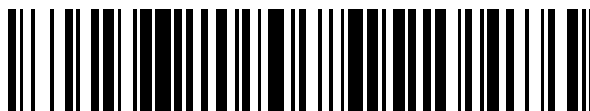


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 585 110**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

C07D 519/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/551 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2008** **E 13156251 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.04.2016** **EP 2610256**

54 Título: **Derivados de pirimidina como inhibidores de proteína cinasa**

30 Prioridad:

28.09.2007 GB 0719038

15.04.2008 GB 0806844

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

03.10.2016

73 Titular/es:

CYCLACEL LIMITED (100.0%)
New Bridge Street House, 30 - 34 New Bridge
Street
London EC4V 6BJ, GB

72 Inventor/es:

HOLLICK, JONATHAN JAMES;
JONES, START DONALD;
FLYNN, CLAIRE JUNE y
THOMAS, MICHAEL GEORGE

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 585 110 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

Derivados de pirimidina como inhibidores de proteína cinasa

5 La presente invención se refiere a derivados de pirimidina sustituidos y para su uso en terapia. Más específicamente, pero no exclusivamente, la invención se refiere a compuestos que pueden inhibir una o más proteína cinasas, particularmente cinasas de tipo polo.

Antecedentes de la invención

10 La familia de cinasas de tipo polo consiste en enzimas reguladoras clave del ciclo celular con papeles integrales en el control de la entrada en y la progresión a través de la mitosis. Muchas células tumorales expresan altos niveles de PLK1 y son sensibles a oligonucleótidos antisentido que seleccionan como diana esta proteína.

15 La iniciación de la mitosis requiere la activación del factor promotor de la fase M (MPF), es decir, el complejo entre CDK1 y ciclinas de tipo B [Nurse, P. (1990) *Nature*, 344, 503-508]. Éstas últimas se acumulan durante las fases S y G2 del ciclo celular y promueven la fosforilación inhibitoria del complejo MPF por cinasas WEE1, MIK1 y MYT1. Al final de la fase G2, la desfosforilación correspondiente por la fosfatasa de especificidad doble CDC25C desencadena la activación de MPF [Nigg, E.A. (2001) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2, 21-32]. En la interfase, la ciclina B se localiza en el citoplasma y se fosforila durante la profase, seguido por translocación nuclear. Se cree que la acumulación nuclear de MPF durante la profase es importante para iniciar los acontecimientos de la fase M [Takizawa, C.G. y Morgan, D.O. (2000) *Curr. Opin. Cell Biol.*, 12, 658-665]. Sin embargo, el MPF nuclear se mantiene inactivo por WEE1 a menos que se contrarreste por CDC25C. La propia fosfatasa CDC25C, localizada en el citoplasma durante la interfase, se acumula en el núcleo en la profase. La entrada al núcleo de tanto ciclina B como CDC25C se promueve a través de fosforilación por PLK1 [Roshak, A.K., Capper, E.A., Imburgia, C., Fornwald, J., Scott, G. y Marshall, L.A. (2000) *Cell. Signalling*, 12, 405-411]. Por tanto, esta cinasa es un regulador importante de la iniciación de la fase M.

30 En seres humanos, existen tres cinasas de tipo polo (PLK) estrechamente relacionadas [Glover, D.M., Hagan, I.M. y Tavares, A.A. (1998) *Genes Dev.*, 12, 3777-3787]. Contienen un dominio cinasa catalítico N-terminal altamente homólogo y sus extremos C-terminales contienen dos o tres regiones conservadas, las cajas polo. La función de las cajas polo sigue sin comprenderse completamente, pero se requiere la actividad de PLK1 dependiente de las cajas polo para la citocinesis y transición metafase/anafase apropiadas [Seong, Y.-S., Kamijo, K., Lee, J.-S., Fernandez, E., Kuriyama, R., Miki, T. y Lee, K.S. (2002) *J. Biol. Chem.*, 277, 32282-32293]. De las tres PLK, PLK1 es la mejor caracterizada; regula varios efectos del ciclo de división celular, incluyendo el inicio de la mitosis, la activación de los puntos de control de daño al ADN, la regulación del complejo promotor de la anafase, la fosforilación del proteosoma y la duplicación y maduración de los centrosomas. Originalmente se mostró que PLK2 (también conocida como SNK) y PLK3 (también conocida como PRK y FNK) de mamífero eran productos génicos tempranos inmediatos. La actividad de la cinasa PLK3 parece alcanzar un máximo durante la fase G2 y S tardía. También se activa durante la activación del punto de control de daño al ADN y estrés oxidativo grave. PLK3 también desempeña un papel importante en la regulación de la dinámica de microtúbulos y la función de los centrosomas en la célula y la expresión de PLK3 desregulada da como resultado detención del ciclo celular y apoptosis [Wang, Q., Xie, S., Chen, J., Fukusawa, K., Naik, U., Traganos, F., Darzynkiewicz, Z., Jhanwar-Uniyal, M. y Dai, W. (2002) *Mol. Cell. Biol.*, 22, 3450-3459]. PLK2 es el homólogo peor entendido de las tres PLK. Tanto PLK2 como PLK3 pueden tener funciones posmitóticas importantes adicionales [Kauselmann, G., Weiler, M., Wulff, P., Jessberger, S., Konietzko, U., Scafidi, J., Staubli, U., Bereiter-Hahn, J., Strebhardt, K. y Kuhl, D. (1999) *EMBO J.*, 18, 5528-5539].

