son fundamentalmente importantes en el cáncer.

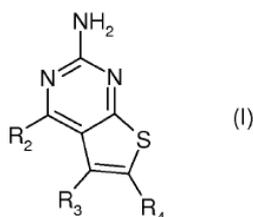
10 La inhibición de la función de HSP90 se ha mostrado que provoca la degradación selectiva de importantes proteínas de señalización implicadas en la proliferación celular, la regulación del ciclo celular y la apoptosis, procesos que son fundamentalmente importantes y que se desregulan normalmente en el cáncer (véase, por ejemplo, Hostein et al., 2001). Una razón atractiva para el desarrollo de fármacos frente a esta diana para el uso en la clínica es que disminuyendo simultáneamente proteínas asociadas con el fenotipo transformado, se puede obtener un efecto antitumoral fuerte y alcanzar una ventaja terapéutica contra el cáncer frente a células normales. Estos sucesos corriente abajo de inhibición de HSP90 se cree que son responsables de la actividad antitumoral de inhibidores de HSP90 en modelos de cultivo celular y animal (véase, por ejemplo, Schulte et al., 1998; Kelland et al., 1999).

15 Breve descripción de la invención

20 La presente invención se refiere a una clase de compuestos de tieno[2,3-d]pirimidina sustituidos (denominados en esta memoria como pirimidotiofenos) para el uso como inhibidores de HSP90, por ejemplo para la inhibición de proliferación de células cancerígenas. Un núcleo de anillo de pirimidotiofeno con sustitución aromática en un átomo de carbono anular son características que caracterizan el principio de los compuestos con los que tiene que ver la invención.

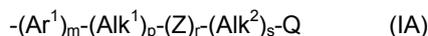
Descripción detallada de la invención

En un amplio aspecto la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal, N-óxido, hidrato o solvato del mismo en la preparación de una composición para la inhibición de la actividad de HSP90 in vitro o in vivo:



25 en donde

R₂ es un grupo de fórmula (IA):



R₂ es un grupo de fórmula (IA):



en donde

Ar¹ es un radical fenilo o heteroarilo sustituido,

Alk¹ y Alk² son radicales alquileo C₁-C₃ o alquenileno C₂-C₃ divalentes opcionalmente sustituidos,

m, p, r y s son independientemente 0 o 1,

35 Z es -O-, -S-, -(C=O)-, -(C=S)-, -SO₂-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^A-, -C(=S)NR^A-, -SO₂NR^A-, -NR^AC(=O)-, -NR^ASO₂- o -NR^A- en donde R^A es hidrógeno o alquilo C₁-C₆, y

Q es hidrógeno o un radical fenilo o cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido o un radical heterocíclico;

R₃ es hidrógeno, un sustituyente opcional, o un radical alquilo (C₁-C₆), fenilo o heteroarilo opcionalmente sustituido; y

40 R₄ es (i) un grupo éster carboxílico de fórmula -COOR^C en donde R^C es un grupo alquilo C₁-C₆ o alquenilo C₂-C₆, o un grupo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, o un grupo aril(alquil C₁-C₆)- o heteroaril(alquil C₁-C₆)- opcionalmente sustituido o un grupo cicloalquilo opcionalmente sustituido o (ii) grupo carboxamida de fórmula -CONR^B(Alk)_nR^A o un grupo sulfonamida de fórmula -SO₂NR^B(Alk)_nR^A en donde

Alk es un radical alquileo, alqueniлено o alquinileno divalente opcionalmente sustituido,

n es 0 o 1,

R^B es hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₆ o alqueniulo C₂-C₆,

R^A es hidrógeno, hidroxilo o carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido,

- 5 o R^A y R^B tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo morfolino, piperidinilo o piperazinilo que puede estar sustituido opcionalmente en uno o más átomos de C o N del anillo;

10 y en donde el término "opcionalmente sustituido" significa sustituido con al menos un sustituyente seleccionado de alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), hidroxilo, hidroxialquilo (C₁-C₆), mercapto, mercaptoalquilo (C₁-C₆), alquil (C₁-C₆) tio, halo (que incluye fluoro y cloro), trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, nitrilo (-CN), oxo, fenilo, -COOH, -COOR^A, -COR^A, -SO₂R^A, -CONH₂, -SO₂NH₂, -CONHR^A, -SO₂NHR^A, -CONR^AR^B, -SO₂NR^AR^B, -NH₂, -NHR^A, -NR^AR^B, -OCONH₂, -OCONHR^A, -OCONR^AR^B, -NHCOR^A, -NHCOOR^A, -NR^BCOOR^A, -NH₂SO₂OR^A, -NR^BSO₂OR^A, -NHCONH₂, -NR^ACONH₂, -NHCONHR^B, -NR^ACONHR^B, -NHCONR^AR^B o -NR^ACONR^AR^B en donde R^A y R^B son independientemente un grupo alquilo (C₁-C₆);

15 y en donde el término "sustituyente opcional" significa un sustituyente especificado anteriormente en la definición de "opcionalmente sustituido";

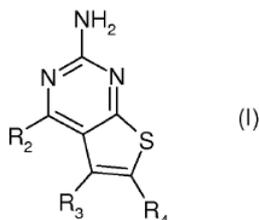
y en donde el término "heteroarilo" significa tienilo, benzotienilo, furilo, benzofurilo, pirrolilo, imidazolilo, benzimidazolilo, tiazolilo, benzotiazolilo, isotiazolilo, benzisotiazolilo, pirazolilo, oxazolilo, benzoxazolilo, isoxazolilo, benzisoxazolilo, isotiazolilo, triazolilo, benzotriazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, indolilo o indazolilo;

20 y en donde el término heterocíclico significa heteroarilo o piperidinilo, pirrolidinilo, morfolinilo o piperazinilo.

En otro amplio aspecto, la invención proporciona compuestos para el uso en el tratamiento de enfermedades que son responsables de la inhibición de la actividad de HSP90 en mamíferos, que comprende administrar al mamífero una cantidad de un compuesto como se define en la reivindicación 1 efectiva para inhibir dicha actividad de HSP90.

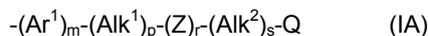
25 Los compuestos para el uso de la invención es aplicable al tratamiento de las enfermedades en que está implicada la actividad de HSP90, que incluye el uso para la inmunosupresión o el tratamiento de enfermedad viral, enfermedades inflamatorias tales como artritis reumatoides, asma, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, lupus, psoriasis y enfermedad inflamatoria del intestino; enfermedad relacionada con angiogénesis por fibrosis quística tal como retinopatía diabética, hemangiomas y endometriosis; o para la protección de células normales frente a la toxicidad inducida por quimioterapia; o enfermedades donde el fallo para experimentar apoptosis es un factor subyacente; o la protección de lesión isquémica por hipoxia debido a la elevación de Hsp70 en el corazón y el cerebro; tembladera/CJD, enfermedad de Huntington o Alzheimer. Los compuestos de la presente invención para el uso en el tratamiento de cáncer están especialmente indicados.

35 Las publicaciones WO 01/62233, Transition Metal Chemistry Vol. 19, 1994, páginas 335-339, Journal of Heterocyclic Chemistry Vol. 30, 1993, páginas 1065-1072, y Synthesis núm. 5, 1983, páginas 402-404, describen compuestos específicos que caen en la fórmula (I) anterior, o se refieren a clases de compuestos que abarcan algunos compuestos de fórmula (I). Sin embargo, la mayoría de los compuestos de fórmula (I) con los que los amplios aspectos anteriores de la invención tienen que ver se creen nuevos por su propio derecho. La invención incluye dichos nuevos compuestos, y en particular compuestos de fórmula (I), y sales, N-óxidos, hidratos o solvatos de los mismos:



40 en donde

R₂ es un grupo de fórmula (IA):



en donde

Ar¹ es un radical fenilo o heteroarilo opcionalmente sustituido,

Alk¹ y Alk² son radicales alquileo C₁-C₃ o alquenileno C₂-C₃ divalentes opcionalmente sustituidos,

m, p, r y s son independientemente 0 o 1,

5 Z es -O-, -S-, -(C=O)-, -(C=S)-, -SO₂-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^A-, -C(=S)NR^A-, -SO₂NR^A-, NR^AC(=O)-, -NR^ASO₂- o -NR^A- en donde R^A es hidrógeno o alquilo C₁-C₆, y

Q es hidrógeno o un radical fenilo o cicloalquilo C₃-C₈ o radical heterocíclico opcionalmente sustituidos;

R₃ es hidrógeno, un sustituyente opcional, o un radical alquilo (C₁-C₆), arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido; y

10 R₄ es (i) un grupo éster carboxílico de fórmula -COOR^C en donde R^C es un grupo alquilo C₁-C₆ o alquenilo C₂-C₆, o un grupo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, o un grupo aril(alquil C₁-C₆)- o heteroaril(alquil C₁-C₆) opcionalmente sustituido o un grupo cicloalquilo opcionalmente sustituido o (ii) grupo carboxamida de fórmula -CONR^B(Alk)_nR^A o un grupo sulfonamida de fórmula -SO₂NR^B(Alk)_nR^A en donde

Alk es un radical alquileo, alquenileno o alquinileno divalente opcionalmente sustituido,

n es 0 o 1,

R^B es hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₆ o alquenilo C₂-C₆,

15 R^A es hidrógeno, hidroxilo o carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido,

o R^A y R^B tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo morfolino, piperidinilo o piperazinilo que puede estar opcionalmente sustituido en uno o más átomos de C o N del anillo;

20 con tal que (i) R₃ no sea -NH₂ y (ii) cuando R₄ es -COOCH₃ y R₃ es hidrógeno entonces R₂ no es -NH₂, etilamino, dietilamino, fenilamino, -N(Ph)(C₂H₅) en donde Ph es fenilo, pirrolidin-1-ilo o morfolin-4-ilo y (iii) cuando R₄ es -CONH₂ y R₃ es hidrógeno entonces R₂ no es -NH₂;

y en donde los términos "opcionalmente sustituido", "sustituyente opcional", "heteroarilo" y "heterocíclico" se definen anteriormente.

Como se usa en esta memoria:

El término "grupo carboxilo" se refiere a un grupo de fórmula -COOH;

25 El término "grupo éster carboxilo" se refiere a un grupo de fórmula -COOR, en donde R es un radical real o teóricamente derivado del compuesto hidroxilo ROH; y

El término "grupo carboxamida" se refiere a un grupo de fórmula -CONR_aR_b, en donde -NR_aR_b es un grupo amino (que incluye amino cíclico) real o teóricamente derivado de amoniaco o la amina HNR_aR_b,

30 El término "grupo sulfonamida" se refiere a un grupo de fórmula -SO₂NR_aR_b, en donde -NR_aR_b es un grupo amino (que incluye amino cíclico) real o teóricamente derivado de amoniaco o la amina HNR_aR_b.

Como se usa en esta memoria, el término "alquilo (C_a-C_b)" en donde a y b son números enteros se refiere a un radical alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene de a a b átomos de carbono. De este modo cuando a es 1 y b es 6, por ejemplo, el término incluye metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, n-pentilo y n-hexilo.

35 Como se usa en esta memoria, el término "radical alquileo (C_a-C_b) divalente" en donde a y b son números enteros se refiere a una cadena hidrocarbonada saturada que tiene de a a b átomos de carbono y dos valencias insatisfechas.

40 Como se usa en esta memoria el término "alquenilo (C_a-C_b)" en donde a y b son números enteros se refiere a un resto alquenilo de cadena lineal o ramificada que tiene de a a b átomos de carbono que tiene al menos un doble enlace de estequiometría E o Z donde sea aplicable. El término incluye, por ejemplo, vinilo, alilo, 1- y 2-butenilo y 2-metil-2-propenilo.

Como se usa en esta memoria el término "radical alquenileno (C_a-C_b) divalente" se refiere a una cadena de hidrocarburo que tiene de a a b átomos de carbono, al menos un doble enlace, y dos valencias insatisfechas.

45 Como se usa en esta memoria el término "cicloalquilo" se refiere a un radical carbocíclico saturado que tiene de 3-8 átomos de carbono e incluye, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo.

Como se usa en esta memoria el término “cicloalquenilo” se refiere a un radical carbocíclico que tiene de 3-8 átomos de carbono que contiene al menos un doble enlace, e incluye, por ejemplo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo y ciclooctenilo.

5 Como se usa en esta memoria, el término “arilo” se refiere a un radical aromático mono, bi o tricíclico. Son ilustrativos de dichos radicales fenilo, bifenilo y naftilo.

Como se usa en esta memoria el término “carbocíclico” se refiere a un radical cíclico cuyos átomos del anillo son todos carbonos, e incluye radicales arilo monocíclico, cicloalquilo y cicloalquenilo.

10 Como se usa en esta memoria el término “heteroarilo” se refiere a un radical aromático mono, bi o tricíclico que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de S, N y O. Son ilustrativos de dichos radicales tienilo, benzotienilo, furilo, benzofurilo, pirrolilo, imidazolilo, benzimidazolilo, tiazolilo, benzotiazolilo, isotiazolilo, benzisotiazolilo, pirazolilo, oxazolilo, benzoxazolilo, isoxazolilo, benzisoxazolilo, isotiazolilo, triazolilo, benzotriazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, indolilo e indazolilo.

15 Como se usa en esta memoria el término no cualificado “heterociclilo” o “heterocíclico” incluye “heteroarilo” como se define anteriormente, y en particular se refiere a un radical no aromático mono, bi o tricíclico que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de S, N y O, y a grupos que consisten en un radical no aromático monocíclico que contiene uno o más heteroátomos que está unido de forma covalente a otro radical tal o a un radical carbocíclico monocíclico. Son ilustrativos de dichos radicales los grupos pirrolilo, furanilo, tienilo, piperidinilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, pirazolilo, piridinilo, pirrolidinilo, pirimidinilo, morfolinilo, piperazinilo, indolilo, morfolinilo, benzofuranilo, piranilo, isoxazolilo, benzimidazolilo, metilendioxifenilo, etilendioxifenilo, maleimido y succinimido.

25 A menos que se especifique otra cosa en el contexto en que se da, el término “sustituido” como se aplica a cualquier resto en esta memoria significa sustituido con al menos un sustituyente, por ejemplo seleccionado de alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), hidroxilo, hidroxialquilo (C₁-C₆), mercapto, mercaptoalquilo (C₁-C₆), alquil (C₁-C₆) tio, halo (que incluye fluoro y cloro), trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, nitrilo (-CN), oxo, fenilo, -COOH, -COOR^A, -COR^A, -SO₂R^A, -CONH₂, -SO₂NH₂, -CONHR^A, -SO₂NHR^A, -CONR^AR^B, -SO₂NR^AR^B, -NH₂, -NHR^A, -NR^AR^B, -OCNH₂, -OCONHR^A, -OCONR^AR^B, -NHCOR^A, -NHCOOR^A, -NR^BCOOR^A, -NHSO₂OR^A, -NR^BSO₂OR^A, -NHCONH₂, -NR^ACONH₂, -NHCONHR^B, -NR^ACONHR^B, -NHCONR^AR^B o -NR^ACONR^AR^B en donde R^A y R^B son independientemente un grupo alquilo (C₁-C₆). Un “sustituyente opcional” puede ser uno de los grupos sustituyentes precedentes.

30 Como se usa en esta memoria el término “sal” incluye sales de adición de base, de adición de ácido y cuaternarias. Los compuestos de la invención que son ácidos pueden formar sales, que incluyen sales farmacéuticamente o veterinariamente aceptables, con bases tales como hidróxidos de metal alcalino, por ejemplo, hidróxidos de sodio y potasio; hidróxidos de metal alcalinotérreo, por ejemplo, hidróxidos de calcio, bario y magnesio; con bases orgánicas por ejemplo, N-etilpiperidina, dibencilamina y similares. Los compuestos (I) que son básicos pueden formar sales, que incluyen sales farmacéuticamente o veterinariamente aceptables con ácidos inorgánicos, por ejemplo, con ácidos hidrohálidos tales como ácidos clorhídrico o bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico o ácido fosfórico y similares, y con ácidos orgánicos por ejemplo, con ácidos acético, tartárico, succínico, fumárico, maleico, málico salicílico, cítrico, metanosulfónico y p-toluensulfónico y similares.

Para una revisión en sales adecuadas, véase Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use por Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

40 El término “solvato” se usa en esta memoria para describir un complejo molecular que comprende el compuesto de la invención y una cantidad estequiométrica de una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, etanol. El término “hidrato” se emplea cuando dicho disolvente es agua.

45 Los compuestos con los que tiene que ver la invención que pueden existir en una o más formas estereoisoméricas, por la presencia de átomos asimétricos o restricciones rotacionales, pueden existir como un número de estereoisómeros con estereoquímica R o S en cada centro quiral o como atropisómeros con estereoquímica R o S en cada eje quiral. La invención incluye todos los enantiómeros y diastereoisómeros dichos y mezclas de los mismos.

50 Los así llamados “pro-fármacos” de los compuestos de fórmula (I) que pueden tener poca o ninguna actividad farmacológica por sí mismos pueden, cuando se administran en o sobre el cuerpo, convertirse en compuestos de fórmula (I) que tienen la actividad deseada, por ejemplo, por escisión hidrolítica. Información adicional en el uso de profármacos puede encontrarse en Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14, ACS Symposium Series (T. Higuchi y W. Stella) y Bioreversible Carriers in Drug Design, Pergamon Press, 1987 (ed. E.B. Roche, American Pharmaceutical Association).

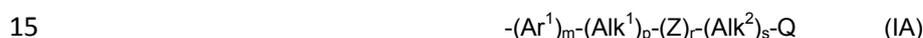
55 Los profármacos pueden, por ejemplo, producirse sustituyendo funcionalidades apropiadas presentes en los compuestos de fórmula (I) con ciertos restos conocidos por los expertos en la técnica como “pro-restos” como se describe, por ejemplo, en Design of Prodrugs de H. Bundgaard (Elsevier, 1985).

Los metabolitos de compuestos de fórmula (I), es decir, compuestos formados *in vivo* por la administración del fármaco, incluyen

- (i) donde el compuesto de fórmula (I) contiene un grupo metilo, un derivado hidroximetilo del mismo (-CH₃ -> -CH₂OH);
- 5 (ii) donde el compuesto de fórmula (I) contiene un grupo alcoxi, un derivado hidroxilo del mismo (-OR -> -OH);
- (iii) donde el compuesto de fórmula (I) contiene un grupo amino terciario, un derivado amino secundario del mismo (-NR¹R² -> -NHR¹ o -NHR²);
- (iv) donde el compuesto de fórmula (I) contiene un grupo amino secundario, un derivado primario del mismo (-NHR¹ -> -NH₂);
- 10 (v) donde el compuesto de fórmula (I) contiene un resto fenilo, un derivado fenol del mismo (-Ph -> -PhOH); y
- (vi) donde el compuesto de fórmula (I) contiene un grupo amida, un derivado de ácido carboxílico del mismo (-CONH₂ -> -COOH).

El radical R₂

Como se expone, R₂ es un grupo de fórmula (IA):



como se define en la reivindicación 1.

Cuando está presente en el radical R₂,

Ar¹ puede ser, por ejemplo, un anillo fenilo o piridilo. Actualmente se prefiere que Ar¹, cuando está presente, por un anillo fenilo;

- 20 Alk¹ y Alk² pueden ser, por ejemplo, radicales divalentes sustituidos opcionalmente seleccionados de -CH₂, CH₂CH₂- o -CH=CH-. Sustituyentes opcionales en Alk¹ y Alk² incluyen, por ejemplo mono o di(alquil C₁-C₃)amino y alcoxi C₁-C₃; y

Z puede ser, por ejemplo, -O- o -NH-; y Q es hidrógeno.

- 25 En una subclase sencilla de compuestos con los que tiene que ver la invención, m es 1 y cada uno de p, r y s es 0, y Q es hidrógeno, de manera que R₂ es fenilo o heteroarilo opcionalmente sustituido. En dichos casos, R₂ puede ser, por ejemplo, fenilo, 2- o 3-tienilo, 2- o 3-furanilo, 2-, 3- o 4-piridinilo, morfolinilo o piperidinilo, opcionalmente sustituido. Se prefieren actualmente compuestos en donde R₂ es fenilo opcionalmente sustituido, por ejemplo donde los sustituyentes opcionales se seleccionan de metilo, etilo, n- o isopropilo, vinilo, alilo, metoxi, etoxi, n-propiloxi, benciloxi, aliloxi, cianometoxi cloro, bromo, ciano, formilo, metil-, etil- o n-propil-carboniloxi, metil- o etilaminocarbonilo. Más grupos sustituyentes complejos que pueden estar presentes en el anillo R₂ incluyen aquellos
- 30 (i) de fórmula -O(CH₂)_nZ¹ en donde n es 1, 2 o 3 y Z¹ es un grupo amino primario, secundario, terciario o cíclico, o un grupo alcoxi C₁-C₆; o (ii) de fórmula -(Alk³)_mZ¹ en donde Alk³ es un alqueno (C₁-C₃) divalente de cadena lineal o ramificada, m es 0 o 1, y Z¹ es un grupo amino primario, secundario, terciario o cíclico, o un grupo alcoxi C₁-C₆. Las posiciones de sustitución preferidas en el anillo fenilo son las posiciones 2, 4 y 5.

- 35 En otras estructuras sencillas, m es 1, p, r y s son de nuevo cada una 0, y Q es como se define en la reivindicación 1, por ejemplo, anillo fenilo, ciclohexilo, piridilo, morfolino, piperidinilo o piperazinilo. En dichos casos, Q es un sustituyente directo en el anillo Ar¹ opcionalmente sustituido.

- 40 En estructuras más complejas con que tiene que ver la invención, uno o más de m, p, r y s pueden ser 1, y Q es como se define en la reivindicación 1. Por ejemplo, p y/o s puede ser 1 y r puede ser 0, de manera que Q está unido a Ar¹ por un radical alqueno o alquenileno, por ejemplo un radical alqueno C₁-C₃, que está opcionalmente sustituido. En otros casos cada uno de p, r y s puede ser 1, en cuyo caso, Q está unido a Ar¹ por un radical alqueno o alquenileno que está interrumpido por el radical Z que contiene heteroátomo. En aún otros casos, p y s puede ser 0 y r puede ser 1, en cuyo caso Q está unido a Ar¹ por medio del radical Z que contiene heteroátomo.

- 45 Ejemplos específicos de grupos R₂ útiles en compuestos de la invención incluyen los presentes en los compuestos de los Ejemplos en esta memoria.

El sustituyente opcional R₃

R₃ es hidrógeno o un sustituyente opcional, como se define anteriormente. Actualmente se prefiere que R₃ sea hidrógeno.

El grupo R₄

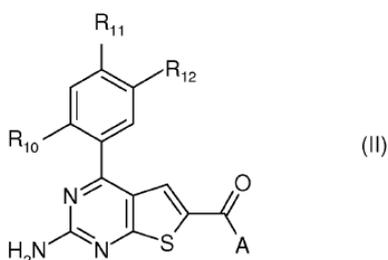
R₄ se define en la reivindicación 1.

Actualmente se prefiere que R₄ sea un grupo carboxamida.

5 Cuando R₄ es un grupo éster carboxílico, los ejemplos incluyen los de fórmula –COOR^C en donde R^C es un grupo alquilo C₁-C₆ o alqueniilo C₂-C₆, por ejemplo metilo, etilo, n- o iso-propilo o alilo; o un grupo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, por ejemplo fenilo, piridilo o tiazolilo, opcionalmente sustituido; o un grupo aril(alquil C₁-C₆)- o heteroaril(alquil C₁-C₆)- opcionalmente sustituido tal como bencilo o piridilmetilo; o un grupo cicloalquilo opcionalmente sustituido tal como ciclopentilo o ciclohexilo.

10 Los ejemplos específicos de grupos R₄ útiles en compuestos de la invención incluyen los presentes en los compuestos de los Ejemplos en esta memoria.

Una subclase preferida de los compuestos con los que tiene que ver la invención tiene fórmula (II)



en donde

A es un grupo amino secundario

15 R₁₀ es H, Cl, Br o CH₃;

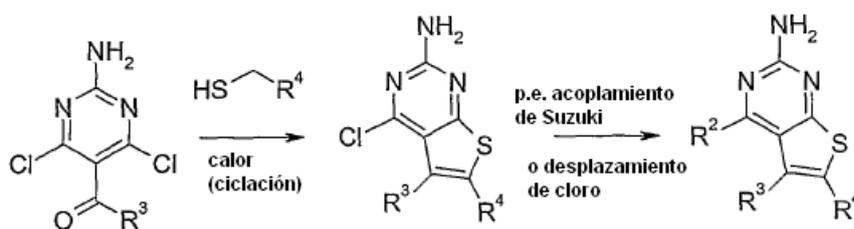
R₁₁ es hidrógeno, Cl, Br, CN, metilo, etilo, n- o iso-propilo, vinilo o alilo;

20 R₁₂ es (i) un radical de fórmula –O(CH₂)_nZ¹ en donde n es 1, 2 o 3 y Z¹ es un grupo primario, secundario, terciario o cíclico, o un grupo alcoxi C₁-C₆; o (ii) un radical de fórmula –(Alk³)_mZ¹ en donde Alk³ es un alqueniilo (C₁-C₃) divalente de cadena lineal o ramificada, m es 0 o 1, y Z¹ es un grupo amino primario, secundario, terciario o cíclico, o un grupo alcoxi C₁-C₆. En esta subclase de compuestos (II) se prefiere que A sea un grupo alquil C₁-C₆ amino secundario, por ejemplo en donde el sustituyente alquilo C₁-C₆ se selecciona de metilo, etilo y n- e iso-propilo, y R₁₂ es (i) un radical de fórmula –O(CH₂)_nZ¹ en donde n es 1, 2 o 3 y Z¹ es di(alquil C₁-C₃)amino o alcoxi C₁-C₃, por ejemplo en donde el(los) componente(s) de alquilo C₁-C₃ se selecciona(n) de metilo, etilo y n- e iso-propilo.

25 Los compuestos específicos con los que tiene que ver la invención incluyen los de los Ejemplos, particularmente los compuestos ejemplificados que tienen la estructura (II) anterior.

30 Hay múltiples estrategias sintéticas para la síntesis de los compuestos (I) con los que tiene que ver la invención, pero todos dependen de la química conocida, conocida por el químico orgánico sintético. Por consiguiente, los compuestos según la fórmula (I) pueden sintetizarse según los procedimientos descritos en la bibliografía estándar y se conocen bien por un experto en la técnica. Son fuentes bibliográficas típicas “*Advanced organic chemistry*”, 4^a edición (Wiley), J March, “*Comprehensive Organic Transformation*”, 2^a edición (Wiley), R.C. Larock, “*Handbook of Heterocyclic Chemistry*”, 2^a edición (Pergamon), A.R. Katritzky), artículos de revisión tales como los encontrados en “*Synthesis*”, “*Acc. Chem. Res.*”, “*Chem. Rev.*”, o fuentes bibliográficas primarias identificadas mediante búsquedas bibliográficas estándar en línea o a partir de fuentes secundarias tales como “*Chemical Abstracts*” o “*Beilstein*”. Dichos métodos bibliográficos incluyen los de los Ejemplos preparativos en esta memoria y métodos análogos a ellos.

Por ejemplo puede emplearse el siguiente esquema de reacción general:



El material de partida está o bien disponible comercialmente o puede hacerse según métodos bibliográficos. Las reacciones posteriores pueden llevarse a cabo en R², R³ o R⁴ para preparar compuestos adicionales de fórmula (I).

5 Los compuestos de la invención son inhibidores de HSP90 y son útiles en el tratamiento de enfermedades que son responsables de la inhibición de actividad de HSP90 tal como cánceres; enfermedades virales tal como Hepatitis C (HCV) (Waxman, 2002); inmunosupresión tal como en trasplantes (Bijlmakers, 2000 y Yorgin, 2000); enfermedades anti-inflamatorias (Bucci, 2000) tal como artritis reumatoide, asma, MS, diabetes tipo I, lupus, psoriasis y enfermedad inflamatoria del intestino; fibrosis quística (Fuller, 2000); enfermedades relacionadas con angiogénesis (Hur, 2002 y Kurebayashi, 2001): retinopatía diabética, hemangiomas, psoriasis, endometriosis y angiogénesis tumoral. También un inhibidor de Hsp90 de la invención puede proteger a las células normales frente a la toxicidad inducida por quimioterapia y ser útil en enfermedades donde el fallo para experimentar apoptosis es un factor subyacente. Dicho inhibidor de Hsp90 puede ser también útil en enfermedades donde la inducción de una respuesta de proteína al estrés celular o choque térmico podría ser beneficiosa, por ejemplo, protección de lesión isquémica por hipoxia debido a la elevación de Hsp70 en el corazón (Hutter, 1996 y Trost, 1998) y cerebro (Plumier, 1997 y Rajder, 2000). Un aumento inducido por inhibidor de Hsp90 en los niveles de Hsp70 podría ser también útil en enfermedades donde el mal plegado o agregación de proteína es un factor causal principal, por ejemplo, trastornos neurodegenerativos tales como tembladera/CJD, enfermedad de Huntington y Alzheimer (Sittler, 2001; Trazelt, 1995 y Winklhofer, 2001)".

Por consiguiente, la invención también incluye:

20 (i) Una composición farmacéutica o veterinaria que comprende un compuesto de fórmula (I) anterior, junto con un vehículo farmacéutica o veterinariamente aceptable.

(ii) El uso de un compuesto de fórmula (I) anterior en la preparación de una composición para la inhibición de actividad HSP90 in vitro o in vivo.

25 Se entenderá que el nivel de dosis específica para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, ruta de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos y el mecanismo causante y gravedad de la enfermedad particular que se somete a terapia. En general, una dosis adecuada para formulaciones administrables oralmente estará normalmente en el intervalo de 0,1 a 3000 mg, una vez, dos veces o tres veces al día, o la cantidad diaria equivalente administrada por infusión u otras rutas. Sin embargo, los niveles de dosis óptimos y frecuencia de dosificación se determinarán por ensayos clínicos como es lo convencional en la técnica.

30 Los compuestos con los que la invención tiene que ver pueden prepararse para administración por cualquier ruta consecuente con sus propiedades farmacocinéticas. Las composiciones administrables de forma oral pueden estar en forma de comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, pastillas para chupar, preparados líquidos o en gel, tales como disoluciones o suspensiones orales, tópicas o parenterales estériles. Los comprimidos y cápsulas para la administración oral pueden estar en forma de presentación de dosis unitaria, y pueden contener excipientes convencionales tales como agentes de unión, por ejemplo, jarabe, goma arábica, gelatina, sorbitol, tragacanto o polivinilpirrolidona; cargas por ejemplo lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina; lubricante para la formación de comprimidos, por ejemplo estearato de magnesio, talco, polietilenglicol o sílice; disgregantes por ejemplo almidón de patata, o agentes humectantes aceptables tal como laurilsulfato sódico. Los comprimidos pueden estar recubiertos según métodos bien conocidos en la práctica farmacéutica normal. Los preparados líquidos orales pueden estar en forma de, por ejemplo, suspensiones, disoluciones, emulsiones, jarabes o elixires acuosos u oleosos, o pueden presentarse como un producto seco para la reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Dichos preparados líquidos pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, por ejemplo sorbitol, jarabe, metilcelulosa, jarabe de glucosa, grasas comestibles hidrogenadas de gelatina; agentes emulsionantes, por ejemplo lecitina, monooleato de sorbitano o goma arábica; vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), por ejemplo aceite de almendras, aceite de coco fraccionado, ésteres oleosos tales como glicerina, propilenglicol o alcohol etílico; conservantes, por ejemplo p-hidroxibenzoato de metilo o propilo o ácido sórbico, y si se desea agentes aromatizantes o colorantes convencionales.

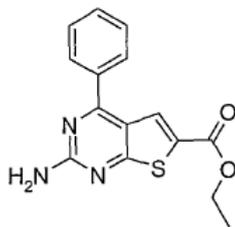
50 Para la aplicación tópica a la piel, el fármaco puede prepararse en una crema, loción o pomada. Las formulaciones en crema o pomada que pueden usarse para el fármaco son formulaciones convencionales bien conocidas en la técnica, por ejemplo como se describe en libros de texto estándar de compuestos farmacéuticos tal como la Farmacopea Británica.

55 El ingrediente activo puede administrarse también de forma parenteral en un medio estéril. Dependiendo del vehículo y la concentración usada, el fármaco puede o bien suspenderse o disolverse en el vehículo. De forma ventajosa, los adyuvantes tal como un anestésico local, conservante o agentes de tamponado pueden disolverse en el vehículo.

Los siguientes ejemplos ilustran la preparación y actividades de compuestos específicos de la invención.

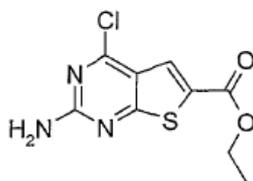
Ejemplo 1

Etiléster de ácido 2-amino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Etapa 1

5 Etiléster de ácido 2-amino-4-cloro-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

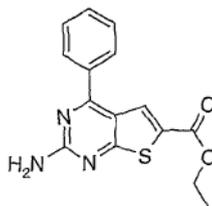


10 A una mezcla agitada de 2-amino-4,6-dicloro-5-formil-pirimidina (1 eq.) y carbonato de potasio (1 eq.) en acetonitrilo a temperatura ambiente se añadió etil-2-mercaptoacetato (0,95 eq.) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante tres horas, seguido por calentamiento a 80°C durante una hora. Después de enfriar, la mezcla se concentró hasta sequedad *al vacío*. La cromatografía en columna en sílice, eluyendo con acetato de etilo y hexanos, dio el ejemplo 1 como un polvo amarillo.

Tiempo de retención de LC-MS: 2,371 minutos, $[M+H]^+$ 258,0

Etapa 2 (Reacción de Suzuki):

Etiléster de ácido 2-amino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



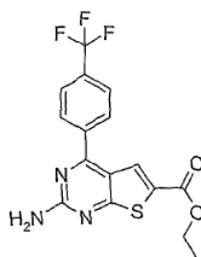
15 Una disolución del ejemplo 1 etapa 1 (1 eq.), ácido fenilborónico (1,2 eq) y carbonato sódico (1,2 eq) en 1,4-dioxano y agua (3,5:1) se desgasificó burbujeando a su través gas nitrógeno durante 5 mins. Se añadió $Pd(PPh_3)_4$ (0,05 eq.) y la mezcla se calentó en un microondas Personal Chemistry Synthesiser a 150°C durante 10 minutos. Después de enfriamiento y concentración *al vacío*, el HPLC preparativo dio el ejemplo 2 como un polvo blanco.

20 Tiempo de retención de LC-MS: 2,545 minutos, $[M+H]^+$ 300,10.

Este compuesto tenía actividad "A" en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Ejemplo 2:

Etiléster de ácido 2-amino-4-(4-trifluorometil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



preparado como para el Ejemplo 1.

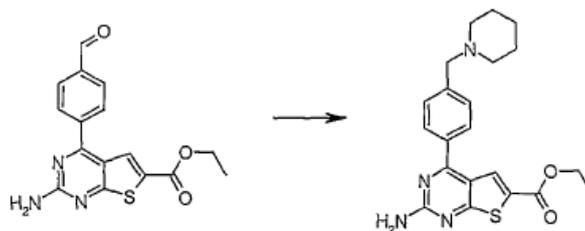
Tiempo de retención de LC-MS: 2,768 minutos, $[M+H]^+$ 368,1.

^1H RMN (400 MHz, d_6 -DMSO): δ = 1,07 (3H, t, J = 7,1 Hz), 4,09 (2H, q, J = 7,1 Hz), 7,25 (2H, br s), 7,68 (1H, s), 7,76 (2H, d, J = 8,0 Hz), 7,85 (2H, d, J = 8,0 Hz).

Este compuesto tiene actividad "B" en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Los siguientes compuestos en la Tabla 1 se sintetizaron y probaron en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación. Las reacciones de Suzuki se llevaron a cabo en el Ejemplo 1 Etapa 2. Las reacciones de aminación reductora se llevaron a cabo como para el Ejemplo 33, como sigue:

10 Etiléster de ácido 2-amino-4-(4-piperidin-1-ilmetil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (Ejemplo 33 en la Tabla 1)

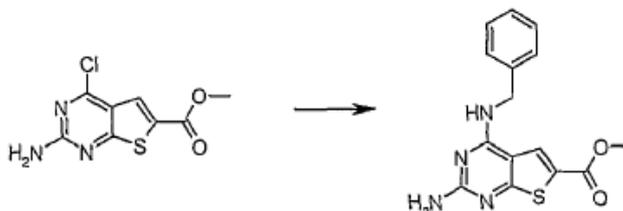


15 Se añadió piperidina (5 equiv) a una suspensión de etiléster de ácido 2-amino-4-(4-formil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (1 equiv) en metanol. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 3,5 horas después se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió borohidruro sódico (3 equiv) y se agitó durante 10 mins. La mezcla se concentró *al vacío* después se repartió entre acetato de etilo y agua. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó y se evaporó a un aceite amarillo. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativo.

Tiempo de retención de LC-MS: 1,803 minutos, $[M+H]^+$ 383.

Las reacciones de desplazamiento de cloruro se llevaron a cabo como para el Ejemplo 22 como sigue:

Metiléster de ácido 2-amino-4-bencilamino-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (Ejemplo 22 en la Tabla 1)



20 El metiléster de ácido 2-amino-4-cloro-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (100 mg, 0,39 mmoles), bencilamina (100 μ l) en 4 mL de THF se presentaron a irradiación de MO a 110°C durante 35 mins. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se elaboró (ácida) y se purificó usando condiciones estándar para un compuesto neutro.

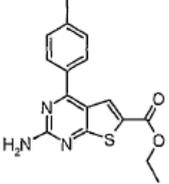
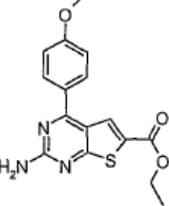
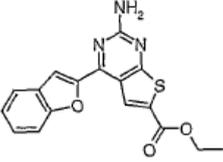
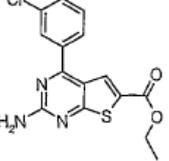
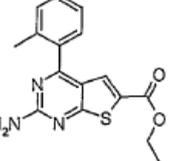
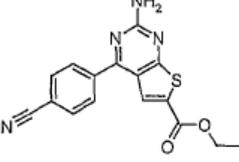
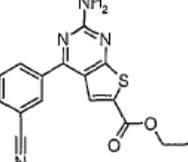
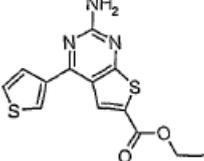
LC-MS: TR = 2,391 mins; MS m/z = 329 (M+1).

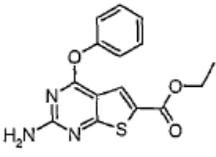
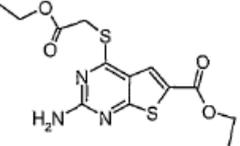
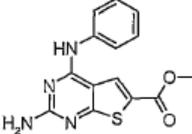
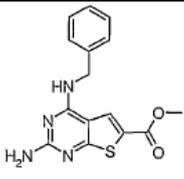
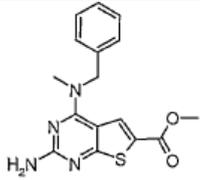
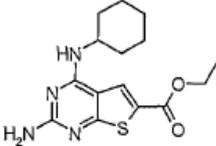
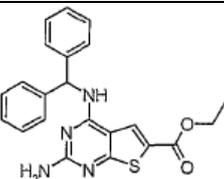
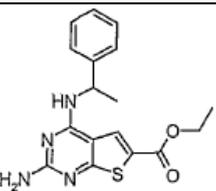
25 Nota: la intensidad y el tiempo de reacción depende de la reactividad de la amina. Por ejemplo, para aminas menos reactivas (tal como N-metilanilina), las condiciones de reacción adecuadas son MO a 160°C durante 30 mins y 0,5 mL de amina.

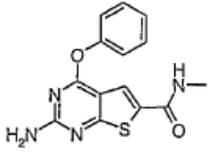
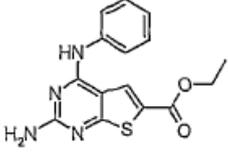
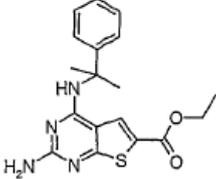
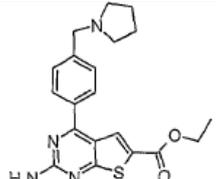
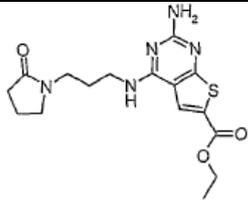
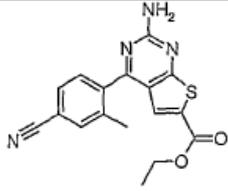
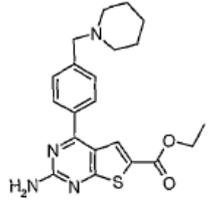
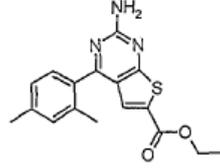
La cuarta columna de la Tabla 1 expone la actividad del compuesto en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

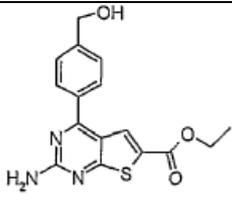
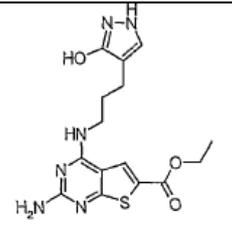
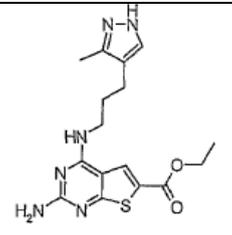
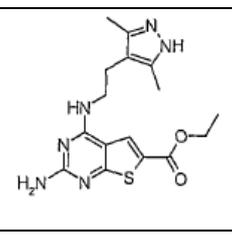
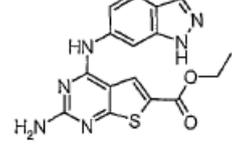
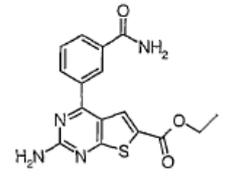
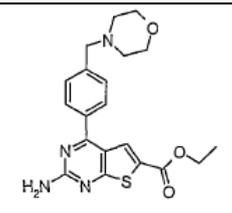
Tabla 1

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de la síntesis
3		348	A	Suzuki
4		436	A	Suzuki
5		358	B	Suzuki
6		328	A	Suzuki
7		383	B	Aminación reductora en 4-aldehído (hecha mediante reacción de Suzuki)
8		344	A	Suzuki
9		334	A	Suzuki
10		318	B	Suzuki

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de la síntesis
11		314	A	Suzuki
12		330	B	Suzuki
13		340	B	Suzuki
14		334	B	Suzuki
15		314	A	Suzuki
16		325	A	Suzuki
17		325	B	Suzuki
18		306	B	Suzuki

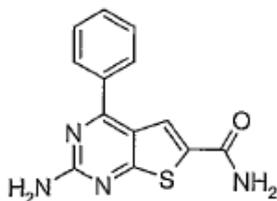
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de la síntesis
19		316	B	Desplazamiento de cloruro
20		342	B	Desplazamiento de cloruro
21		301	B	Desplazamiento de cloruro
22		315	B	Desplazamiento de cloruro
23		329	B	Desplazamiento de cloruro
24		321	B	Desplazamiento de cloruro
25		405	B	Desplazamiento de cloruro
26		343	B	Desplazamiento de cloruro

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de la síntesis
27		301	B	Desplazamiento de cloruro
28		315	B	Desplazamiento de cloruro
29		357	B	Desplazamiento de cloruro
30		383	B	Aminación reductora en 4-aldehído (hecha mediante reacción de Suzuki)
31		364	B	Desplazamiento de cloruro
32		339	A	Suzuki
33		397	B	Aminación reductora en 4-aldehído (hecha mediante reacción de Suzuki)
34		328	A	Suzuki

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de la síntesis
35		330	A	Reducción de 4-aldehído (hecha mediante reacción de Suzuki)
36		363	B	Desplazamiento de cloruro
37		361	B	Desplazamiento de cloruro
38		355	B	Desplazamiento de cloruro
39		355	B	Desplazamiento de cloruro
40		343	B	Suzuki
41		399	B	Aminación reductora en 4-aldehído (hecha mediante reacción de Suzuki)

Ejemplo 42:

Amida de ácido 2-amino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

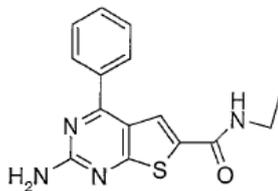


El compuesto del ejemplo 1 se suspendió en hidróxido de amonio concentrado y se calentó en un microondas Personal Chemistry Synthesiser a 140°C durante 20 minutos. La concentración *al vacío* dio el ejemplo 42 como un sólido blanco.

- 5 Tiempo de retención de LC-MS: 1,824 minutos, $[M+H]^+$ 271,10.