55 El hecho de que las PLK humanas regulen algunos aspectos fundamentales de la mitosis se mostró mediante microinyección de anticuerpo anti-PLK1 de células tumorales humanas [Lane, H.A. y Nigg, E.A. (1996) *J. Cell. Biol.*, 135, 1701-1713]. Este tratamiento no tuvo ningún efecto sobre la replicación del ADN, pero alteró la división celular. Se detuvieron las células en mitosis y mostraban una distribución anómala de cromatina condensada y microtúbulos monoastales nucleados a partir de centrosomas duplicados, pero no separados. Por el contrario, células humanas no inmortalizadas se detuvieron como células mononucleadas, individuales en G2. Además, cuando se bloqueó la función de PLK1 a través de suministro mediado por adenovirus de un gen dominante negativo, se observó apoptosis selectiva de tumor en muchas líneas celulares tumorales, mientras que de nuevo células epiteliales normales, aunque se detuvieron en mitosis, escaparon de la catástrofe mitótica observada en células tumorales [Cogswell, J.P., Brown, C.E., Bisi, J.E. y Neill, S.D. (2000) *Cell Growth Differ.*, 11, 615-623]. Por tanto, la actividad de PLK1 es necesaria para la maduración funcional de centrosomas en G2 tardía/profase temprana y el posterior establecimiento de un huso bipolar. Además, estos resultados sugieren la presencia en células normales de un punto de control de maduración de centrosomas que es sensible a la alteración de PLK1. El agotamiento de PLK1 celular a través de la técnica de ARN de interferencia pequeño (ARNip) también confirmó que esta proteína se requiere para múltiples procesos mitóticos y para completar la citocinesis [Liu, X. y Erikson, R.L. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 5789-5794]. Un posible fundamento terapéutico para la inhibición de PLK también se sugiere mediante el trabajo con oligonucleótidos antisentido específicos de PLK1, que se mostró que inducían inhibición del crecimiento en células cancerosas tanto *in vitro* como *in vivo* [Spankuch-Schmitt, B., Wolf, G., Solbach, C., Loibl, S., Knecht, R., Stegmüller, M., von Minckwitz, G., Kaufmann, M. y Strebhardt, K. (2002) *Oncogene*, 21, 3162-3171]. Se

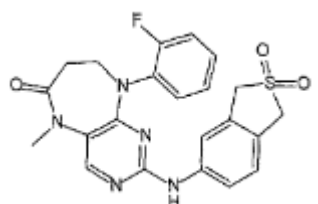
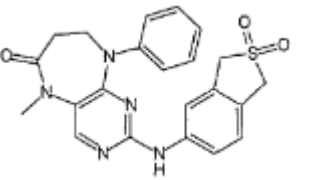
mostró que la expresión constitutiva de PLK1 en células de mamífero conducía a transformación maligna [Smith, M.R., Wilson, M.L., Hamanaka, R., Chase, D., Kung, H., Longo, D.L. y Ferris, D.K. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 234, 397-405]. Además, se observa frecuentemente sobreexpresión de PLK1 en tumores humanos y la expresión de PLK1 es de valor pronóstico para pacientes que padecen diversos tipos de tumores [Takahashi, T., Sano, B., Nagata, T., Kato, H., Sugiyama, Y., Kunieda, K., Kimura, M., Okano, Y. y Saji, S. (2003) *Cancer Science*, 94, 148-152; Tokumitsu, Y., Mori, M., Tanaka, S., Akazawa, K., Nakano, S. y Niho, Y. (1999) *Int. J. Oncol.*, 15, 687-692; Wolf, G., Elez, R., Doermer, A., Holtrich, U., Ackermann, H., Stutte, H.J., Altmannsberger, H.-M., Rübtsamen-Waigmann, H. y Strebhardt, K. (1997) *Oncogene*, 14, 543-549].