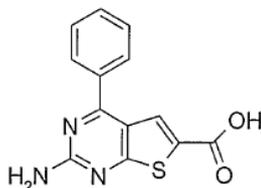
Ejemplo 43

Etilamida de ácido 2-amino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Etapla 1

- 10 Ácido 2-amino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

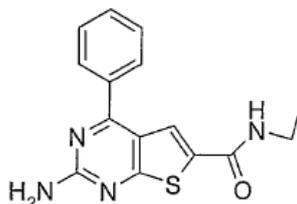


Se añadió hidróxido sódico (0,66 g; 16,5 mmoles) a una suspensión de etiléster de ácido 2-amino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (Ejemplo 1) (1,00 g; 3,34 mmoles) en etanol (20 ml) y agua (2 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora (proporcionando una disolución amarilla clara homogénea) y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se eliminaron los disolventes al vacío y el residuo sólido se disolvió en agua (30 mL) y se enfrió con baño de hielo-agua. La mezcla se agitó y se ajustó a pH 1-2 por adición en gotas de ácido clorhídrico concentrado. El precipitado resultante se filtró, se lavó con agua, después etanol y finalmente dietiléter. El producto de color crudo se secó al vacío para dar ácido 2-amino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico como un sólido incoloro (0,784 g; 87%).

- 20 TR de LC/MS = 1,845 min; m/z = 272 (M+H)+

Etapla 2

Etilamida de ácido 2-amino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 25 Se añadió hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (0,380 g, 1,0 mmol) a ácido 2-amino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (0,187 g, 0,69 mmoles). Esta mezcla se suspendió en

5 dimetilformamida (DMF) (5,0 ml) y se añadió diisopropiletilamina (0,696 ml; 4,0 mmoles) para dar una disolución amarilla. Se añadió hidrocloruro de dietilamina (0,122 g; 5,0 mmoles) y la mezcla de reacción se calentó durante diez minutos a 100°C en un vial sellado en un sintetizador de microondas. Se eliminó la DMF al vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo (30 ml) y agua (30 ml). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con disolución saturada de cloruro sódico y se secó sobre sulfato sódico. La mezcla se filtró y los disolventes del filtrado se eliminaron al vacío para dejar un sólido amarillo que se adsorbió en gel de sílice y se purificó por cromatografía rápida en gel de sílice (20 g), eluyendo con un gradiente de disolvente de 15 a 50% de acetato de etilo en hexano. Esto proporciona etilamida de ácido 2-amino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico como un sólido amarillo claro (0,051 g; 25%).

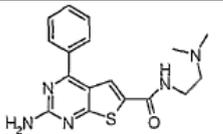
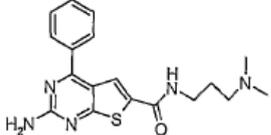
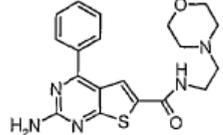
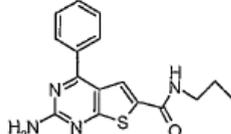
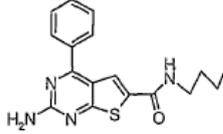
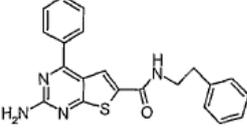
10 TR de LC/MS = 2,08 min, m/z = 299 (M+H)⁺ ¹H RMN (400 MHz, d6 DMSO) δ 1,11 (t, 3H), 3,26 (m, 2H), 7,12 (s, 2H), 7,61 (m, 3H), 7,86 (m, 2H), 8,03 (s, 1H), 8,71 (t, 1H).

El compuesto del Ejemplo 43 tenía actividad "A" en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

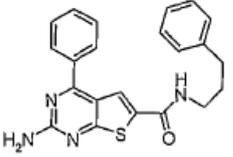
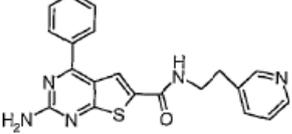
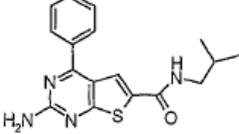
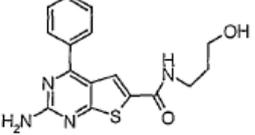
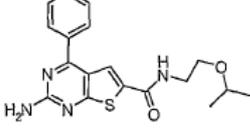
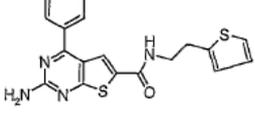
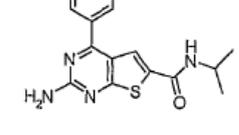
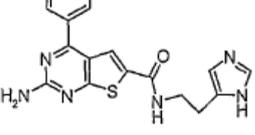
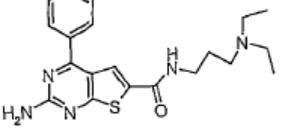
15 Los siguientes compuestos (Tabla 2) se hicieron por el método del Ejemplo 43 a partir del correspondiente éster (Tabla 1) y la amina apropiada.

La columna final de la Tabla 2 expone la actividad del compuesto en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

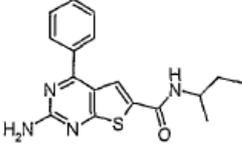
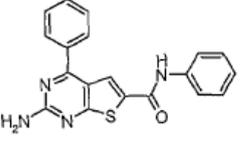
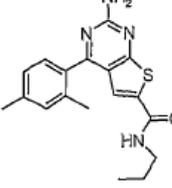
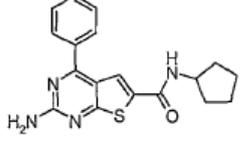
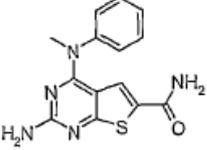
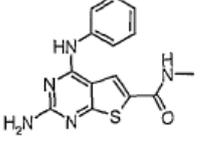
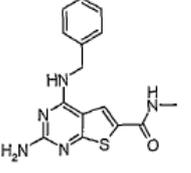
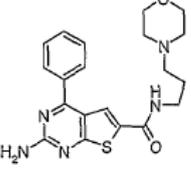
Tabla 2

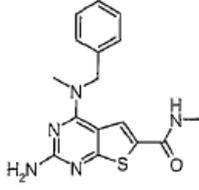
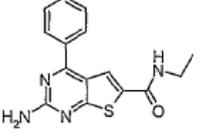
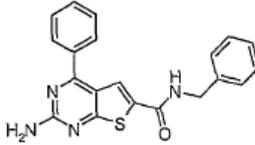
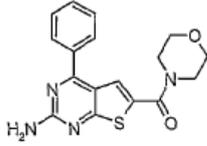
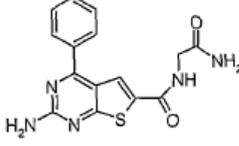
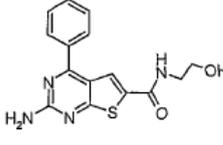
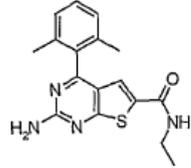
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50
44		342	A
45		356	B
46		384	B
47		313	A
48		327	B
49		375	B

ES 2 559 779 T3

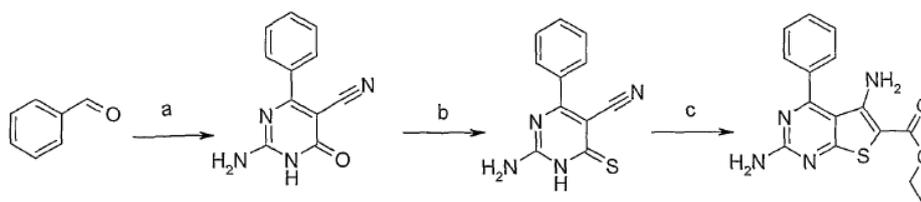
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF Cl50
50		389	B
51		376	B
52		327	B
53		329	A
54		357	A
55		381	B
56		313	A
57		365	A
58		384	B

ES 2 559 779 T3

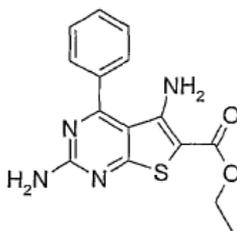
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50
59		327	B
60		347	B
61		341	A
62		339	A
63		300	B
64		300	B
65		314	B
66		398	B

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50
67		328	B
68		299	A
69		361	
70		341	B
71		328	A
72		315	A
73		327	A

Ejemplo 74

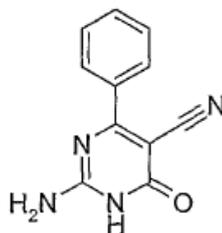


Etiléster de ácido 2,5-diamino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Etapa 1

2-Amino-6-oxo-4-fenil-1,6-dihidro-pirimidina-5-carbonitrilo



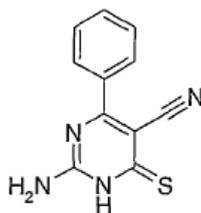
- 5 Se añadieron benzaldehído (15 g, 141,3 mmoles, 1 eq), carbonato de guanidina (25,47 g, 141,3 mmoles, 1 eq), cianoacetato de etilo (15,99 g, 141,3 mmoles, 1 eq) y acetato sódico anhidro (11,59 g, 141,3 mmoles, 1 eq) a 300 ml de piridina anhidra y se puso a reflujo durante 4 horas. La reacción se enfrió entonces a temperatura ambiente y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo marrón se trituroó con 400 ml de ácido acético acuoso (30%) y se filtró. El sólido amarillo se trituroó entonces con 300 ml de dietiléter y se filtró para dar 2-amino-6-oxo-4-fenil-1,6-dihidro-pirimidina-5-carbonitrilo como un sólido de color crudo.

10 Rendimiento: 14,46 g (48%)

Tiempo de retención de LCMS = 1,34 min, m/z calculado para $C_{11}H_9N_4O$ 213,22 (M+H), encontrado 213,1.

Etapa 2

2-Amino-4-fenil-6-tioxo-1,6-dihidro-pirimidina-5-carbonitrilo



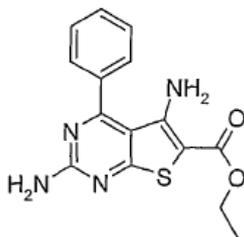
- 15 Se disolvieron 2-amino-6-oxo-4-fenil-1,6-dihidro-pirimidina-5-carbonitrilo (0,200 g, 0,942 mmoles, 1 eq) y pentasulfuro de fósforo (0,838 g, 3,770 mmoles, 4 eq) en 5 ml de piridina. La reacción se calentó a reflujo durante 2 horas, se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en 100 ml de agua. La mezcla se hirvió durante 1 hora, se enfrió a temperatura ambiente y se extrajo con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera saturada y se secaron sobre sulfato sódico anhidro. El disolvente se eliminó *al vacío* y el residuo naranja se trituroó con dietiléter para dar 2-amino-4-fenil-6-tioxo-1,6-dihidro-pirimidina-5-carbonitrilo como un sólido amarillo.

20 Rendimiento: 0,118 g (55%)

Tiempo de retención de LCMS = 1,94 min, m/z calculado para $C_{11}H_9N_4S$ 229,29 (M+H), encontrado 229,1.

Etapa 3

- 25 Etiléster de ácido 2,5-diamino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 5 Se disolvió sodio (0,010 g, 0,438 mmoles, 1 eq) en 4 ml de etanol anhidro en nitrógeno. Se añadió 2-amino-4-fenil-6-tioxo-1,6-dihidro-pirimidina-5-carbonitrilo (0,100 g, 0,438 mmoles, 1 eq) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió 2-bromoetilacetato (0,073 g, 0,438 mmoles, 1 eq). La reacción se agitó durante 30 minutos más a temperatura ambiente. Después se añadió sodio (0,010 g, 0,438 mmoles, 1 eq) disuelto en 1 ml de etanol anhidro. La reacción se puso entonces a reflujo durante 5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se apagó con agua. El precipitado se filtró y se trituró con dietiléter para dar etiléster de ácido 2,5-diamino-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico como un sólido amarillo.

Rendimiento: 0,059 g (43%)

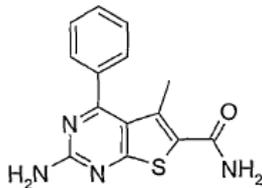
- 10 Tiempo de retención de LCMS = 2,42 min, m/z calculado para $C_{15}H_{15}N_4O_2S$ 315,38 (M+H), encontrado 315,1.

1H RMN (DMSO- d_6 , 2,50) δ 1,19 (t, 3H, $J = 7,1$), 4,13 (q, 2H, $J = 7,1$), 5,79 (bs, 2H), 7,29 (bs, 2H), 7,50-7,56 (m, 5H)

Este compuesto tenía actividad B en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Ejemplo 75

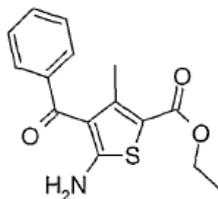
Amida de ácido 2-amino-5-metil-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



15

Etapla 1

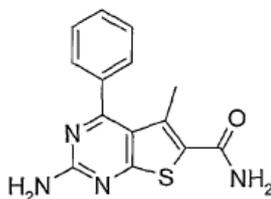
Etiléster de ácido 5-amino-4-benzoil-3-metil-tiofeno-2-carboxílico



- 20 Preparado mediante el método bibliográfico de Bryan P. McKibben, Craig H. Cartwright, Arlindo L. Castelhanos Tetrahedron Lett. 1999, 44, 5471.

Etapla 2

Amida de ácido 2-amino-5-metil-4-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Se añadió carbonato de guanidina a una disolución de éster de ácido 5-amino-4-benzoil-3-metilfenol-2-carboxílico y la suspensión se calentó, 175°C, durante ~3 hrs bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión se dejó enfriar y se añadió agua. La mezcla se extrajo con acetato de etilo, los extractos se lavaron y se secaron. La disolución se concentró y el residuo se purificó por cromatografía eluyendo con mezclas de acetato de etilo y hexano.

5

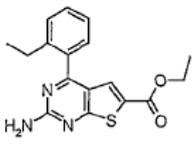
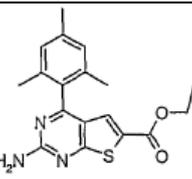
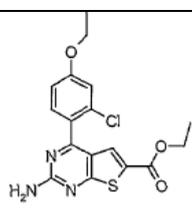
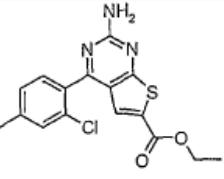
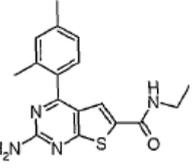
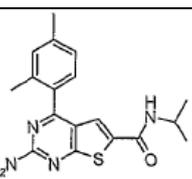
Tiempo de retención de LC 2,17 minutos [M+H]⁺ 285,1 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Este compuesto tenía actividad B en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

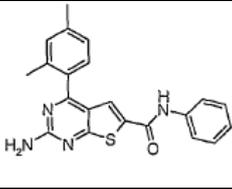
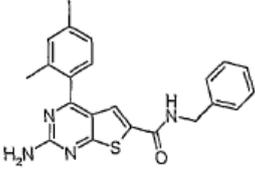
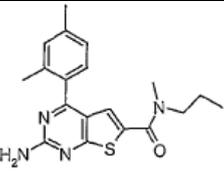
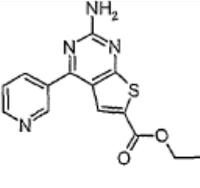
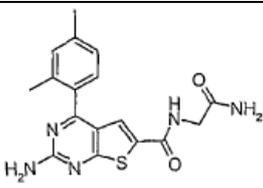
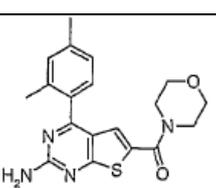
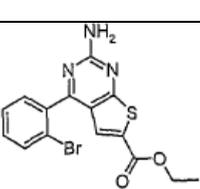
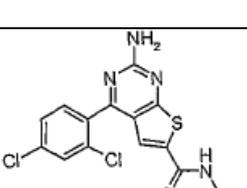
Ejemplos adicionales preparados por métodos similares a los descritos anteriormente se enumeran en la Tabla 3. La cuarta columna de la Tabla 3 expone la actividad del compuesto en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

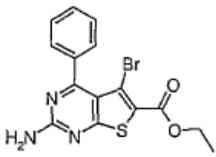
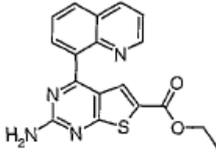
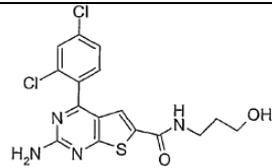
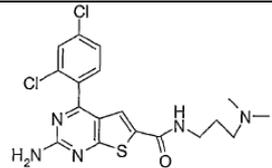
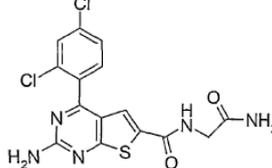
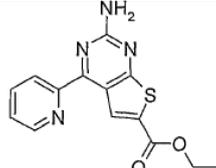
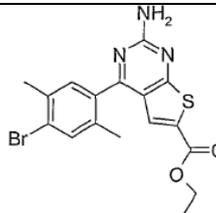
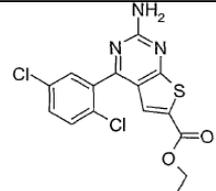
10

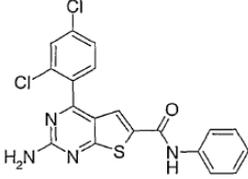
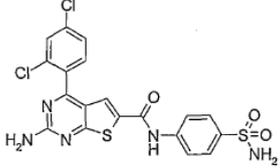
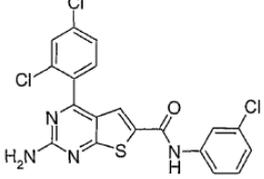
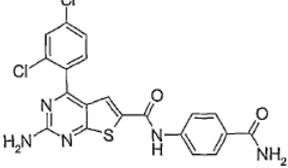
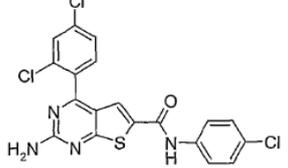
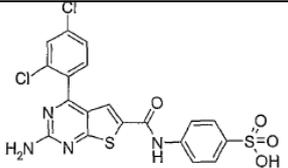
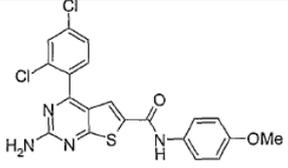
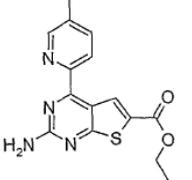
Tabla 3

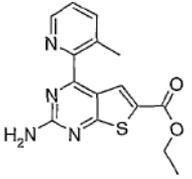
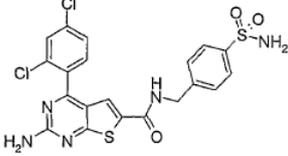
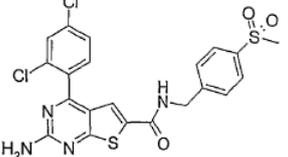
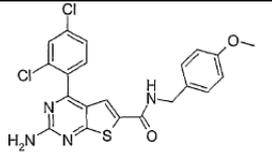
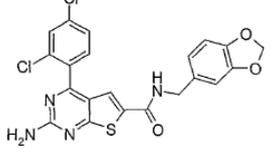
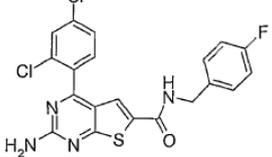
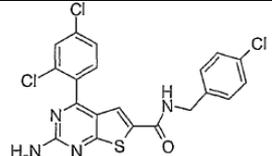
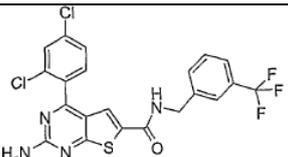
Ejemplo	Estructura	MH ⁺	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
76		328	B	Suzuki
77		342	A	Suzuki
78		378	A	Suzuki
79		348	A	Suzuki
80		327	A	Suzuki después amida
81		341	A	Suzuki después amida

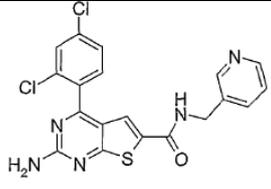
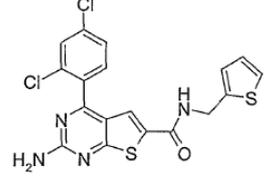
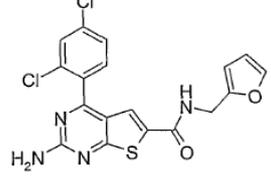
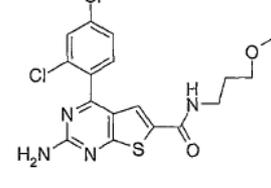
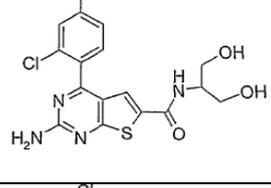
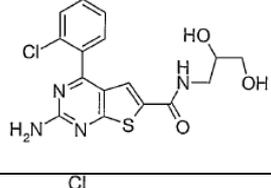
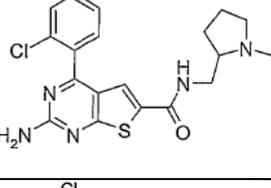
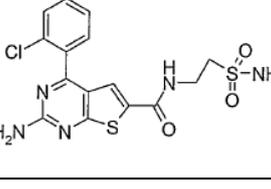
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
82		343	A	Suzuki después amida
83		384	A	Suzuki después amida
84		338	A	Suzuki después amida
85		357	A	Suzuki después amida
86		393	A	Suzuki después amida
87		328	A	Suzuki
88		328	A	Suzuki
89		367	A	Suzuki
90		420	B	Suzuki

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
91		375	A	Suzuki después amida
92		389	A	Suzuki después amida
93		355	B	Suzuki después amida
94		301	B	Suzuki
95		356	A	Suzuki después amida
96		369	B	Suzuki después amida
97		379	A	Suzuki
98		367	A	Suzuki después amida

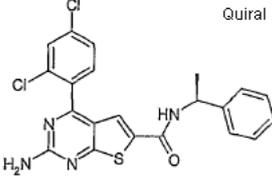
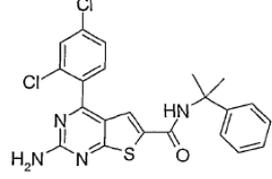
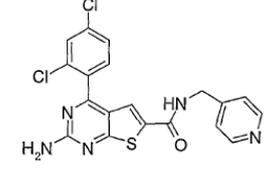
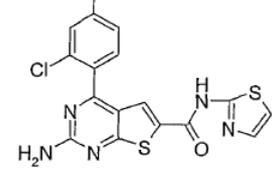
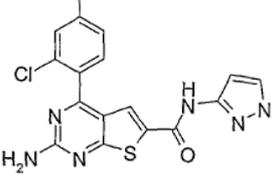
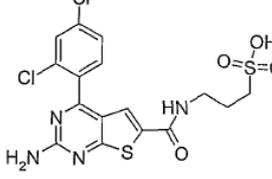
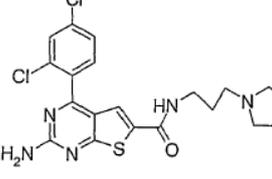
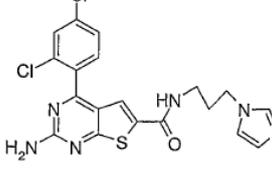
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
99		379	B	Diazotización y bromación del Ejemplo 75
100		351	B	Suzuki
101		397	A	Suzuki después amida
102		424	A	Suzuki después amida
103		396	A	Suzuki después amida
104		301	B	Suzuki
105		407	A	Suzuki
106		368	B	Suzuki

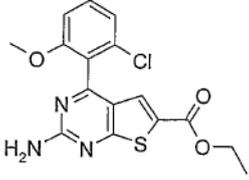
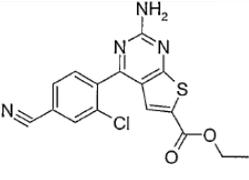
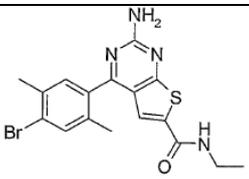
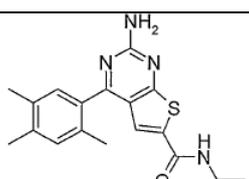
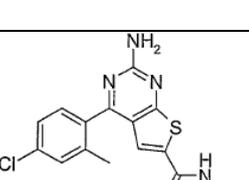
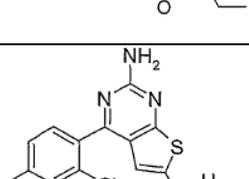
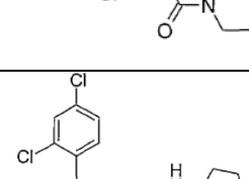
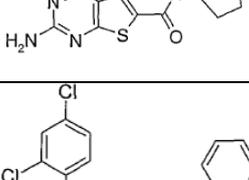
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
107		415	A	Suzuki después amida
108		494	A	Suzuki después amida
109		449	A	Suzuki después amida
110		458	A	Suzuki después amida
111		449	A	Suzuki después amida
112		495	A	Suzuki después amida
113		445	A	Suzuki después amida
114		315	A	Suzuki

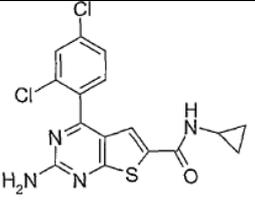
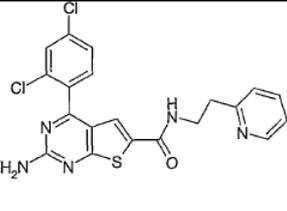
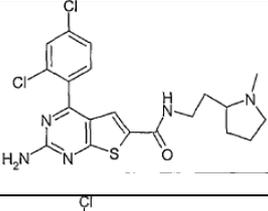
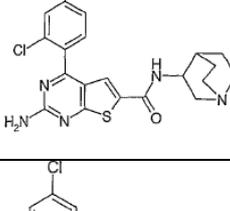
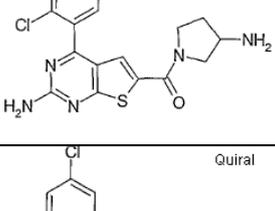
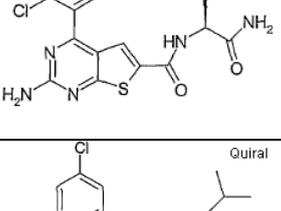
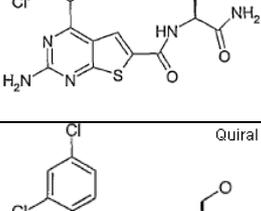
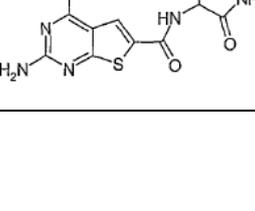
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
115		315	A	Suzuki
116		508	A	Suzuki después amida
117		507	A	Suzuki después amida
118		459	A	Suzuki después amida
119		473	A	Suzuki después amida
120		447	A	Suzuki después amida
121		463	A	Suzuki después amida
122		497	A	Suzuki después amida

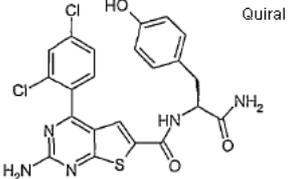
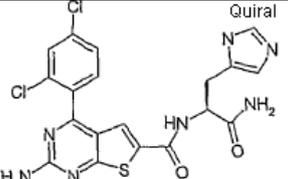
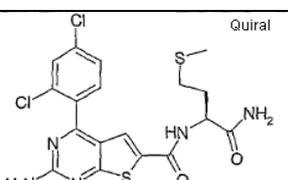
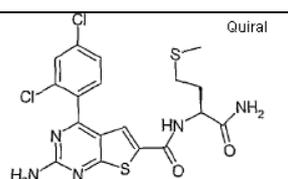
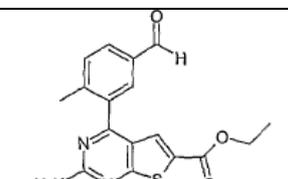
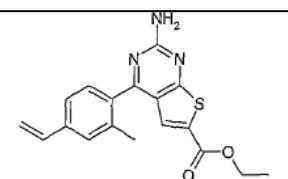
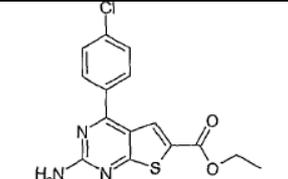
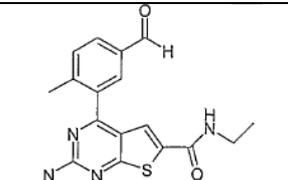
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
123		432	A	Suzuki después amida
124		435	A	Suzuki después amida
125		419	A	Suzuki después amida
126		411	A	Suzuki después amida
127		413	A	Suzuki después amida
128		413	A	Suzuki después amida
129		450	A	Suzuki después amida
130		446	A	Suzuki después amida

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
131		410	A	Suzuki después amida
132		423	A	Suzuki después amida
133		381	A	Suzuki después amida
134		421	A	Suzuki después amida
135		433	A	Suzuki después amida
136		383	A	Suzuki después amida
137		436	A	Suzuki después amida
138		443	A	Suzuki después amida

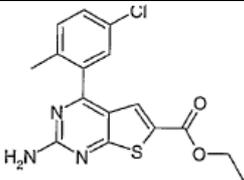
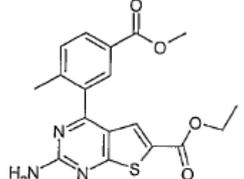
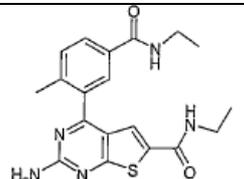
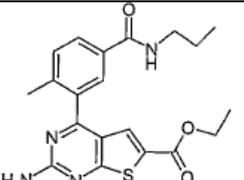
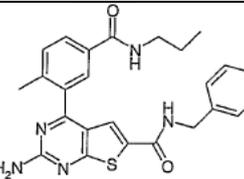
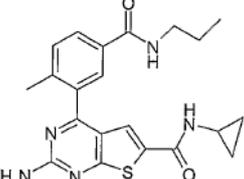
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
139		443	A	Suzuki después amida
140		457	A	Suzuki después amida
141		430	A	Suzuki después amida
142		422	A	Suzuki después amida
143		405	A	Suzuki después amida
144		461	A	Suzuki después amida
145		450	A	Suzuki después amida
146		447	A	Suzuki después amida

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
147		364	B	Suzuki
148		359	A	Suzuki
149		406	A	Suzuki después amida
150		341	A	Suzuki después amida
151		347	A	Suzuki después amida
152		347	A	Suzuki después amida
153		407	A	Suzuki después amida
154		430	A	Suzuki después amida

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
155		379	A	Suzuki después amida
156		444	A	Suzuki después amida
157		450	A	Suzuki después amida
158		448	A	Suzuki después amida
159		408	A	Suzuki después amida
160		410	A	Suzuki después amida
161		452	A	Suzuki después amida
162		426	A	Suzuki después amida

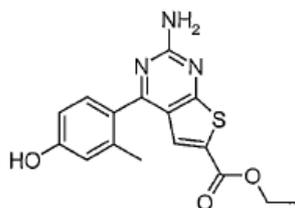
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
163		502	A	Suzuki después amida
164		476	A	Suzuki después amida
165		477	A	Suzuki después amida
166		472	A	Suzuki después amida
167		342	A	Suzuki
168		340	A	Suzuki
169		334	A	Suzuki
170		341	A	Suzuki después amida

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
171		339	A	Suzuki después amida
172		358	A	Suzuki después amida
173		333	A	Suzuki después amida
174		356	A	Suzuki
175		362	A	Suzuki
176		353	A	Suzuki después amida
177		361	A	Suzuki después amida

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
178		348	A	Suzuki
179		372	A	Suzuki
180		384	A	Suzuki después amida
181		399	A	Suzuki
182		460	B	Suzuki después amida
183		410	A	Suzuki después amida

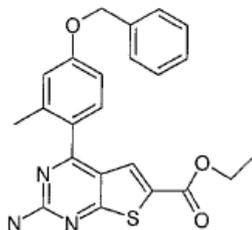
Ejemplo 184

Etiléster de ácido 2-amino-4-(4-hidroxi-2-metil-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Etapa 1

Etiléster de ácido 2-amino-4-(4-benciloxi-2-metil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

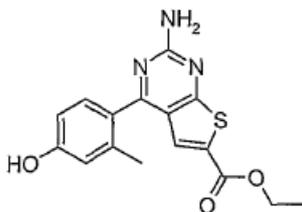


- 5 Se añadió ácido 2-metil-4-benciloxifenilborónico (225 mg, 0,93 mmoles) a etiléster de ácido 2-amino-4-cloro-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (ejemplo 1; etapa 1) (200 mg; 0,776 mmoles) en DMF (10 mL). Se añadió NaHCO₃ (disolución acuosa 1,0 M; 2,33 mL) y la mezcla se desgasificó con N₂. Se añadió Pd(PPh₃)₂Cl₂ y la mezcla de reacción se calentó a 80 grados C durante 5 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se eliminó la DMF *al vacío*. El residuo se repartió entre acetato de etilo (50 mL) y NaCl saturado (ac) (50 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, los disolventes de filtrado se eliminaron *al vacío* para proporcionar un aceite amarillo que se purificó por cromatografía de intercambio iónico (columna IST SCX-2) para proporcionar el producto como un sólido marrón-amarillo (230 mg; 71%).
- 10

Tiempo de retención de LC-MS: 2,852 minutos, [M+H]⁺ 420 (Tiempo de marcha 3,75 mins)

Etapa 2

Etiléster de ácido 2-amino-4-(4-hidroxi-2-metil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



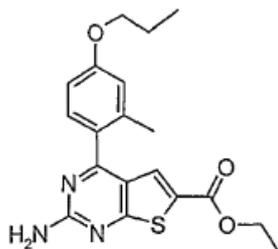
- 15 A una disolución enfriada en baño de hielo de etiléster de ácido 2-amino-4-(4-benciloxi-2-metil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (211 mg; 0,5 mmoles) en diclorometano (8 mL), se añadió BCl₃ (disolución 1,0 M en DCM; 1,51 mL; 1,5 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante 30 mins y después se añadió amoníaco acuoso (20 mL) y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (2 x 30 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, los disolventes de filtrado se eliminaron *al vacío* para proporcionar un sólido amarillo que se purificó por cromatografía rápida en gel de sílice (10 g de IST Flash, eluyendo de 10 a 40% de acetato de etilo en hexano) para proporcionar el producto como un sólido incoloro (102 mg, 62%).
- 20

Tiempo de retención de LC-MS: 2,852 minutos, [M+H]⁺ 420 (Tiempo de marcha 3,75 mins).

Este compuesto tenía actividad A en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Ejemplo 185

Etiléster de ácido 2-amino-4-(2-metil-4-propoxi-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 30 Se añadió 1-bromopropano (15 uL; 0,17 mmoles) a una disolución de etiléster de ácido 2-amino-4-(4-hidroxi-2-metil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (50 mg; 0,152 mmoles) y carbonato de potasio (25 mg; 0,18 mmoles) en DMF (15 mL). La mezcla de reacción se calentó a 50 grados C durante 18 horas. La mezcla de reacción se dejó

enfriar y el disolvente se eliminó *al vacío*. El residuo se repartió entre disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (10 mL) y acetato de etilo (20 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, los disolventes del filtrado se eliminaron *al vacío* para proporcionar un sólido amarillo purificado por cromatografía rápida en gel de sílice (eluyendo acetato de etilo en hexano) para proporcionar producto como sólido amarillo (45 mg; 80%).

5 Tiempo de retención de LC-MS: 2,821 minutos, [M+H]⁺ 372 (Tiempo de marcha 3,75 mins).

Este compuesto tenía actividad A en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

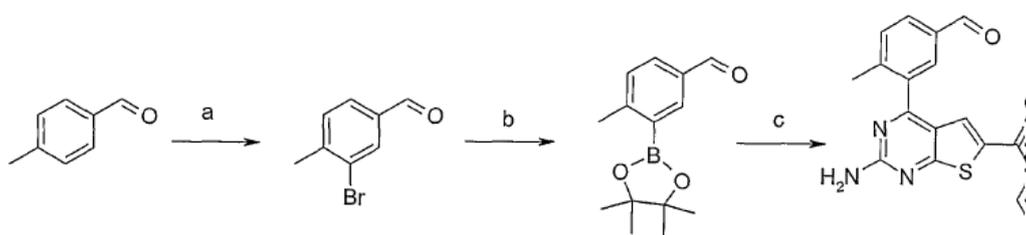
Los siguientes compuestos (Tabla 4) se hicieron por el método del Ejemplo 185, sustituyendo el agente de alquilación apropiado por bromopropano. La cuarta columna de la Tabla 4 expone la actividad del compuesto en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

10 Tabla 4

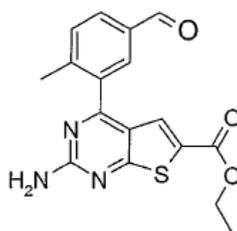
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
186		386	B	Suzuki después alquilación
187		370	A	Suzuki después alquilación
188		369	A	Suzuki después alquilación
189		386	B	Suzuki después alquilación
190		429	B	Suzuki después alquilación

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
191		387	A	Suzuki después alquilación
192		444	B	Suzuki después alquilación
193		388	B	Suzuki después alquilación
194		388	A	Suzuki después alquilación
195		415	A	Suzuki después alquilación

Ejemplo 196

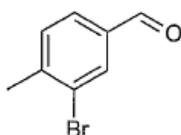


Etiléster de ácido 2-amino-4-(5-formil-2-metil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Etapa 1

3-Bromo-4-metil-benzaldehído



- 5 Preparado como se describe por Eizenber y Ammons, *Org Prep and Reactions Int.*, 6(5), 251-253 (1974) a partir de p-tolualdehído (12,00 g).

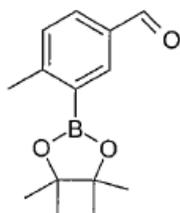
Rendimiento: 10,97 g (55%)

Tiempo de retención de LCMS = 2,57 min; sin ionización.

- 10 ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 2,50 (s, 3H), 7,43 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,75 (dd, 1H, J = 7,8 y 1,6 Hz), 8,05 (d, 1H, J = 1,6 Hz), 9,94 (s, 1H).

Etapa 2

4-Metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-benzaldehído



- 15 Una mezcla de 3-bromo-4-metil-benzaldehído (3,105 g; 15,6 mmoles), *bis* (pinacolato) diboro (4,29 g; 16,86 mmoles) y acetato de potasio (4,59 g; 46,8 mmoles) en dimetilformamida (60 mL) se desgasificó mediante evacuación – purga de nitrógeno (3 ciclos), seguido por burbujeo de gas nitrógeno a través de la mezcla de reacción agitada durante 5 minutos. Se añadió acetato de paladio (0,120 g; 0,536 mmoles) y la mezcla de reacción se calentó a 85 grados C (temperatura del baño de aceite) durante 2,5 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y la DMF se eliminó *al vacío*. El residuo se repartió entre acetato de etilo (150 mL) y agua (150 mL) y la mezcla se filtró a través de un tapón de celite para eliminar sólidos de Pd negro. La torta de filtrado se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL) y las fases de filtrado combinadas se separaron y la fase orgánica se lavó con agua (2 x 150 mL) después disolución saturada de cloruro sódico (150 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró, los disolventes de filtrado se eliminaron *al vacío* para proporcionar un aceite amarillo que se purificó por cromatografía rápida en gel de sílice (50 g de IST Flash; eluyendo de 0 a 10% de acetato de etilo en hexano) para proporcionar el producto como un sólido incoloro.

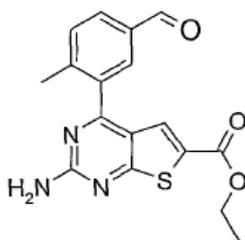
Rendimiento: 4,58 g; 85%

Tiempo de retención de LC-MS = 2,799 min; $[\text{M}+\text{H}]^+$ 247

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 1,36 (s, 12H), 2,62 (s, 3H), 7,31 (d, 1H, J = 7,88 Hz), 7,83 (dd, 1H, J = 7,88 y 1,9 Hz), 8,25 (d, 1H, J = 1,9 Hz), 9,98 (s, 1H).

- 30 Etapa 3

Etiléster de ácido 2-amino-4-(5-formil-2-metil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Se añadió etiléster de ácido 2-amino-4-cloro-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (7,62 g, 29,57 mmoles) a 4-metil-3-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-benzaldehído (7,28 g, 29,57 mmoles) seguido por carbonato de hidrógeno y sodio (7,45 g, 88,71 mmoles). Se añadió DMF (110 mL) seguido por agua (22 mL) y la suspensión se desgasificó por evacuación – purga de nitrógeno (3 ciclos), seguido por burbujeo de gas nitrógeno a través de la mezcla de reacción agitada durante 5 minutos. Se añadió cloruro de *bis*(trifenilfosfina)paladio (II) (500 mg, 0,739 mmoles) y la mezcla de reacción se calentó a 85 grados C (temperatura de baño de aceite) durante 18 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y la DMF se eliminó *al vacío*. El residuo se repartió entre acetato de etilo (500 mL) y agua (400 mL) y la mezcla se agitó vigorosamente durante 15 min antes de filtrarse a través de un tapón de celite para eliminar los sólidos de Pd. La torta de filtrado se lavó con acetato de etilo (2 x 50 mL) y las fases de filtrado combinadas se separaron y la fase orgánica se lavó con agua (1 x 300 mL) después disolución saturada de cloruro sódico (250 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró, y los disolventes de filtrado se eliminaron *al vacío* para proporcionar un sólido oleoso marrón que se trituró con acetato de etilo para proporcionar el producto como un sólido marrón (5,42 g, 56%).

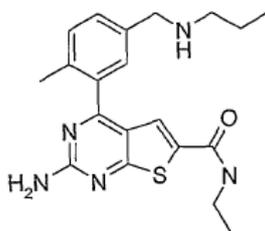
Tiempo de retención de LC-MS = 2,436 min; [M+H]⁺ 342

¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO) 1,30 (t, 3H), 2,38 (s, 3H), 4,32 (q, 2H), 7,48 (s, 2H), 7,71 (d, 2H), 7,91 (s, 1H), 7,97 (d, 1H), 10,11 (s, 1H).

Este compuesto tenía actividad A en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Ejemplo 197

Etilamida de ácido 2-amino-4-(2-metil-5-propilaminometil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Se añadió metanol (5 mL) a etiléster de ácido 2-amino-4-(5-formil-2-metil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (100 mg, 0,29 mmoles) y se añadió propilamina (0,586 mmoles) entonces a la suspensión resultante. La mezcla de reacción se calentó a reflujo (proporcionando disolución marrón homogénea) durante 4 horas después se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se añadió borohidruro sódico (23 mg; 0,58 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 mins. Se eliminó metanol *al vacío* y el residuo se repartió entre agua (20 mL) y acetato de etilo (20 mL). Las fases se separaron y la fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró y los disolventes de filtrado se eliminaron *al vacío* para proporcionar sólido marrón que se suspendió en etilamina 2,0M en disolución de metanol (5,0 mL, 10 mmoles) y se calentó en un tubo sellado a 85 grados C toda la noche. La mezcla de reacción se dejó enfriar y los disolventes se eliminaron *al vacío* para proporcionar un sólido marrón que se trituró en acetato de etilo caliente, se filtró y se secó para proporcionar el producto del título como sólido marrón claro (50 mg, 45%).

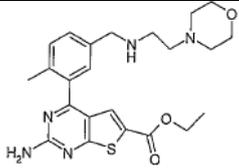
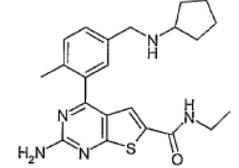
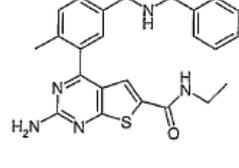
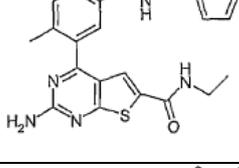
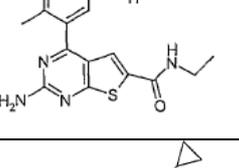
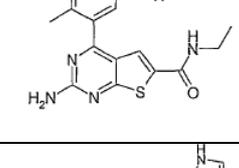
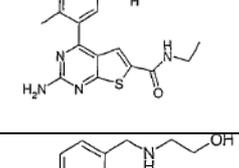
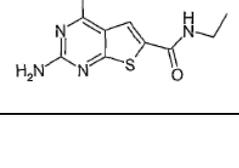
Tiempo de retención de LC-MS = 2,436 min; [M+H]⁺ 342

¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO) δ 0,79 (t, 3H, J = 7,4 Hz), 1,01 (t, 3H, J = 7,2 Hz), 1,35 (m, 2H), 2,12 (s, 3H), 2,39 (m, 2H), 3,13 (m, 2H), 3,25 (s, 2H), 3,65 (s, 2H), 7,02 (s, 2H), 7,2-7,38 (m, 3H), 7,48 (s, 1H), 8,52 (t, 3H, J = 5,4 Hz).