Aunque se ha apreciado el potencial terapéutico de la inhibición farmacológica de PLK [Kraker, A.J. y Booher, R.N. (1999) en *Annual Reports in Medicinal Chemistry* (vol. 34) (Doherty, A.M., ed.), págs. 247-256, Academic Press], se ha notificado muy poco hasta la fecha con respecto a inhibidores de PLK de molécula pequeña que puedan ser útiles como fármacos. Uno de los pocos inhibidores de PLK1 bioquímicos caracterizado hasta la fecha es la escitonemina, un producto natural marino indólico simétrico [Stevenson, C.S., Capper, E.A., Roshak, A.K., Marquez, B., Eichman, C., Jackson, J.R., Mattern, M., Gerwick, W.H., Jacobs, R.S. y Marshall, L.A. (2002) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 303, 858-866; Stevenson, C.S., Capper, E.A., Roshak, A.K., Marquez, B., Grace, K., Gerwick, W.H., Jacobs, R.S. y Marshall, L.A. (2002) *Inflammation Research*, 51, 112-114]. La escitonemina inhibe la fosforilación de CDC25C por PLK1 recombinante con un valor de CI_{50} de aproximadamente 2 μ M (a una concentración de ATP de 10 μ M). La inhibición aparentemente es reversible y el mecanismo con respecto a ATP de modo competitivo mixto. Se observó una potencia similar frente a otras proteínas serina/treonina cinasas y cinasas del ciclo celular de especificidad doble, incluyendo MYT1, CHK1, CDK1/ciclina B y PKC. La escitonemina mostró efectos antiproliferativos pronunciados sobre diversas líneas celulares humanas *in vitro*. Se describen inhibidores de PLK de molécula pequeña adicionales y su uso en el tratamiento de trastornos proliferativos en la solicitud de patente internacional WO 2004/067000 a nombre de Cyclacel Limited.

La presente invención busca dilucidar nuevos inhibidores de PLK de molécula pequeña. Más específicamente, la invención busca proporcionar inhibidores de PLK de molécula pequeña que tengan aplicaciones terapéuticas en el tratamiento de una gama de trastornos proliferativos.

Exposición de la de invención

Un primer aspecto de la invención se refiere a un compuesto que se selecciona entre los siguientes:

Comp.	Estructura	nombre
73		2-(2,2-Dioxo-2,3-dihidro-1H-2lambda*6*-benzo[c]tiofen-5-itamino)9-(2-fluoro-fenil)-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b] [1,4]diazepin-6-ona
75		2-(2,2-Dioxo-2,3-dihidro-1H-2lambda*6*-benzo[c]tiofen-5-ilamino)5-metil-9-fenil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b] [1,4]diazepin-6-ona

y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto tal como se describió anteriormente mezclado con un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable

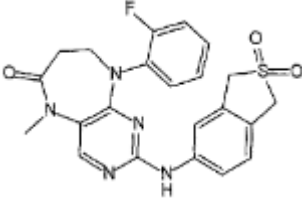
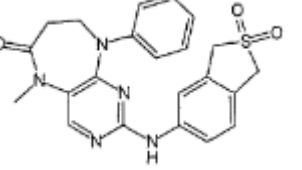
Un tercer aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto tal como se describió anteriormente en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno proliferativo.

Un cuarto aspecto de la invención se refiere a un compuesto tal como se describió anteriormente para uso en medicina.

Un quinto aspecto de la invención se refiere a una combinación que comprende un compuesto tal como se describió anteriormente y uno o más principios activos adicionales.