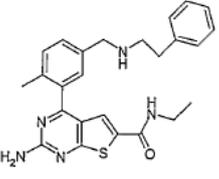
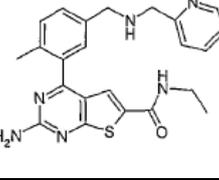
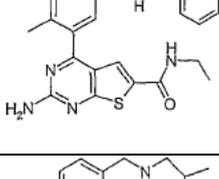
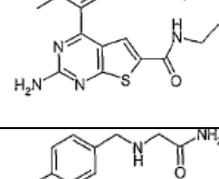
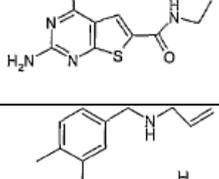
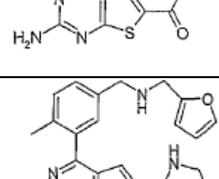
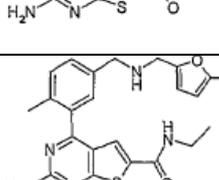
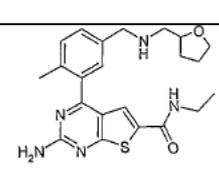
Este compuesto tenía actividad A en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

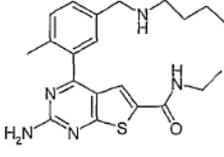
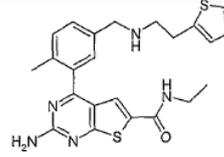
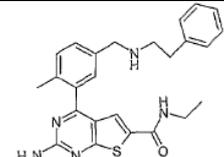
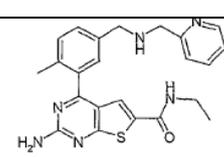
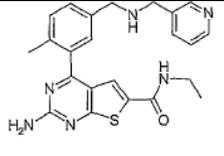
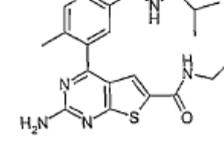
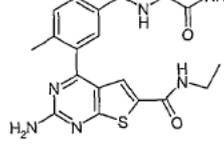
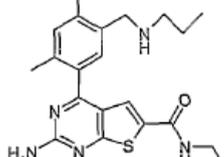
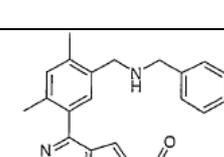
Los siguientes compuestos (Tabla 5) se hicieron mediante el método del Ejemplo 197, sustituyendo la amina apropiada por propilamina. La cuarta columna de la Tabla 5 expresa la actividad del compuesto en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Tabla 5

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
198		456	A	Aminación reductora
199		410	A	Aminación reductora después amida
200		432	A	Aminación reductora después amida
201		438	A	Aminación reductora después amida
202		414	A	Aminación reductora después amida
203		382	A	Aminación reductora después amida
204		436	A	Aminación reductora después amida
205		386	A	Aminación reductora después amida

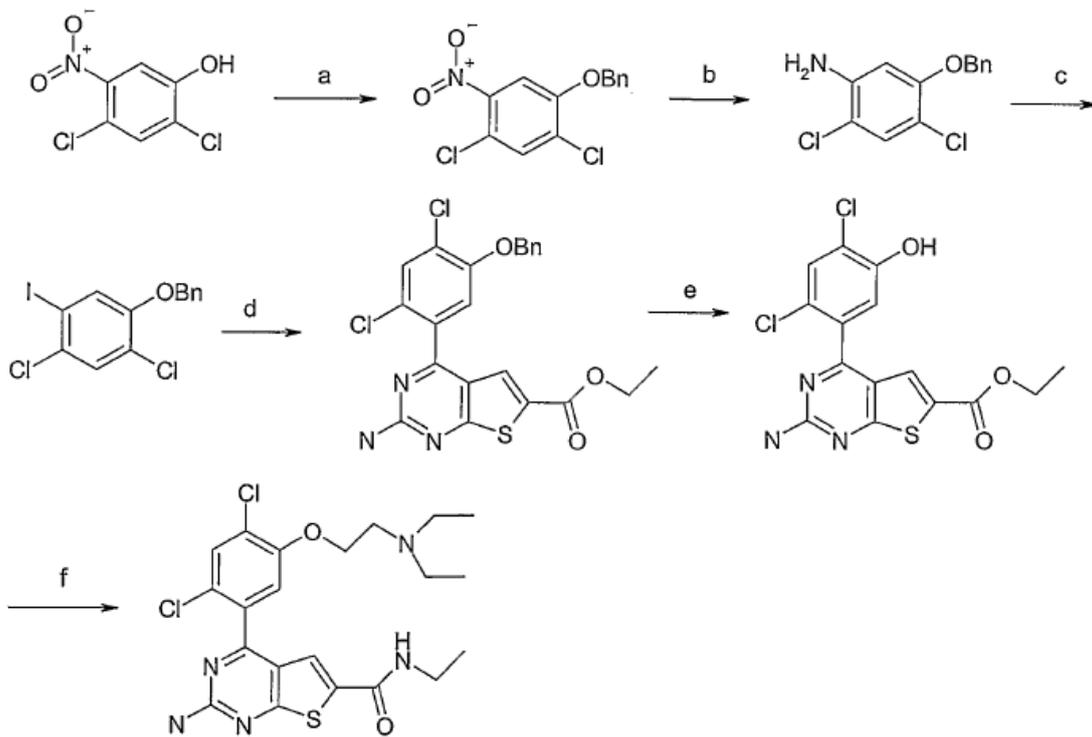
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
206		370	A	Aminación reductora después amida
207		511	A	Aminación reductora después amida
208		413	A	Aminación reductora después amida
209		382	A	Aminación reductora después amida
210		422	A	Aminación reductora después amida
211		436	A	Aminación reductora después amida
212		426	A	Aminación reductora después amida
213		398	A	Aminación reductora después amida
214		452	A	Aminación reductora después amida

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
215		446	A	Aminación reductora después amida
216		433	A	Aminación reductora después amida
217		433	A	Aminación reductora después amida
218		398	A	Aminación reductora después amida
219		399	A	Aminación reductora después amida
220		382	A	Aminación reductora después amida
221		422	A	Aminación reductora después amida
222		436	A	Aminación reductora después amida
223		426	A	Aminación reductora después amida

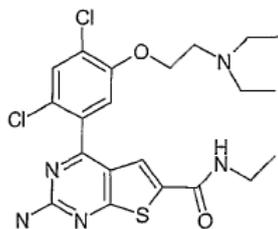
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
224		398	A	Aminación reductora después amida
225		452	A	Aminación reductora después amida
226		446	A	Aminación reductora después amida
227		433	A	Aminación reductora después amida
228		433	A	Aminación reductora después amida
229		398	A	Aminación reductora después amida
230		399	A	Aminación reductora después amida
231		398	A	Aminación reductora después amida
232		446	A	Aminación reductora después amida

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
233		452	A	Aminación reductora después amida
234		400	A	Aminación reductora después amida

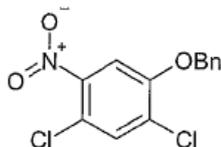
Ejemplo 235



Etilamida de ácido 2-amino-4-[2,4-dicloro-5-(2-dietilamino-etoxi)-fenil]-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



1-Benciloxi-2,4-dicloro-5-nitro-benceno

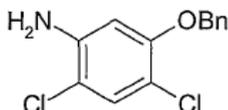


- 5 Se añadió carbonato de potasio (12 g, 87 mmoles) a una disolución de 2,4-dicloro-5-nitrofenol (15,6 g, 75 mmoles) en acetona. Se añadió bromuro de bencilo (9 ml, 76 mmoles) y la suspensión se calentó, temperatura del baño de aceite 75°C, durante ~3 hrs. La suspensión resultante se dejó enfriar y se añadió agua (500 ml), la mezcla se extrajo con diclorometano (2x200 ml). Los extractos combinados se lavaron con hidróxido sódico acuoso (150 ml, 2M), agua (2x200 ml) y disolución acuosa saturada de cloruro sódico (150 ml). La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a un sólido amarillo claro (21,5 g, 96%).

R_f 0,73 CH₂Cl₂ (SiO₂)

10 Etapa 2

5-Benciloxi-2,4-dicloro-fenilamina

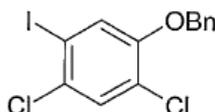


- 15 Se añadió polvo de hierro (21 g, 376 mmoles) a una suspensión del nitrobenzeno (21,5 g, 72 mmoles) en ácido acético (300 ml)/agua (150 ml) y la mezcla se calentó, temperatura de baño de aceite 85°C, durante ~90 mins. La suspensión resultante se filtró. El filtrado se dejó enfriar, se añadió agua (750 ml) y la mezcla se extrajo con diclorometano (3x150 ml). Los extractos combinados se lavaron con hidróxido sódico acuoso (300 ml, 2M), agua (2x500 ml) y disolución acuosa saturada de cloruro sódico (200 ml). La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a un sólido marrón claro (18,6 g, 96%).

R_f 0,57 CH₂Cl₂ (SiO₂)

20 Etapa 3

1-Benciloxi-2,4-dicloro-5-yodo-benceno



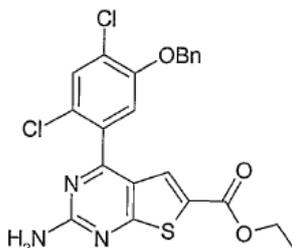
- 25 Se añadió ácido clorhídrico (60 ml, 6M) a una disolución de la anilina (16,2 g, 60 mmoles) en ácido acético (240 ml) y la suspensión resultante se enfrió (hielo/agua/sal). Se añadió nitrito sódico acuoso (4,8 g, 69,5 mmoles en 40 ml) lentamente (manteniendo la temperatura <5°C). En completa adición la disolución resultante se agitó durante ~30 mins. La disolución resultante se vertió en una disolución de yoduro de potasio (20 g, 120 mmoles) y yodo (4 g, 16 mmoles) en agua (200 ml), y la mezcla se agitó durante ~90 mins. Se añadió agua (800 ml) y la mezcla se extrajo con diclorometano (3x250 ml). Los extractos combinados se lavaron con disolución acuosa de tiosulfato sódico (2x150 ml, 10%), hidróxido sódico acuoso (250 ml, 2M), agua (2x250 ml) y disolución acuosa saturada de cloruro sódico (200 ml). La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a un aceite marrón claro, solidificado dejándolo estar. (20,6 g, 90%).

- 30

R_f 0,82 CH₂Cl₂ (SiO₂)

Etapa 4

Etiléster de ácido 2-amino-4-(5-benciloxi-2,4-dicloro-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



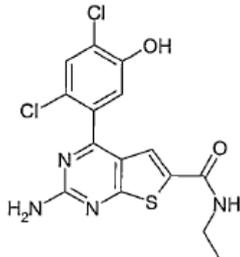
- 5 Se añadió acetato de potasio (16 g, 163 mmoles) a una disolución del yodobenceno (20,6 g, 54 mmoles) y *bis*(pinacolato)diboro (14,5 g, 57 mmoles) en DMF (50 ml), bajo una atmósfera de nitrógeno. Se añadió acetato de paladio (450 mg, cat.) y la mezcla se calentó, temperatura del baño de aceite 90°C, durante ~18 hrs. La disolución resultante se concentró, y el residuo se absorbió en acetato de etilo (200 ml), la disolución se lavó con agua (3x200 ml) y disolución acuosa saturada de cloruro sódico (150 ml). La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a una goma marrón clara. El residuo se absorbió en 1,4-dioxano (160 ml) y se añadió etiléster de ácido 2-amino-4-cloro-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (12,85 g, 50 mmoles) y fosfato de potasio acuoso (40 ml, 2M), bajo una atmósfera de nitrógeno. Se añadió dicloro bis(trifenilfosfina) paladio (II) (cat.) y la mezcla se calentó, temperatura del baño de aceite 100°C, durante ~3 hrs. La mezcla se dejó enfriar y se añadió acetato de etilo (400 ml). La mezcla se lavó con disolución acuosa saturada de cloruro sódico (100 ml). La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a un sólido amarillo claro. Los sólidos se lavaron con dietiléter/hexano (1:1), para dar un sólido de color crudo. Se secó *al vacío* (40°C). 10,7 g (45%).

Rf 0,13 EtOAc/Hex (1:3) (SiO₂)

- 15 Tiempo de retención de LC 2,891 min [M+H]⁺ 474,1/476,1 (tiempo de marcha 3,75 min)

Etapa 5

Etilamida de ácido 2-amino-4-(2,4-dicloro-5-hidroxi-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 20 Una suspensión de etiléster de ácido 2-amino-4-(5-benciloxi-2,4-diclorofenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico en etilamina metanólica (~2M) se calentó, a ~75°C, durante ~18 hrs. La disolución resultante se concentró y el residuo se trituró con dietiléter/hexano para dar un polvo marrón claro.

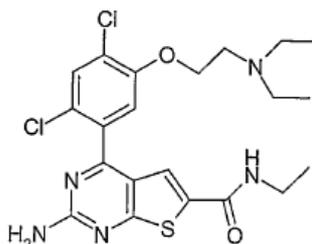
Tiempo de retención de LC 2,654 minutos [M+H]⁺ 475,1/473,1 (tiempo de marcha 3,75 mins)

- 25 Se añadió disolución de tricloruro de boro (1M en diclorometano) a una suspensión de etilamida de ácido 2-amino-4-(5-benciloxi-2,4-diclorofenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico en diclorometano, a -78°C bajo una atmósfera de nitrógeno. La suspensión se agitó durante ~3 hrs a temperatura ambiente. La suspensión se enfrió en hielo y se añadió metanol, la mezcla resultante se agitó durante ~1 hr y se concentró a un sólido verde amarillo. Los sólidos se suspendieron en acetato sódico acuoso (10%) y se extrajeron con acetato de etilo. Los extractos se lavaron con agua y disolución acuosa saturada de cloruro sódico. La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a un sólido marrón claro, se lavó con hexano seco al vacío.

- 30 Tiempo de retención de LC 2,180 minutos [M+H]⁺ 385/383 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Etapa 6

Etilamida de ácido 2-amino-4-[2,4-dicloro-5-(2-dietilamino-etoxi)-fenil]-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



5 Se añadió carbonato de cesio a una disolución de etilamida de ácido 2-amino-4-(2,4-dicloro-5-hidroxifenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico en DMF, se añadió hidrobromuro de 2-bromo-N,N-dietiletilamina y la suspensión se calentó, a ~140°C, durante ~2 hrs. La suspensión resultante se dejó enfriar y se añadió diclorometano. La mezcla se lavó con agua y disolución acuosa saturada de cloruro sódico. La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a una goma marrón oscura. El producto en bruto se purificó por cromatografía en sílice eluyendo con mezclas de diclorometano y metanol.

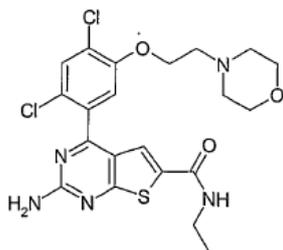
10 ^1H RMN (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 0,96 (t, 6H, J = 7,1 Hz), 1,07 (t, 3H, J = 7,2 Hz), 2,55 (q, 4H, J = 7,1 Hz), 2,81 (t, 2H, J = 5,8 Hz), 3,22 (m, 2H), 4,12 (t, 2H, J = 5,8 Hz), 7,23 (s, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 8,54 (t, 1H, J = 5,5 Hz).

Tiempo de retención de LC 1,774 minutos $[\text{M}+\text{H}]^+$ 484/482 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Este compuesto tenía actividad A en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Ejemplo 236

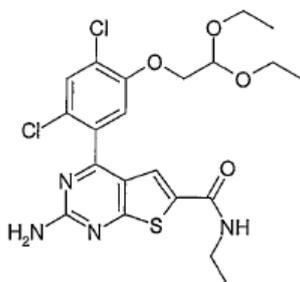
Etilamida de ácido 2-amino-4-[2,4-dicloro-5-(2-morfolin-4-iletoxi)-fenil]-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



15

Etapa 1

Etilamida de ácido 2-amino-4-[2,4-dicloro-5-(2,2-dietoxi-etoxi)-fenil]-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



20 Se añadió terc-butóxido de potasio a una suspensión de etilamida de ácido 2-amino-4-(2,4-dicloro-5-hidroxifenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico en acetonitrilo, se añadió bromoacetaldehído dietilacetal y la suspensión se calentó a reflujo durante ~8 hrs. La suspensión resultante se dejó enfriar y se añadió agua, la mezcla se extrajo con acetato de etilo y los extractos se lavaron con agua y disolución acuosa saturada de cloruro sódico. La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a una goma roja/marrón. El producto en bruto se purificó por cromatografía en sílice eluyendo con mezclas de acetato de etilo y hexano.

25 Tiempo de retención de LC 2,614 minutos $[\text{M}+\text{H}]^+$ 501/499 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Etapa 2

Etilamida de ácido 2-amino-4-[2,4-dicloro-5-(2-morfolin-4-il-etoxi)-fenil]-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

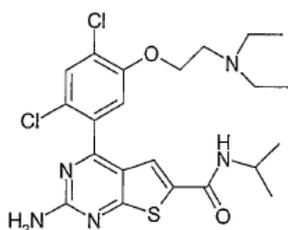
- 5 Se añadió ácido clorhídrico a una disolución de etilamida de ácido 2-amino-4-(2,4-dicloro-5-(2,2-dietoxietoxi)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico en THF y la disolución se agitó durante ~18 hrs. Se añadió morfolina y la disolución se agitó, se añadió triacetoxiborohidruro sódico y la suspensión resultante se agitó durante ~18 hrs. Se añadió diclorometano y la mezcla se lavó con amoniaco acuoso (0,880), agua y disolución acuosa saturada de cloruro sódico. La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a un sólido amarillo claro. El producto en bruto se purificó por cromatografía en sílice eluyendo con mezclas de acetato de etilo y hexano.

Tiempo de retención de LC 1,795 minutos $[M+H]^+$ 498/496 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Este compuesto tenía actividad A en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

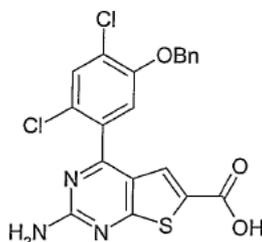
10 Ejemplo 237

Isopropilamida de ácido 2-amino-4-[2,4-dicloro-5-(2-dietilamino-etoxi)-fenil]-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Etapa 1

Ácido 2-amino-4-(5-benciloxi-2,4-dicloro-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

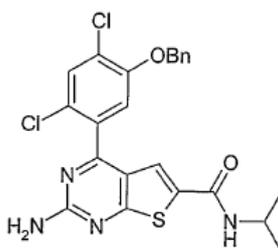


- 15 Se añadió hidróxido sódico (0,190 g; 4,75 mmoles) a etiléster de ácido 2-amino-4-(5-benciloxi-2,4-dicloro-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (etapa 4 ejemplo 235). Se añadió etanol (25 ml) seguido por agua (2,5 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1 hora. La mezcla de reacción se dejó enfriar y se eliminaron disolventes *al vacío*. El residuo resultante se disolvió en agua y se agitó en baño de hielo-agua y se neutralizó mediante la adición en gotas de disolución de ácido clorhídrico al 37% (ac). La mezcla de reacción se secó por congelación para proporcionar producto como un polvo amarillo (que contiene 2 equivalentes de NaCl) 1,33 g; 100%.

20 Tiempo de retención de LC 2,579 minutos $[M+H]^+$ 448/446 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Etapa 2

- 25 Isopropilamida de ácido 2-amino-4-(5-benciloxi-2,4-dicloro-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

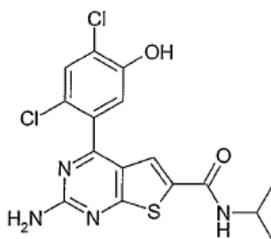


- Se añadió hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (1,176 g; 3,07 mmoles) a ácido 2-amino-4-(5-benciloxi-2,4-dicloro-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico.2NaCl (1,33 g; 2,38 mmoles) después DMF (25 ml) para proporcionar una disolución marrón turbia. Se añadió isopropilamina (1,01 ml; 11,9 mmoles) y la mezcla de reacción se calentó a 60°C (temperatura de baño de aceite) durante 18 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y la DMF se eliminó *al vacío*. El residuo se repartió entre acetato de etilo (200 ml) y agua (200 ml). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con disolución acuosa saturada de cloruro sódico (200 ml) se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y los disolventes filtrados se eliminaron *al vacío* para proporcionar un sólido amarillo. El producto en bruto se purificó por cromatografía rápida en gel de sílice (cartucho IST Flash Si de 50 g) eluyendo con un gradiente de disolvente de 20 a 50% de acetato de etilo en hexano. Esto proporciona producto como un sólido incoloro (0,612 g; 53%).

Tiempo de retención de LC 2,756 minutos $[M+H]^+$ 489/487 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Etapa 3

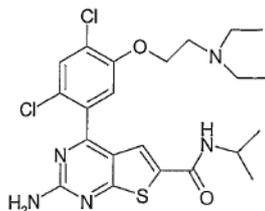
Isopropilamida de ácido 2-amino-4-(2,4-dicloro-5-hidroxi-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 15 Preparado como para la etapa 5 ejemplo 235 a partir de isopropilamida de ácido 2-amino-4-(5-benciloxi-2,4-dicloro-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (0,594 g). Se purificó el producto por cromatografía rápida en gel de sílice (cartucho IST Flash Si de 20 g) eluyendo con un gradiente de disolvente de 20 a 100% de acetato de etilo en hexano. Esto proporciona el producto como un sólido incoloro (0,350 g; 72%).

Tiempo de retención de LC 2,353 minutos $[M+H]^+$ 399/397 (tiempo de marcha 3,75 mins)

- 20 Isopropilamida de ácido 2-amino-4-[2,4-dicloro-5-(2-dietilamino-etoxi)-fenil]-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Preparado como para la etapa 6 del ejemplo 235 a partir de isopropilamida de ácido 2-amino-4-(2,4-dicloro-5-hidroxi-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (0,100 g). El producto se purificó por HPLC preparativo.

Tiempo de retención de LC 1,965 minutos $[M+H]^+$ 498/496 (tiempo de marcha 3,75 mins)

- 25 Este compuesto tenía actividad A en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Los compuestos siguientes (Tabla 6) se hicieron utilizando los métodos de los ejemplos 235, 236 y 237.

La cuarta columna de la Tabla 6 expresa la actividad del compuesto en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Tabla 6

30

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF Cl50	Comentario de síntesis
238		494	A	Aminación reductora
239		474	A	Suzuki
240		383	A	Amida después desbencilación
241		473	A	Suzuki después amida
242		487	A	Suzuki después amida
243		405	A	Suzuki después amida
244		315	A	Amida después desbencilación
245		508	A	Aminación reductora

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF Cl50	Comentario de síntesis
246		509	A	Aminación reductora
247		484	A	Aminación reductora
248		397	A	Amida después desbencilación
249		512	A	Aminación reductora
250		530	A	Aminación reductora
251		494	A	Alquilación después amida
252		536	A	Alquilación después amida
253		480	A	Amida después alquilación

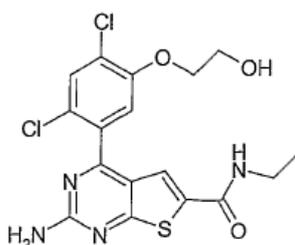
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF Cl50	Comentario de síntesis
254		454	A	Amida después alquilación
255		468	A	Amida después alquilación
256		482	A	Amida después alquilación
257		494	A	Amida después alquilación
258		498	A	Alquilación después amida
259		496	A	Amida después alquilación
260		414	A	Amida después alquilación
261		474	A	Amida después alquilación

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF Cl50	Comentario de síntesis
262		467	A	Amida después alquilación
263		477	A	Amida después alquilación
264		440	A	Alquilación después amida
265		510	A	Alquilación después amida
266		528	A	Alquilación después amida
267		440	A	Amida después alquilación
268		507	A	Amida después alquilación
269		571	A	Amida después alquilación

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF Cl50	Comentario de síntesis
270		422	A	Amida después alquilación
271		510	A	Amida después alquilación

Ejemplo 272

Etilamida de ácido 2-amino-4-[2,4-dicloro-5-(2-hidroxi-etoxi)-fenil]-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

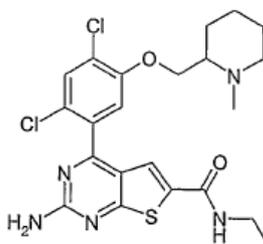


- 5 Se añadió ácido clorhídrico a una disolución de etilamida de ácido 2-amino-4-(2,4-dicloro-5-(2,2-dietoxietoxi)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico en THF y la disolución se agitó durante ~18 hrs. Se añadió diclorometano y la mezcla se agitó, se añadió borohidruro sódico y la suspensión resultante se agitó durante ~5 hrs. Se añadió diclorometano y la mezcla se lavó con disolución saturada de cloruro de amonio. La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a un sólido amarillo claro. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativo, para
10 dar el producto como un sólido de color crudo.

Tiempo de retención de LC 2,124 minutos $[M+H]^+$ 428,9/426 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Ejemplo 273

Etilamida de ácido 2-amino-4-[2,4-dicloro-5-(1-metil-piperidin-2-ilmetoxi)-fenil]-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 15 A una mezcla de etilamida de ácido 2-amino-4-(2,4-dicloro-5-hidroxi-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (30 mg, 0,08 mmoles) y (1-metil-piperidin-2-il)-metanol (12 mg, 0,09 mmoles) en tetrahidrofurano seco (10 ml) se añadió trifetilfosfina (33 mg, 0,13 mmoles).

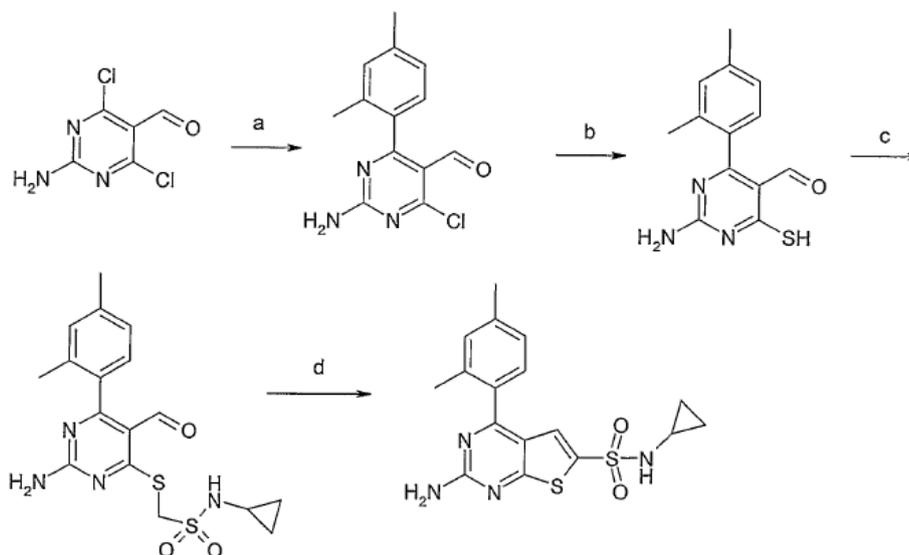
- 20 Se añadió dietilazodicarboxilato (0,021 ml, 0,13 mmoles) en tetrahidrofurano seco (1 ml) en gotas durante el espacio de 30 segundos a temperatura ambiente. La mezcla se agitó entonces a temperatura ambiente durante 30 minutos en cuyo momento se añadió acetato de etilo (30 ml) y la disolución resultante se lavó con disolución de bicarbonato sódico 1 M (30 ml), seguido por salmuera saturada (30 ml). Los compuestos orgánicos resultantes se secaron con

sulfato sódico y se concentraron para dar un aceite amarillo que se purificó por LCMS preparativo, dando un sólido blanco (20,4 mg, 53%).

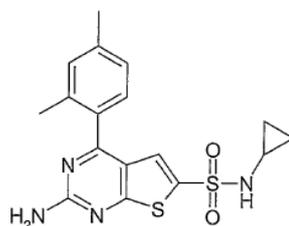
Tiempo de retención de LC 1,84 minutos, $[M+H]^+$ 494.

Este compuesto tenía actividad A en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito anteriormente.

5 Ejemplo 274

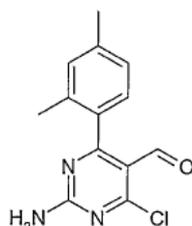


Ciclopropilamida de ácido 2-amino-4-(2,4-dimetil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-sulfónico



Etapas 1

10 2-Amino-4-cloro-6-(2,4-dimetil-fenil)-pirimidina-5-carbaldehído

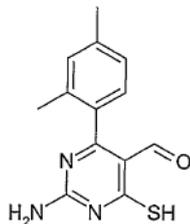


15 Se añadió fosfato de potasio acuoso a una suspensión de ácido 2,4-dimetilbencenoborónico y 2-amino-4,6-dicloro-5-pirimidinacetaldehído (3 eq) en 1,4-dioxano, bajo una atmósfera de nitrógeno. Se añadió dicloro bis(trifenilfosfina)paladio (II) (cat.) y la mezcla se calentó, $\sim 100^\circ\text{C}$, durante ~ 90 mins. La mezcla resultante se dejó enfriar y se añadió diclorometano, la mezcla se lavó con agua y disolución acuosa saturada de cloruro sódico. La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a un sólido amarillo claro. El sólido en bruto se purificó por cromatografía de columna en sílice eluyendo con mezclas de dietiléter y hexano.

Tiempo de retención de LC 2,354 minutos $[M+H]^+$ 262,0 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Etapas 2

2-Amino-4-(2,4-dimetil-fenil)-6-mercapto-pirimidina-5-carbaldehído

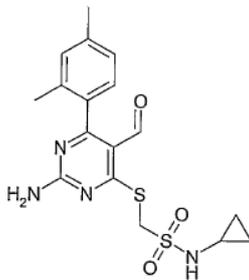


5 Se añadió 2-amino-4-cloro-6-(2,4-dimetilfenil)-pirimidina-5-carbaldehído a una suspensión de sulfuro sódico (5 eq.) en DMF y la mezcla se agitó durante ~60 mins, para dar una suspensión amarilla. La suspensión se vertió en agua, y la disolución se filtró. El filtrado se aciduló con ácido acético, para dar un precipitado amarillo. Los sólidos se eliminaron por filtración y se lavaron con agua y hexano, se secaron al vacío, para dar un polvo amarillo.

Tiempo de retención de LC 2,048 minutos $[M+H]^+$ 260,0 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Etapa 3

C-[2-amino-6-(2,4-dimetil-fenil)-5-formil-pirimidin-4-ilsulfanil]-N-ciclopropil-metanosulfonamida



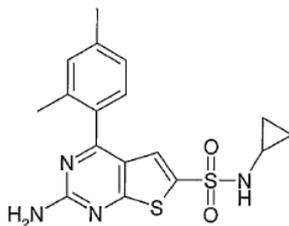
10 Se añadió carbonato de hidrógeno y sodio a una disolución de 2-amino-4-(2,4-dimetilfenil)-6-mercapto-pirimidina-5-carbaldehído en DMF y la suspensión se agitó. Se añadió C-bromo-N-ciclopropil-metano-sulfonamida, y la mezcla se calentó, ~85°C, durante ~3 hrs. La suspensión resultante se dejó enfriar y se añadió acetato de etilo, la mezcla se lavó con agua y disolución acuosa saturada de cloruro sódico. La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a un sólido amarillo claro. El sólido en bruto se purificó por cromatografía de columna en sílice eluyendo con mezclas de acetato de etilo y hexano.

15

Tiempo de retención de LC 2,413 minutos $[M+H]^+$ 393,0 (tiempo de marcha 3,75 mins)

Etapa 4

Ciclopropilamida de ácido 2-amino-4-(2,4-dimetil-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-sulfónico



20 Se añadió piridina a una suspensión de C-[2-amino-6-(2,4-dimetilfenil)-5-formil-pirimidin-4-ilsulfanil]-N-ciclopropil-metano-sulfonamida en diclorometano y la mezcla se enfrió, hielo/agua. Se añadió anhídrido trifluoroacético y la mezcla se agitó durante ~2 hrs y se calentó a reflujo durante ~24 hrs. La disolución roja oscura resultante se dejó enfriar y se añadió amoniaco acuoso (0,880) y la mezcla se agitó durante ~30 mins. Se añadió diclorometano y la mezcla se lavó con ácido clorhídrico diluido, agua y disolución acuosa saturada de cloruro sódico. La disolución se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a un sólido rojo/naranja. El sólido en bruto se purificó por HPLC preparativo.

25

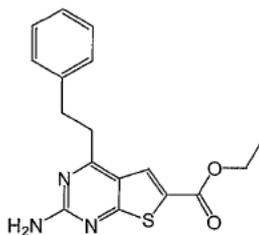
^1H RMN (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 0,40-0,45 (m, 2H), 0,50-0,55 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,27 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 7,17 (bd, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,18 (s, 1H), 7,21 (bs, 1H), 7,28 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,34 (s, 2H), 8,16 (bs, 1H).

Tiempo de retención de LC 2,478 minutos $[\text{M}+\text{H}]^+$ 375,0 (tiempo de marcha 3,75 mins).

Este compuesto tenía actividad A en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

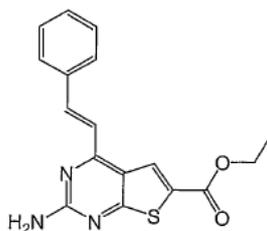
5 Ejemplo 275

Etiléster de ácido 2-amino-4-fenetil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Etapa 1

Etiléster de ácido 2-amino-4-estiril-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



10

A una disolución de etiléster de ácido 2-amino-4-cloro-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (0,193 g, 0,75 mmoles) y ácido alfa-fenilvinilborónico (0,17 g, 1,5 equiv.) en DMF a temperatura ambiente se añadió disolución de carbonato de hidrógeno y sodio 1M (1,88 ml, 2,5 equiv) seguido por cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II) (26 mg, 0,05 equiv.). Se burbujeó nitrógeno a través de la mezcla durante 5 minutos antes de calentar a 85°C y agitar durante 10

15

horas. La disolución refrigerada se repartió entre acetato de etilo y agua, las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera antes de cargarse directamente en una columna de intercambio iónico Isolute SCX II. En la elución con amoniaco 1M en metanol y evaporación al vacío, se recuperó producto puro como un polvo naranja (0,169 g, 70%).

20

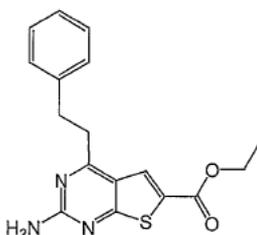
^1H RMN (CDCl_3) δ = 8,03 (1H, s); 8,03 (1H, d, $J = 15$ Hz); 7,59 (2H, m); 7,41-7,30 (4H, m); 5,19 (2H, s ancho); 4,31 (2H, q, $J = 7,1$ Hz) y 1,35 (3H, t, $J = 7,1$ Hz).

Tiempo de retención de LCMS 7,47 mins, $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 326,12 (tiempo de marcha 15 minutos)

Este compuesto tenía actividad "A" en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Etapa 2

Etiléster de ácido 2-amino-4-fenetil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



25

A una disolución de etiléster de ácido 2-amino-4-estiril-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (78 mg, 0,18 mmoles) en etanol se añadió paladio al 5% en carbón activo (51 mg) que se agitó toda la noche bajo una atmósfera de hidrógeno. La suspensión se filtró a través de celite, los compuestos volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó usando HPLC semi-preparativo para dar el compuesto puro como un polvo naranja.

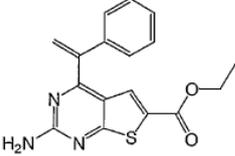
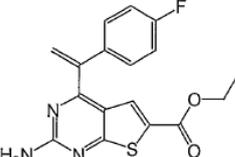
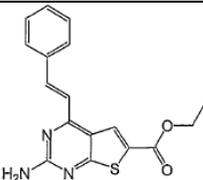
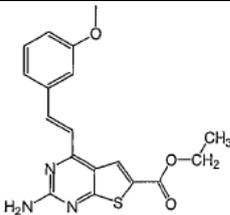
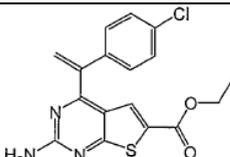
- 5 ^1H RMN (CDCl_3) δ = 7,82 (1H, s); 7,35-7,11 (5H, m); 5,33 (2H, s ancho); 4,40 (2H, q, J = 7,1 Hz); 3,26 (2H, m); 3,22 (2H, m) y 1,43 (3H, t, J = 7,1 Hz).

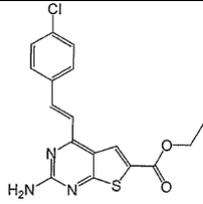
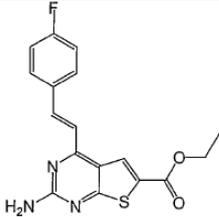
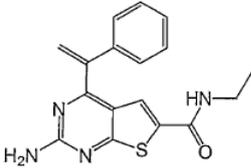
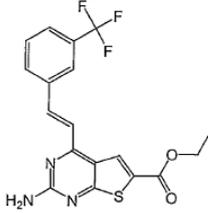
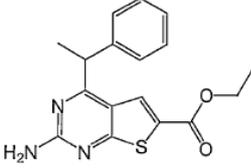
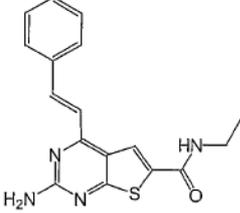
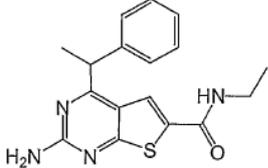
Tiempo de retención de LCMS 7,11 mins, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 327,92$ (tiempo de marcha 15 minutos)

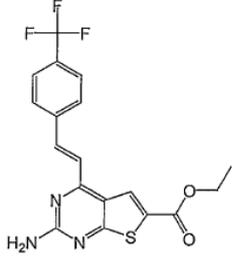
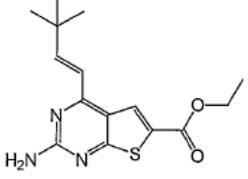
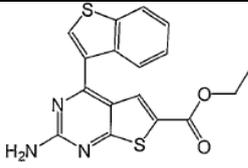
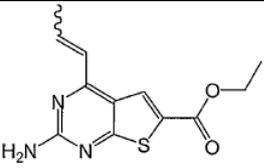
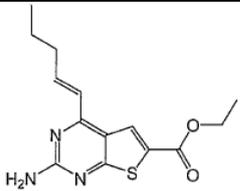
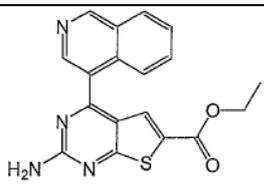
Este compuesto tenía actividad "A" en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

- 10 Los siguientes compuestos (Tabla 7) se hicieron por los métodos del Ejemplo 275 sustituyendo el ácido borónico o éster de boronato apropiado. Las amidas correspondientes se sintetizaron directamente a partir del éster (ejemplo 235, etapa 5) o por hidrólisis (ejemplo 43, etapa 1) seguido por acoplamiento de amina (ejemplo 43, etapa 2) y se purificaron por HPLC semi-preparativo. La cuarta columna de la Tabla 7 expresa la actividad del compuesto en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Tabla 7

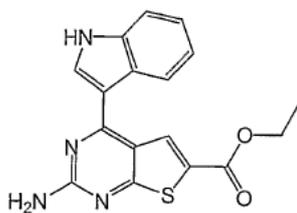
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF C150	Comentario de síntesis
276		326,1	A	Suzuki
277		344,0	A	Suzuki
278		326,1	A	Suzuki
279		356,1	A	Suzuki
280		360,0	A	Suzuki

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
281		360,1	A	Suzuki
282		344,2	A	Suzuki
283		325,1	A	Suzuki, hidrolizado después amidación
284		393,8	A	Suzuki
285		328,09	A	Suzuki después hidrogenación
286		325,0	A	Suzuki después amidación
287		327,1	A	Suzuki, hidrogenación después amidación

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF Cl50	Comentario de síntesis
288		394,1	A	Suzuki
289		306,2	B	Suzuki
290		355,8	B	Suzuki
291		264,1	B	Suzuki
292		292,1	B	Suzuki
293		351,1	A	Suzuki

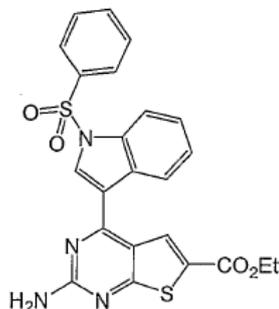
Ejemplo 294

Etiléster de ácido 2-amino-4-(1H-indol-3-il)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



Etapa 1

Etiléster de ácido 2-amino-4-(1-bencenosulfonil-1H-indol-3-il)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

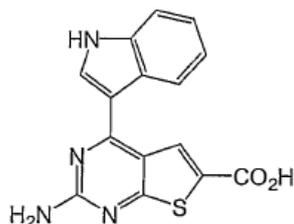


- 5 Usando ácido 1-(fenilsulfonil)-3-indol-borónico y el método del Ejemplo 275 etapa 1, el producto deseado se sintetizó como un sólido naranja (105 g, 29%).

Tiempo de retención de LCMS 7,72 min, $[M+H]^+$ = 478. (Tiempo de marcha 15 mins)

Etapa 2

Ácido 2-amino-4-(1H-indol-3-il)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

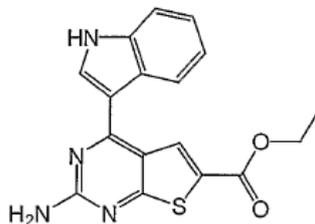


- 10 Una disolución de etiléster de ácido 2-amino-4-(1-bencenosulfonil-1H-indol-3-il)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (80 mg, 0,17 mmoles) en etanol (6 ml) se calentó a 65°C, se añadió hidróxido de potasio 2M (0,25 ml, 3 equiv.) y se agitó toda la noche. Se añadió agua y los compuestos volátiles se eliminaron *al vacío*. La disolución se neutralizó entonces y se secó por congelación.

Tiempo de retención de LCMS 5,72 min $[M+H]^+$ = 311,07 (tiempo de marcha 15 minutos)

15 Etapa 3

Etiléster de ácido 2-amino-4-(1H-indol-3-il)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 20 El ácido 2-amino-4-(1H-indol-3-il)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico en bruto se disolvió en etanol (2 ml) y se añadió ácido sulfúrico concentrado (5 gotas). La disolución se puso a reflujo toda la noche antes de añadirse agua y los compuestos volátiles se eliminaron al vacío. La disolución acuosa se repartió con disolución de carbonato de hidrógeno y sodio 1M y acetato de etilo. Los compuestos orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporó hasta sequedad. Los compuestos puros se obtuvieron después de TLC preparativo como un polvo coloreado de color crudo.

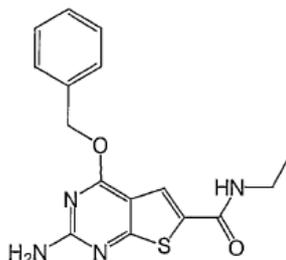
- 25 ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ = 11,93 (1H, s ancho); 8,62 (1H, d, J = 7,5 Hz); 8,43 (1H, s); 8,27 (1H, s); 7,53 (1H, d, J = 7,5 Hz); 7,27-7,15 (1H + 1H + 2H, m); 4,34 (2H, q, J = 7,1 Hz) y 1,34 (3H, t, J = 7,1 Hz).

Tiempo de retención de LCMS 6,70 min, $[M+H]^+$ = 339,08 (tiempo de marcha de 15 minutos)

Este compuesto tenía actividad "B" en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Ejemplo 294

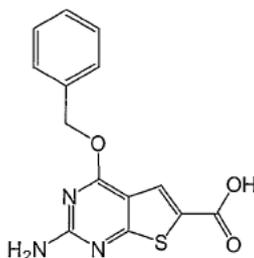
Etilamida de ácido 2-amino-4-benciloxi-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



5

Etapa 1

Ácido 2-amino-4-benciloxi-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



10

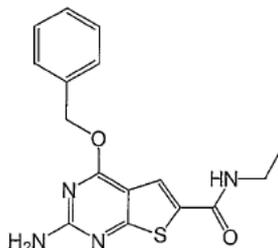
A un matraz lleno con nitrógeno que contenía hidruro sódico (0,5 mmoles, 60% en aceite mineral) en THF anhidro (5 ml) se añadió alcohol bencilico (0,5 mmoles). La suspensión se agitó vigorosamente durante 10 minutos hasta que no se desprendió más gas antes de transferirse a un tubo de reacción de microondas que contenía etiléster de ácido 2-amino-4-cloro-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (0,129 g, 0,5 mmoles). El tubo sellado se calentó a 90°C durante 5 mins usando 300 W en un aparato de microondas CEM (CUIDADO!). La mezcla de reacción se repartió entre DCM y agua, la fase de agua se neutralizó y se evaporó hasta sequedad *al vacío* para dejar el producto puro.

15

Tiempo de retención de LCMS 6,35 min, $[M+H]^+$ = 301,93 (tiempo de marcha 15 minutos)

Etapa 2

Etilamida de ácido 2-amino-4-benciloxi-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



20

La amida se sintetizó usando las condiciones de acoplamiento HATU dadas en el ejemplo 43, etapa 2 y se purificó por cromatografía de columna.

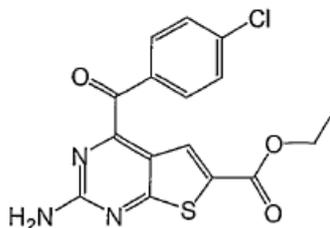
^1H RMN (CDCl_3) δ = 7,49 (1H, s); 7,39-7,25 (5H, m); 6,03 (1H, t ancho, J = 5 Hz); 5,39 (2H, s); 5,15 (2H, s ancho); 3,38 (2H, dq, J = 5,7 Hz y J = 7,2 Hz); 1,14 (3H, t, J = 7,2 Hz).

Tiempo de retención de LCMS 6,34 min, $[M+H]^+$ = 329,05 (tiempo de marcha 15 minutos)

Este compuesto tenía actividad "B" en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Ejemplo 295

Etiléster de ácido 2-amino-4-(4-cloro-benzoil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 5 A una disolución de etiléster de ácido 2-amino-4-cloro-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (1 mol eq.), p-clorobenzaldehído (1 mol eq.) y bromuro de 3-etil-1-metil-3H-imidazol-1-io (0,3 moles eq.) en DMF a temperatura ambiente, se añadió hidruro sódico (1,1 moles eq., 60% en aceite mineral). La disolución se volvió oscura inmediatamente y se agitó durante 3 horas durante las cuales se volvió a una disolución naranja. Esta se filtró a través de un embudo de vidrio sinterizado, se añadió salmuera y el precipitado resultante se filtró y se secó. Los sólidos amarillos resultantes se purificaron o bien por TLC preparativo o HPLC preparativo.
- 10 ^1H RMN (d_6 -acetona) δ = 8,11 (2H, d, J = 8,8 Hz); 8,03 (1H, s); 7,57 (2H, d, J = 8,8 Hz); 6,86 (2H, s); 4,33 (2H, q, J = 7,0 Hz) y 1,34 (3H, t, J = 7,0 Hz). Tiempo de retención de LCMS 7,49 min, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 362,06$ (tiempo de marcha 15 minutos).

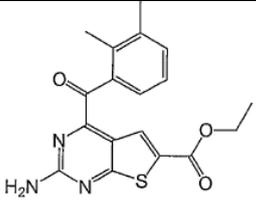
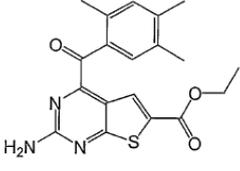
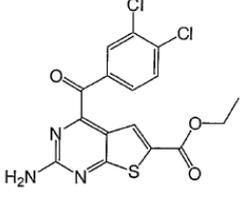
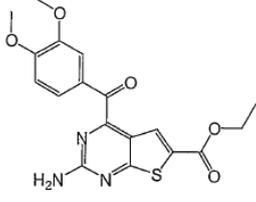
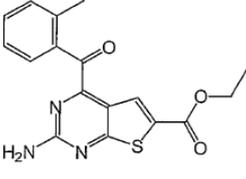
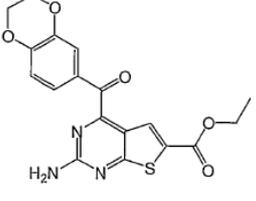
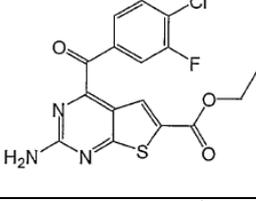
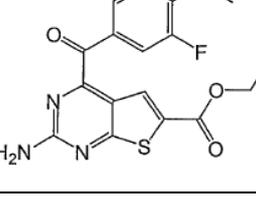
Este compuesto tenía actividad "A" en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

- 15 Los siguientes compuestos (Tabla 8) se hicieron mediante el método del Ejemplo 295 sustituyendo el benzaldehído apropiado. La cuarta columna de la Tabla 8 expone la actividad del compuesto en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Tabla 8

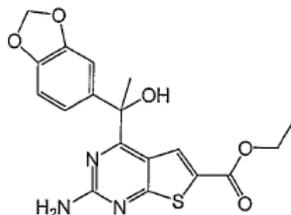
Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF C150	Comentario de síntesis
296		328,0	A	Aroilación
297		358,1	A	Aroilación
298		372,0	A	Aroilación
299		356,1	A	Aroilación

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
300		356,1	A	Aroilación
301		346,0	A	Aroilación
302		362,0	A	Aroilación
303		346,0	A	Aroilación
304		362,1	A	Aroilación
305		346,0	A	Aroilación
306		356,1	A	Aroilación

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF C150	Comentario de síntesis
307		356,1	A	Aroilación
308		370,1	A	Aroilación
309		396,0	A	Aroilación
310		388,1	A	Aroilación
311		342,1	A	Aroilación
312		386,1	A	Aroilación
313		380,0	A	Aroilación
314		376,1	A	Aroilación

Ejemplo 315

Etiléster de ácido 2-amino-4-(1-benzo[1,3]dioxol-5-il-1-hidroxi-etil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 5 Se disolvió etiléster de ácido 2-amino-4-(benzo[1,3]dioxol-5-carbonil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (ejemplo 312) (100 mg) en THF anhidro bajo una atmósfera de nitrógeno antes de que se añadiera bromuro de metilmagnesio (disolución 3,0M en dietiléter, 5 equiv.). La disolución se agitó a 40°C toda la noche antes de repartirse entre disolución acuosa de cloruro de amonio al 10% y acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó para dar un producto en bruto que se purificó por TLC preparativo para dar el compuesto deseado como un polvo amarillo.

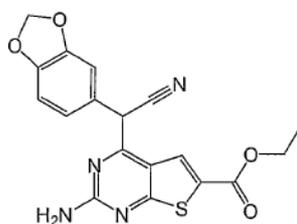
^1H RMN (d_6 -acetona) δ = 8,04 (1H, s); 6,94 (1H, d, J = 7,7 Hz); 6,91 (1H, s); 6,64 (1H, d, J = 7,7 Hz); 6,50 (2H, s ancho); 5,81 (2H, s); 5,46 (1H, s); 4,17 (2H, q, J = 7,1 Hz); 1,81 (3H, s) y 1,19 (3H, t, J = 7,1 Hz).

Tiempo de retención de LCMS 6,37 min, (eliminación de H_2O en LCMS) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 370,07$ (tiempo de marcha de 15 minutos).

- 15 Este compuesto tenía actividad "A" en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Ejemplo 316

Etiléster de ácido 2-amino-4-(benzo[1,3]dioxol-5-il-ciano-metil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 20 A una disolución de etiléster de ácido 2-amino-4-cloro-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (1 equiv.) y benzo[1,3]dioxol-5-il-acetonitrilo (1 mol eq.) en DMF a temperatura ambiente, se añadió hidruro sódico (1,1 mol eq., 60% en aceite mineral). La mezcla se agitó a esta temperatura toda la noche bajo argón. Después de esto, se diluyó con salmuera y se extrajo con acetato de etilo. Las partes orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y agua y se secaron con sulfato sódico. Después de la filtración y evaporación del disolvente, se obtuvieron sólidos marrones que se purificaron o bien por TLC preparativo o HPLC preparativo.

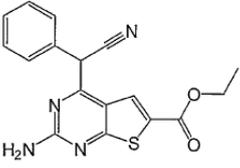
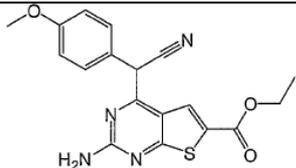
- 25 ^1H RMN (d_6 -acetona) δ = 7,76 (1H, s); 6,84 (1H, d, J = 8,0 Hz); 6,56 (1H+1H+1H, m); 6,10 (1H, d, J = 1,0 Hz); 6,05 (1H, d, J = 1,0 Hz); 4,30 (2H, q, J = 7,0 Hz) y 1,30 (3H, t, J = 7,0 Hz).

Tiempo de retención de LCMS 7,04 min, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 383,06$ (tiempo de marcha 15 minutos).

Este compuesto tenía actividad "A" en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

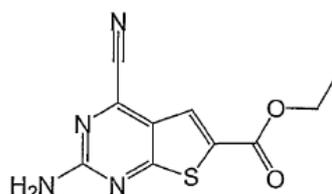
- 30 Los siguientes compuestos (Tabla 9) se hicieron por el método del Ejemplo 316 sustituyendo el acetonitrilo apropiado. La cuarta columna de la Tabla 9 expresa la actividad del compuesto en el ensayo de polarización de fluorescencia descrito a continuación.

Tabla 9

Ejemplo	Estructura	MH+	Hsp90 PF CI50	Comentario de síntesis
317		339,1	A	Desplazamiento de cloruro
318		369,1	B	Desplazamiento de cloruro

Ejemplo 319

Etiléster de ácido 2-amino-4-ciano-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico



- 5 Se mezclaron etiléster de ácido 2-amino-4-ciano-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (1 equiv.), $Zn(CN)_2$ (0,6 equiv.), polvo de Zn (0,12 equiv.), $Pd_2(dba)_3$ (0,02 moles eq.) y 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (0,04 equiv.) en DMA y la mezcla se agitó en argón a 120°C durante 24 horas. La suspensión resultante se filtró a través de una columna corta de Celite, el filtrado se diluyó con salmuera y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó entonces con salmuera, agua y se secó sobre sulfato sódico. Después de la evaporación del disolvente, se purificó el aceite en
- 10 bruto por TLC preparativo.

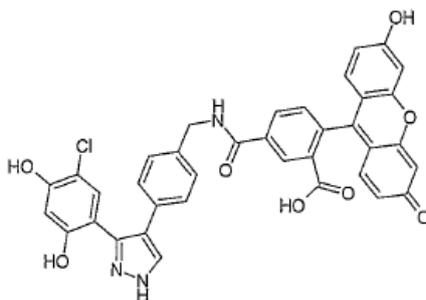
 1H RMN (d_6 -acetona) δ = 7,92 (1H, s); 7,08 (1H, s); 4,42 (2H, q, J = 7,0 Hz) y 1,40 (3H, t, J = 7,0 Hz).
Tiempo de retención de LCMS 6,10 min $[M+H]^+$ = 249,04 (tiempo de marcha 15 minutos).

Este compuesto tenía actividad "A" en el ensayo de polarización por fluorescencia descrito a continuación.

Ensayo de polarización de fluorescencia

- 15 La polarización de fluorescencia {también conocida como anisotropía fluorescente} mide la rotación de una especie fluorescente en disolución, donde cuanto mayor es la molécula más polarizada es la emisión de fluorescencia. Cuando el fluoróforo se excita con luz polarizada, la luz emitida también está polarizada. El tamaño molecular es proporcional a la polarización de la emisión de fluorescencia.

La sonda marcada con fluoresceína – RBT0045864-FAM-



enlaza con HSP90 { HSP90 humana de longitud total, de levadura de longitud total o dominio N-terminal} y se mide la anisotropía {rotación del complejo sonda:proteína}.

El compuesto de ensayo se añade a la placa de ensayo, se deja equilibrar y la anisotropía se mide de nuevo. Cualquier cambio en la anisotropía es debido a la unión competitiva del compuesto a HSP90, liberando así la sonda.

5 Materiales

Los compuestos químicos son de la mayor pureza disponible comercialmente y todas las disoluciones acuosas se fabrican en agua AR.

- 1) Placa de ensayo negra de 96 pocillos Costar núm. 3915.
- 10 2) Tampón de ensayo de (a) Tris 100 mM de pH 7,4; (b) KCl 20 mM; (c) MgCl₂ 6 mM. Almacenados a temperatura ambiente.
- 3) BSA (albúmina de suero bovino) 10 mg/ml (New England Biolabs núm. B9001S).
- 4) Sonda 20 mM en concentración madre en DMSO al 100%. Almacenada en la oscuridad a TA. La concentración de trabajo es 200 nM diluida en agua AR y almacenada a 4°C. Concentración final en el ensayo 80 nM.
- 15 5) Proteína HSP90 de longitud completa humana expresada en E. coli, purificada a >95% (véase, por ejemplo, Panaretou et al., 1998) y almacenada en alícuotas de 50 µL a -80°C.

Protocolo

- 1) Añadir 100 µl de tampón 1x a los pocillos 11A y 12A (=PF BLNK)
- 2) Preparar la mezcla de ensayo – todos los reactivos se mantienen en hielo con un tapón en la cubeta ya que la sonda es sensible a la luz.

		i. Conc final ⁿ	
•	Tampón 1x Hsp90 PF	10 ml	1x
•	BSA 10 mg/ml (NEB)	5,0 µl	5 µg/ml
•	Sonda 200 µM	4,0 µl	80 nM
•	Hsp90 de longitud completa humano	6,25 µl	200 nM

- 20 3) Alícuota de 100 µl de mezcla de ensayo a todos los demás pocillos
 - 4) Sellar la placa y dejar en la oscuridad a temperatura ambiente durante 20 minutos para equilibrar.
- Placa de dilución del compuesto – series de dilución 1 x 3
- 25 1) Añadir en una placa de fondo en v de 96 pocillos clara – {núm. VWR 007/008/257} 10 µl de DMSO al 100% a los pocillos B1 a H11.
 - 2) Añadir a los pocillos A1 a A11 17,5 µl de DMSO al 100%
 - 3) Añadir 2,5 µl de compuesto a A1. Esto da compuesto madre 2,5 mM {50x} – asumiendo compuestos 20 mM.
 - 4) Repetir para pocillos A2 a A10. Control en columnas 11 y 12.
 - 5) Transferir 5 µl de la fila A a la fila B – no la columna 12. Mezclar bien.
 - 30 6) Transferir 5 µl de la fila B a la fila C. Mezclar bien.
 - 7) Repetir a la fila G.
 - 8) No añadir ningún compuesto a la fila H – esta es la fila 0.
 - 9) Esto produce una serie de dilución 1x3 de 50 µM a 0,07 µM.
 - 10) En el pocillo B12 preparar 20 µl de compuesto estándar 100 µM.

ES 2 559 779 T3

11) Después de la primera incubación la placa de ensayo se lee en un lector de placas Fusion™ α -FP (Packard BioScience, Pangbourne, Berkshire, RU).

5 12) Después de la primera lectura, se añaden 2 μ l de compuesto diluido a cada pocillo para las columnas 1 a 10. En la columna 11 {proporciona la curva estándar} solo añadir compuesto en B11 – H11. Añadir 2 μ l de compuesto estándar 100 mM a los pocillos B12 – H12 {es control positivo}.

13) El factor Z' se calcula a partir de controles cero y pocillos positivos. Da típicamente un valor de 0,7-0,9.

Los compuestos probados en el ensayo anterior se asignaron a uno de dos intervalos de actividad, a saber A = <10 μ M; B = >10 μ M, y esas asignaciones se presentan anteriormente.

Un ensayo de inhibición de crecimiento se empleó también para la evaluación de inhibidores de HSP90 candidatos:

10 Evaluación de citotoxicidad por ensayo de sulforodamina B (SRB): cálculo de concentración inhibidora al 50% (CI₅₀).

Día 1

1) Determinar el número de células mediante hemocitómetro.

2) Usando una multipipeta de 8 canales, añadir 160 μ l de la suspensión celular (3600 células/pocillo o 2 x 10⁴ células/ml) a cada pocillo de una placa de microtitulación de 96 pocillos.

15 3) Incubar toda la noche a 37°C en una incubadora de CO₂.

Día 2

4) Se preparan disoluciones madre de fármacos, y se realizan diluciones en serie de cada fármaco en medio para dar concentraciones finales en los pocillos.

5) Usando una multipipeta, se añaden 40 μ l de fármaco (a concentración final 5x) a pocillos por cuadruplicado.

20 6) Los pocillos de control están en ambos lados de las placas de 96 pocillos, donde se añaden 40 μ l de medio.

7) Incubar placas en una incubadora de CO₂ durante 4 días (48 horas).

Día 6

8) Vaciar el medio en la pila y sumergir la placa lentamente en ácido tricloroacético (TCA) enfriado en hielo al 10%. Dejar durante aproximadamente 30 mins en hielo.

25 9) Lavar las placas tres veces en agua del grifo sumergiendo las placas en baños de agua del grifo y vaciándolos.

10) Secar en la incubadora.

11) Añadir 100 μ l de SRB al 0,4% en ácido acético al 1% a cada pocillo (excepto la última fila (mano derecha) de la placa de 96 pocillos, que es el control al 0%, es decir, sin fármaco, sin tinte. La primera fila será el control al 100% sin fármaco, pero con tinte). Dejar durante 15 mins.

30 12) Enjuagar el tinte de SRB no unido con cuatro lavados de ácido acético al 1%.

13) Secar las placas en la incubadora.

14) Solubilizar la SRB usando 100 μ l de base Tris 10 mM y poner las placas en un agitador de placas durante 5 mins.

35 15) Determinar la absorbancia a 540 nm usando un lector de placas. Calcular la absorbancia media para pocillos cuadruplicados y expresarla como un porcentaje de valor para pocillos no tratados, de control.

16) Representar los valores de % de absorbancia frente a log de concentración de fármaco y determinar el CI₅₀.

Por medio de ilustración, el compuesto del Ejemplo 2 dio un CI₅₀ en el intervalo "A" (<50 μ M) para el ensayo de freno de crecimiento de SRB.

Referencias

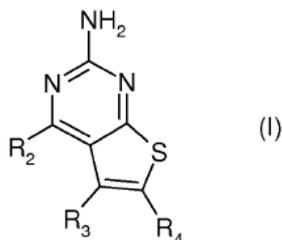
- Un número de publicaciones se citan anteriormente para describir más completamente y divulgar la invención y el estado de la técnica a la que pertenece la invención. Las citas completas para estas referencias se proporcionan a continuación. Cada una de estas referencias se incorpora en esta memoria por referencia en su totalidad en la presente descripción.
- 5 Argon Y y Simen BB. 1999 "Grp94, an ER chaperone with protein and peptide binding properties", *Semin. Cell Dev. Biol.*, Vol. 10, págs. 495-505.
- Bijlmakers M-JJE, Marsh M. 2000 "Hsp90 is essential for the synthesis and subsequent membrane association, but not the maintenance, of the Src-kinase p56lck", *Molecular Biology of the Cell*, Vol. 11(5), págs. 1585-1595.
- 10 Bucci M; Roviezzo F; Cicala C; Sessa WC, Cirino G. 2000 "Geldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90 (Hsp90) mediated signal transduction has anti-inflammatory effects and interacts with glucocorticoid receptor in vivo", *Brit. J. Pharmacol.*, Vol. 131(1), págs. 13-16.
- Chen C-F, Chen Y, Dai KD, Chen P-L, Riley DJ y Lee W-H. 1996 "A new member of the hsp90 family of molecular chaperones interacts with the retinoblastoma protein during mitosis and after heat shock", *Mol. Cell. Biol.*, Vol. 16, págs. 4691-4699.
- 15 Chiosis G, Timaul MN, Lucas B, Munster PN, Zheng FF, Sepp-Loenzino L y Rosen N. 2001 "A small molecule designed to bind to the adenine nucleotide pocket of HSP90 causes Her2 degradation and the growth arrest and differentiation of breast cancer cells", *Chem. Biol.*, Vol. 8, págs. 289-299.
- Conroy SE y Latchman DS. 1996 "Do heat shock proteins have a role in breast cancer?", *Brit. J. Cancer*, Vol. 74, págs. 717-721.
- 20 Felts SJ, Owen BAL, Nguyen P, Trepel J, Donner DB y Toft DO. 2000 "The HSP90-related protein TRAP1 is a mitochondrial protein with distinct functional properties", *J. Biol. Chem.*, Vol. 5, págs. 3305-3312.
- Fuller W, Cuthbert AW. 2000 "Post-translational disruption of the delta F508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-molecular Chaperone complex with geldanamycin stabilizes delta F508 CFTR in the rabbit reticulocyte lysate", *J. Biol. Chem.*; Vol. 275(48), págs. 37462-37468.
- 25 Hickey E, Brandon SE, Smale G, Lloyd D y Weber LA. 1999 "Sequence and regulation of a gen encoding a human 89-kilodalton heat shock protein", *Mol. Cell. Biol.*, Vol. 9, págs. 2615-2626.
- Hoang AT, Huang J, Rudra-Gonguly N, Zheng J, Powell WC, Rabindron SK, Wu C y Roy-Burman P. 2000 "A novel association between the human heat shock transcription factor I (HSF1) and prostate adenocarcinoma", *Am. J. Pathol.*, Vol. 156, págs. 857-864.
- 30 Hostein I, Robertson D, Di Stefano F, Workman P y Clarke PA. 2001 "Inhibition of signal transduction by the SHP90 inhibitor 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin results in cytostasis and apoptosis", *Cancer Res.*, Vol. 61, págs. 4003-4009.
- Hur E, Kim H-H, Choi SM, Kim JH, Yim S, Kwon HJ, Choi Y, Kim DK, Lee M-O, Park H. 2002 "Reduction of hypoxia-induced transcription through the repression of hypoxia-inducible factor-1 α /aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator DNA binding by the 90-kDa heat-shock protein inhibitor radicicol", *Mol. Pharmacol.*, Vol 62(5), págs. 975-982.
- 35 Hutter et al, 1996, *Circulation*, Vol. 94, pág. 1408.
- Jameel A, Skilton RA, Campbell TA, Chander SK, Coombes RC y Luqmani YA. 1992 "Clinical and biological significance of HSP89a in human breast cancer", *Int. J. Cancer*, Vol. 50, págs. 409-415.
- 40 Jolly C y Morimoto RI. 2000 "Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death", *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol 92, págs. 1564-1572.
- Kawanishi K, Shiozaki H, Doki Y, Sakita I, Inoue M, Yano M, Tsujinata T, Shamma A y Monden M. 1999 "Prognostic significance of heat shock proteins 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus", *Cancer*, Vol. 85, págs. 1649-1657.
- 45 Kelland LR, Abel G, McKeage MJ, Jones M, Goddard PM, Valenti M, Murrer BA y Harrap KR. 1993 "Preclinical antitumour evaluation of bis-acetalo-amino-dichloro-cyclohexylamine platinum (IV): an orally active platinum drug", *Cancer Research*, Vol. 53, págs. 2581-2586.

- Kelland LR, Sharp SY, Rogers PM, Myers TG y Workman P. 1999 "DT-diaphorase expression and tumor cell sensitivity to 17-allylamino, 17-demethoxygeldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90", *J. Natl. Cancer Inst.* Vol. 91, págs. 1940-1949.
- 5 Kerubeyashi J, Otsuki T, Kurosumi M, Soga S, Akinaga S, Sonoo, H. 2001 "A radicicol derivative, KF58333, inhibits expression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor, angiogenesis and growth of human breast cancer xenografts", *Jap. J. Cancer Res.*, Vol 92(12), 1342-1351.
- Kwon HJ, Yoshida M, Abe K, Horinouchi S y Beppele T. 1992 "Radicicol, an agent inducing the reversal of transformed phenotype of src-transformed fibroblasts", *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, Vol. 56, págs. 538-539.
- 10 Lebeau J, Le Cholony C, Prosperi MT y Goubin G. 1991 "Constitutive overexpression of 89 kDa heat shock protein gene in the HBL100 mammary cell line converted to a tumorigenic phenotype by the EJ/T24 Harvey-ras oncogene", *Oncogene*, Vol. 6, págs. 1125-1132.
- Marcu MG, Chadli A, Bouhouche I, Catelli M y Neckers L. 2000a "The heat shock protein 90 antagonist novobiocin interacts with a previously unrecognized ATP-binding domain in the carboxyl terminus of the chaperone", *J. Biol. Chem.*, Vol. 275, págs. 37181-37186.
- 15 Marcu MG, Schulte TW y Neckers L. 2000b "Novobiocin and related coumarins and depletion of heat shock protein 90-dependent signalling proteins", *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol. 92, págs. 242-248.
- Martin KJ, Kritzman BM, Price LM, Koh B, Kwan CP, Zhang X, Mackay A, O'Hare MJ, Kaelin CM, Mutter GL, Pardee AB y Sager R. 2000 "Linking gene expression patterns to therapeutic groups in breast cancer", *Cancer Res.*, Vol. 60, págs. 2232-2238.
- 20 Neckers L, Schulte TW y Momnaugh E. 1999 "Geldanamycin as a potential anti-cancer agent: its molecular target and biochemical activity", *Invest. New Drugs*, Vol. 17, págs. 361-373.
- Page J, Heath J, Fulton R, Yalkowsky E, Tabibi E, Tomaszewski J, Smith A y Rodman L. 1997 "Comparison of geldanamycin (NSC-122750) y 17-allylamino-geldanamycin (NSC-330507D) toxicity in rats", *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, Vol. 38, págs. 308.
- 25 Panaretou B, Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW y Pearl LH. 1998 "ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the HSP90 molecular chaperone in vivo", *EMBO J.*, Vol. 17, págs. 4829-4836.
- Plumier et al, 1997, *Cell. Stress Chap.*, Vol. 2, pág. 162.
- 30 Pratt WB. 1997 "The role of the HSP90-based chaperone system in signal transduction by nuclear receptors and receptors signalling via MAP kinase", *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, Vol. 37, págs. 297-326.
- Prodromou C y Pearl LH. 2000a "Structure and in vivo function of HSP90", *Curr. Opin. Struct. Biol.*, Vol. 10, págs. 46-51.
- Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW y Pearl LH. 1997 "Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the HSP90 molecular chaperone", *Cell*, Vol. 90, págs. 65-75.
- 35 Prodromou C, Panaretou B, Chohan S, Siligardi G, O'Brien R, Ladbury JE, Roe SM, Piper PW y Pearl LH. 2000b "The ATPase cycle of HSP90 drives a molecular "clamp" via transient dimerization of the N-terminal domains", *EMBO J.*, Vol. 19, págs. 4383-4392.
- Rajder et al, 2000, *Ann. Neurol.*, Vol. 47, págs. 782.
- 40 Roe SM, Prodromou C, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW y Pearl LH. 1999 "Structural basis for inhibition of the HSP90 molecular chaperone by the antitumour antibiotics radicicol and geldanamycin", *J. Med. Chem.*, Vol. 42, págs. 260-266.
- Rutherford SL y Lindquist S. 1998 "HSP90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature*. Vol. 396, págs. 336-342.
- 45 Schulte TW, Akinaga S, Murakata T, Agatsuma T, Sugimoto S, Nakano H, Lee YS, Simen BB, Argon Y, Felts S, Toft DO, Neckers LM y Sharma SV. 1999 "Interaction of radicicol with members of the heat shock protein 90 family of molecular chaperones", *Mol. Endocrinology*, Vol. 13, págs. 1435-1448.
- Schulte TW, Akinaga S, Soga S, Sullivan W, Sensgard B, Toft D y Neckers LM. 1998 "Antibiotic radicicol binds to the N-terminal domain of HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", *Cell Stress and Chaperones*, Vol. 3, págs. 100-108.

- Schulte TW y Neckers LM. 1998 "The benzoquinone ansamycin 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin binds to HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", *Cancer Chemother. Pharmacol.*, Vol. 42, págs. 273-279.
- Sittler et al, 2001, *Hum. Mol. Genet.*, Vol. 10, págs. 1307.
- 5 Smith DF. 2001 "Chaperones in signal transduction", en: *Molecular chaperones in the cell* (P Lund, ed.; Oxford University Press, Oxford y NY), págs. 165-178.
- Smith DF, Whitesell L y Katsanis E. 1998 "Molecular chaperones: Biology and prospects for pharmacological intervention", *Pharmacological Reviews*, Vol. 50, págs. 493-513.
- 10 Song HY, Dunbar JD, Zhang YX, Guo D y Donner DB. 1995 "Identification of a protein with homology to hsp90 that binds the type 1 tumour necrosis factor receptor", *J. Biol. Chem.*, Vol. 270, págs. 3574-3581.
- Stebbins CE, Russo A, Schneider C, Rosen N, Hartl FU y Pavletich NP. 1997 "Crystal structure of an HSP90-geldanamycin complex: targeting of a protein chaperone by an antitumor agent", *Cell*, Vol. 89, págs. 239-250.
- Supko JG, Hickman RL, Grever MR y Malspeis L. 1995 "Preclinical pharmacologic evaluation of geldanamycin as an antitumour agent", *Cancer Chemother. Pharmacol.*, Vol. 36, págs. 305-315.
- 15 Tratzelt et al, 1995, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, Vol. 92, págs. 2944.
- Trost et al, 1998, *J. Clin. Invest.*, Vol. 101, págs. 855.
- Tytell M y Hooper PL. 2001 "Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies", *Emerging Therapeutic Targets*, Vol. 5, págs. 267-287.
- 20 Uehara U, Hori M, Takeuchi T y Umezawa H. 1986 "Phenotypic change from transformed to normal induced by benzoquinoid ansamycins accompanies inactivation of p60src in rat kidney cells infected with Rous sarcoma virus", *Mol. Cell. Biol.*, Vol. 6, págs. 2198-2206.
- Waxman, Lloyd H. Inhibiting hepatitis C virus processing and replication. (Merck & Co., Inc., USA). *Sol. Int. PCT* (2002), WO 0207761 Winklhofer et al, 2001, *J. Biol. Chem.*, Vol. 276, 45160.
- 25 Whitesell L, Mimnaugh EG, De Costa B, Myers CE y Neckers LM. 1994 "Inhibition of heat shock protein HSP90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation". *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, Vol. 91, págs. 8324-8328.
- Yorgin et al. 2000 "Effects of geldanamycin, a heat-shock protein 90-binding agent, on T cell function and T cell nonreceptor protein tyrosine kinases", *J. Immunol.*, Vol. 164(6), págs. 2915-2923.
- 30 Young JC, Moarefi I y Hartl FU. 2001 "HSP90: a specialized but essential protein-folding tool", *J. Cell. Biol.*, Vol. 154, págs. 267-273.
- Zhao JF, Nakano H y Sharma S. 1995 "Suppression of RAS and MOS transformation by radicicol", *Oncogene*, Vol. 11, págs. 161-173.

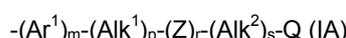
REIVINDICACIONES

1. El uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal, N-óxido, hidrato o solvato del mismo en la preparación de una composición para usar en la inhibición de actividad HSP90 in vitro o in vivo:



5 en donde

R₂ es un grupo de fórmula (IA):



en donde

Ar¹ es un radical fenilo o heteroarilo opcionalmente sustituido,

10 Alk¹ y Alk² son radicales alquilenos C₁-C₃ o alquenileno C₂-C₃ divalentes opcionalmente sustituidos,

m, p, r y s son independientemente 0 o 1,

Z es -O-, -S-, -(C=O)-, -(C=S)-, -SO₂-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^A-, -C(=S)NR^A-, -SO₂NR^A-, -NR^AC(=O)-, -NR^ASO₂- o -NR^A- en donde -R^A es hidrógeno o alquilo C₁-C₆, y

Q es hidrógeno o un radical fenilo o cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido o un radical heterocíclico;

15 R₃ es hidrógeno, un sustituyente opcional, o un radical alquilo (C₁-C₆), fenilo o heteroarilo opcionalmente sustituido; y

R₄ es (i) un grupo éster carboxílico de fórmula -COOR^C en donde R^C es un grupo alquilo C₁-C₆ o alquenilo C₂-C₆, o un grupo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, o un grupo aril(alquil C₁-C₆)- o heteroaril(alquil C₁-C₆)- opcionalmente sustituido o un grupo cicloalquilo opcionalmente sustituido o (ii) grupo carboxamida de fórmula -CONR^B(Alk)_nR^A o un grupo sulfonamida de fórmula -SO₂NR^B(Alk)_nR^A en donde

20 Alk es un radical alquilenos, alquenileno o alquinileno divalente opcionalmente sustituido,

n es 0 o 1,

R^B es hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₆ o alquenilo C₂-C₆,

R^A es hidrógeno, hidroxilo o carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido,

25 o R^A y R^B tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo morfolino, piperidinilo o piperazinilo que puede estar sustituido opcionalmente en uno o más átomos de C o N del anillo;

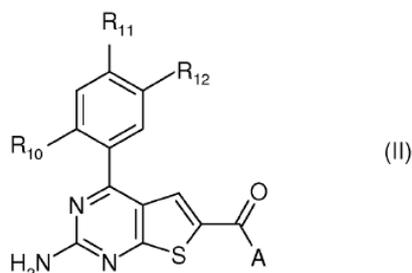
y en donde el término "opcionalmente sustituido" significa sustituido con al menos un sustituyente seleccionado de alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), hidroxilo, hidroxialquilo (C₁-C₆), mercapto, mercaptoalquilo (C₁-C₆), alquil (C₁-C₆) tio, halo (que incluye fluoro y cloro), trifluorometilo, trifluorometoxi, nitro, nitrilo (-CN), oxo, fenilo, -COOH, -COOR^A, -COR^A, -SO₂R^A, -CONH₂, -SO₂NH₂, -CONHR^A, -SO₂NHR^A, -CONR^AR^B, -SO₂NR^AR^B, -NH₂, -NHR^A, -NR^AR^B, -OCONH₂, -OCONHR^A, -OCONR^AR^B, -NHCOR^A, -NHCOOR^A, -NR^BCOOR^A, -NHSO₂OR^A, -NR^BSO₂OR^A, -NHCONH₂, -NR^ACONH₂, -NHCONHR^B, -NR^ACONHR^B, -NHCONR^AR^B o -NR^ACONR^AR^B en donde R^A y R^B son independientemente un grupo alquilo (C₁-C₆);

y en donde el término "sustituyente opcional" significa un sustituyente especificado anteriormente en la definición de "opcionalmente sustituido";

35 y en donde el término "heteroarilo" significa tienilo, benzotienilo, furilo, benzofurilo, pirrolilo, imidazolilo, benzimidazolilo, tiazolilo, benzotiazolilo, isotiazolilo, benzisotiazolilo, pirazolilo, oxazolilo, benzoxazolilo, isoxazolilo, benzisoxazolilo, isotiazolilo, triazolilo, benzotriazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, indolilo o indazolilo;

y en donde el término heterocíclico significa heteroarilo o piperidinilo, pirrolidinilo, morfolinilo o piperazinilo.

2. El uso según la reivindicación 1 para usar en inmunosupresión o el tratamiento de enfermedad vírica, enfermedades inflamatorias tales como artritis reumatoide, asma, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, lupus, psoriasis y enfermedad inflamatoria del intestino; enfermedad relacionada con angiogénesis de fibrosis quística tal como retinopatía diabética, hemangiomas y endometriosis; o para protección de células normales frente a la toxicidad inducida por quimioterapia; o enfermedades donde el fallo para experimentar apoptosis es un factor subyacente; o la protección de lesión isquémica por hipoxia debido a la elevación de Hsp70 en el corazón y el cerebro; tembladera/CJD, enfermedad de Huntington o Alzheimer.
3. El uso según la reivindicación 1 para usar en el tratamiento de cáncer.
4. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde, en el compuesto (I), m es 1, cada uno de p, r y s es 0, y Q es hidrógeno.
5. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, en el compuesto (I), R₂ es fenilo, 2- o 3-tienilo, 2- o 3-furanilo, 2-, 3- o 4-piridinilo, morfolinilo o piperidinilo, opcionalmente sustituido.
6. El uso según la reivindicación 5 en donde, en el compuesto (I), R₂ es fenilo, opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados de metilo, etilo, n- o isopropilo, vinilo, alilo, metoxi, etoxi, n-propiloxi, benciloxi, aliloxi, cianometoxi cloro, bromo, ciano, formilo, metil-, etil- o n-propil-carboniloxi, metil- o etilaminocarbonilo, y sustituyentes de fórmula -O(CH₂)_nZ¹ en donde n es 1, 2 o 3 y Z¹ es un grupo amino primario, secundario, terciario o cíclico, o un grupo alcoxi C₁-C₆; o de fórmula -(Alk³)_mZ¹ en donde Alk³ es un alquileo (C₁-C₃) divalente de cadena lineal o ramificada, m es 0 o 1, y Z¹ es un grupo amino primario, secundario, terciario o cíclico, o un grupo alcoxi C₁-C₆.
7. El uso según la reivindicación 6 en donde los sustituyentes opcionales están en la posición 2 y/o 4 y/o 5 del anillo fenilo.
8. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, en el compuesto (I), m es 1, y p, r y s son 0, y Q es un anillo carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido.
9. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, en el compuesto (I), Ar¹ es un anillo fenilo o piridilo.
10. El uso o método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, en el compuesto (I), en donde R₃ es hidrógeno.
11. El uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, en el compuesto (I), R₄ es un grupo carboxamida de fórmula -CONR^B(Alk)_nR^A o un grupo sulfonamida de fórmula -SO₂NR^B(Alk)_nR^A en donde
- Alk es -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH=CH- o -CH₂CCCH₂- opcionalmente sustituido,
- R^B es hidrógeno o metilo, etilo, n- o isopropilo o alilo,
- R^A es hidrógeno, hidroxilo o fenilo opcionalmente sustituido, 3,4-metilendioxfenilo, piridilo, furilo, tienilo, N-piperazinilo o N-morfolinilo,
- o R^A y R^B tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo N-heterocíclico que puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos adicionales seleccionados de O, S y N, y que pueden estar opcionalmente sustituidos en uno o más átomos de C o N del anillo.
12. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde, en el compuesto (I), R₄ es un grupo éster carboxílico de fórmula -COOR^C en donde R^C es metilo, etilo, n- o isopropilo, alilo, fenilo, piridilo, tiazolilo, bencilo, piridilmetilo, ciclopentilo o ciclohexilo, opcionalmente sustituido.
13. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el compuesto (I) tiene la fórmula (II):



en donde

A es un grupo amino secundario;

R₁₀ es H, Cl, Br o CH₃;

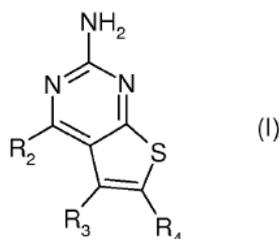
R₁₁ es hidrógeno, Cl, Br, CN, metilo, etilo, n- o iso-propilo, vinilo o alilo;

5 R₁₂ es (i) un radical de fórmula –O(CH₂)_nZ¹ en donde n es 1, 2 o 3 y Z¹ es un grupo amino primario, secundario, terciario o cíclico, o un grupo alcoxi C₁-C₆; o (ii) un radical de fórmula –(Alk³)_mZ¹ en donde Alk³ es un alquileo (C₁-C₃) divalente de cadena lineal o ramificada, m es 0 o 1, y Z¹ es un grupo amino primario, secundario, terciario o cíclico, o un grupo alcoxi C₁-C₆.

14. El uso según la reivindicación 13, en donde, en el compuesto (II), A es un grupo alquil C₁-C₆ amino secundario.

10 15. El uso según la reivindicación 13 o la reivindicación 14 en donde, en el compuesto (II), R₁₂ es (i) un radical de fórmula –O(CH₂)_nZ¹ en donde n es 1, 2 o 3 y Z¹ es di(alquil C₁-C₃)amino o alcoxi C₁-C₃.

16. Un compuesto de fórmula (I), o una sal, N-óxido, hidrato o solvato del mismo:



en donde

R₂ es un grupo de fórmula (IA):

15
$$-(Ar^1)_m-(Alk^1)_p-(Z)_r-(Alk^2)_s-Q \quad (IA)$$

en donde

Ar¹ es un radical fenilo o heteroarilo opcionalmente sustituido,

Alk¹ y Alk² son radicales alquileo C₁-C₃ o alquilenilo C₂-C₃ divalentes opcionalmente sustituidos,

m, p, r y s son independientemente 0 o 1,

20 Z es –O-, –S-, –(C=O)-, –(C=S)-, –SO₂-, –C(=O)O-, –C(=O)NR^A-, –C(=S)NR^A-, –SO₂NR^A-, –NR^AC(=O)-, –NR^ASO₂- o –NR^A- en donde R^A es hidrógeno o alquilo C₁-C₆, y

Q es hidrógeno o un radical fenilo o cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido o radical heterocíclico;

R₃ es hidrógeno, un sustituyente opcional, o un radical alquilo (C₁-C₆), arilo o heteroarilo, opcionalmente sustituido; y

25 R₄ es (i) un grupo éster carboxílico de fórmula –COOR^C en donde R^C es un grupo alquilo C₁-C₆ o alquilenilo C₂-C₆, o un grupo arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, o un grupo aril(alquil C₁-C₆)- o heteroaril(alquil C₁-C₆)- opcionalmente sustituido o un grupo cicloalquilo opcionalmente sustituido o (ii) grupo carboxamida de fórmula –CONR^B(Alk)_nR^A o un grupo sulfonamida de fórmula –SO₂NR^B(Alk)_nR^A en donde

Alk es un radical alquileo, alquilenilo o alquinileno divalente opcionalmente sustituido,

N es 0 o 1,

30 R^B es hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₆ o alquilenilo C₂-C₆,

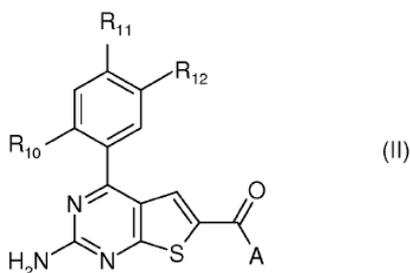
R^A es hidrógeno, hidroxilo o carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido,

o R^A y R^B tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo morfolino, piperidinilo o piperazinilo que puede estar opcionalmente sustituido en uno o más átomos de C o N del anillo;

35 con tal que (i) R₃ no sea –NH₂ y (ii) cuando R₄ es –COOCH₃ y R₃ es hidrógeno entonces R₂ no es –NH₂, etilamino, dietilamino, fenilamino, –N(Ph)(C₂H₅) en donde Ph es fenilo, pirrolidin-1-ilo o morfolin-4-ilo y (iii) cuando R₄ es –CONH₂ y R₃ es hidrógeno entonces R₂ no es –NH₂;

y en donde los términos “opcionalmente sustituido”, “sustituyente opcional”, “heteroarilo” y “heterocíclico” se definen según la reivindicación 1.

17. Un compuesto según la reivindicación 16 en donde R_3 es hidrógeno.
- 5 18. Un compuesto según la reivindicación 16 o la reivindicación 17 en donde m es 1, cada uno de p , r y s es 0, y Q es hidrógeno.
19. Un compuesto según la reivindicación 18 en donde R_2 es fenilo, 2- o 3-tienilo, 2- o 3-furanilo, 2-, 3- o 4-piridinilo, morfolinilo o piperidinilo, opcionalmente sustituido.
- 10 20. Un compuesto según la reivindicación 18 en donde R_2 es fenilo, opcionalmente sustituido por metilo, etilo, n - o isopropilo, vinilo, alilo, metoxi, etoxi, n -propiloxi, benciloxi, aliloxi, cianometoxi cloro, bromo, ciano, formilo, metil-, etil- o n -propil-carboniloxi, metil- o etilaminocarbonilo.
21. Un compuesto según la reivindicación 20 en donde los sustituyentes opcionales están en la posición 2 y/o 4 y/o 5 del anillo fenilo.
22. Un compuesto según la reivindicación 16 o la reivindicación 17 en donde m es 1, y p , r y s son 0, y Q es un anillo carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido.
- 15 23. Un compuesto según la reivindicación 16 o la reivindicación 17 en donde m es 1 y al menos uno de p , r y s es 1.
24. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 23 en donde Ar^1 es un anillo fenilo opcionalmente sustituido.
25. Un compuesto según la reivindicación 16 o la reivindicación 17 en donde m es 0.
- 20 26. Un compuesto según la reivindicación 23 o la reivindicación 24 en donde Alk^1 cuando está presente es $-CH_2$, CH_2CH_2- o $-CH=CH-$ opcionalmente sustituido; Alk^2 cuando está presente es $-CH_2$, CH_2CH_2- o $-CH=CH-$ opcionalmente sustituido; Z cuando está presente es $-O-$ o $-NH-$; y Q es hidrógeno.
27. Un compuesto según la reivindicación 26 en donde Z y Alk^2 están presentes, y Alk^2 está sustituido por di(alquil C_1-C_3)amino o alcoxi C_1-C_3 .
- 25 28. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 27 en donde R_4 es un grupo carboxamida de fórmula $-CONR^B(Alk)_nR^A$ o un grupo sulfonamida de fórmula $-SO_2NR^B(Alk)_nR^A$ en donde
- Alk es $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH_2CH=CH-$ o $-CH_2CCCH_2-$, opcionalmente sustituido,
- R^B es hidrógeno o metilo, etilo, n - o iso-propilo o alilo,
- R^A es hidrógeno, hidroxilo o fenilo, 3,4-metilenodioxifenilo, piridilo, furilo, tienilo, N -piperazinilo o N -morfolinilo, opcionalmente sustituido,
- 30 o R^A y R^B tomados juntos con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo N -heterocíclico que puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos adicionales seleccionados de O , S y N , y que pueden estar opcionalmente sustituidos en uno o más átomos de C o N del anillo.
29. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 28 en donde R_4 es un grupo carboxamida.
- 35 30. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 27 en donde R_4 es un grupo éster carboxílico de fórmula $-COOR^C$ en donde R^C es metilo, etilo, n - o iso-propilo, alilo, fenilo, piridilo, tiazolilo, bencilo, piridilmetilo, ciclopentilo o ciclohexilo opcionalmente sustituido.
31. Un compuesto según la reivindicación 16 que tiene la fórmula (II):



en donde

A es un grupo amino secundario

R₁₀ es H, Cl, Br o CH₃;

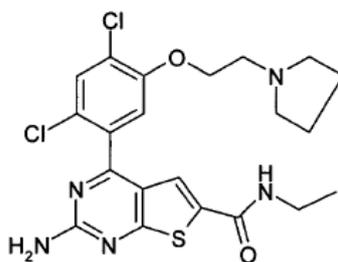
R₁₁ es hidrógeno, Cl, Br, CN, metilo, etilo, n- o iso-propilo, vinilo o alilo;

- 5 R₁₂ es (i) un radical de fórmula $-(CH_2)_nZ^1$ en donde n es 1, 2 o 3 y Z¹ es un grupo amino primario, secundario, terciario o cíclico, o un grupo alcoxi C₁-C₆; o (ii) un radical de fórmula $-(Alk^3)_mZ^1$ en donde Alk³ es un alquileo (C₁-C₃) divalente de cadena lineal o ramificada, m es 0 o 1, y Z¹ es un grupo amino primario, secundario, terciario o cíclico, o un grupo alcoxi C₁-C₆.

32. Un compuesto según la reivindicación 31 en donde A es un grupo alquil C₁-C₆ amino secundario.

- 10 33. Un compuesto según la reivindicación 31 o la reivindicación 32 en donde R₁₂ es (i) un radical de fórmula $-(CH_2)_nZ^1$ en donde n es 1, 2 o 3 y Z¹ es di(alquil C₁-C₃)amino o alcoxi C₁-C₃.

34. Un compuesto según la reivindicación 32 que tiene la fórmula



35. Una composición farmacéutica o veterinaria que comprende un compuesto según las reivindicaciones 16 a 34, junto con uno o más vehículos y/o excipientes farmacéutica o veterinariamente aceptables.