Descripción detallada

Tal como se mencionó anteriormente, un aspecto de la invención se refiere a un compuesto seleccionado entre los siguientes:

Comp.	Estructura	nombre
73		2-(2,2-Dioxo-2,3-dihidro-1H-2lambda*6*-benzo[c]tiofen-5-itamino)9-(2-fluoro-fenil)-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b] [1,4]diazepin-6-ona
75		2-(2,2-Dioxo-2,3-dihidro-1H-2lambda*6*-benzo[c]tiofen-5-ilamino)5-metil-9-fenil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b] [1,4]diazepin-6-ona

5 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

Ventajosamente, determinados compuestos de la invención presentan selectividad mejorada para una o más cinasas en comparación con compuestos relacionados estructuralmente conocidos previamente en la técnica.

10 En una realización preferida, el compuesto de la invención presenta selectividad para una o más cinasas con respecto a una o más de otras cinasas.

En otra realización preferida, los compuestos de la invención presentan propiedades farmacocinéticas y/o de solubilidad superiores en comparación con compuestos relacionados estructuralmente ya conocidos en la técnica.

15 **USO TERAPÉUTICO**

Se ha encontrado que los compuestos de la invención presentan actividad antiproliferativa y por tanto se cree que son de uso en el tratamiento de trastornos proliferativos tales como cánceres, leucemias y otros trastornos asociados con proliferación celular descontrolada tales como psoriasis y restenosis.

Por tanto, un aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno proliferativo.

25 Tal como se usa en el presente documento la expresión "preparación de un medicamento" incluye el uso de uno o más de los compuestos descritos anteriormente de manera directa como medicamento además de su uso en un programa de selección para agentes antiproliferativos adicionales o en cualquier fase de la fabricación de un medicamento de este tipo.

30 Tal como se define en el presente documento, un efecto antiproliferativo dentro del alcance de la presente invención puede demostrarse mediante la capacidad para inhibir la proliferación celular en un ensayo de células completas *in vitro*, por ejemplo, usando cualquiera de las líneas celulares AGS, H1299 o SJS-A-1. Usando tales ensayos puede determinarse si un compuesto es antiproliferativo en el contexto de la presente invención.

35 Una realización preferida se refiere a uno o más compuestos de la invención para su uso en el tratamiento de trastornos proliferativos. Preferiblemente, el trastorno proliferativo es un cáncer o leucemia. El término trastorno proliferativo se usa en el presente documento en un sentido amplio para incluir cualquier trastorno que requiera el control del ciclo celular, por ejemplo, trastornos cardiovasculares tales como restenosis y cardiomiopatía, trastornos autoinmunitarios tales como glomerulonefritis y artritis reumatoide, trastornos dermatológicos tales como psoriasis, trastornos antiinflamatorios, antifúngicos, antiparasitarios tales como malaria, enfisema y alopecia. En estos trastornos, los compuestos de la presente invención pueden inducir apoptosis o mantener la estasis dentro de las células deseadas según se requiera.

40 En una realización preferida de la invención, el trastorno proliferativo es cáncer o leucemia, más preferiblemente cáncer.

En una realización preferida, el trastorno proliferativo es un tumor sólido.

50 En otra realización preferida, el trastorno proliferativo es un cáncer hematológico. Preferiblemente, el cáncer hematológico es leucemia, más preferiblemente, leucemias avanzadas o síndromes mielodisplásicos (MDS). Otros

ejemplos incluyen leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia linfocítica aguda (LLA) o leucemia linfocítica crónica (LLC).

En otra realización preferida, el trastorno proliferativo es glomerulonefritis.

5

Aún en otra realización preferida, el trastorno proliferativo es artritis reumatoide.

En otra realización preferida, el trastorno proliferativo es psoriasis.

10

En otra realización preferida, el trastorno proliferativo es un trastorno pulmonar obstructivo crónico.

Los compuestos de la invención pueden inhibir cualquiera de las etapas o estadios en el ciclo celular, por ejemplo, formación de la envuelta nuclear, salida de la fase quiescente del ciclo celular (G0), progresión a G1, descondensación de cromosomas, rotura de la envuelta nuclear, START, iniciación de la replicación del ADN, progresión de la replicación del ADN, terminación de la replicación del ADN, duplicación de los centrosomas, progresión a G2, activación de funciones mitóticas o meióticas, condensación de cromosomas, separación de los centrosomas, nucleación de microtúbulos, formación y función del huso, interacciones con proteínas motoras de microtúbulos, separación y segregación de cromátidas, inactivación de funciones mitóticas, formación del anillo contráctil y funciones de citocinesis. En particular, los compuestos de la invención pueden influir en determinadas funciones génicas tales como unión de la cromatina, formación de complejos de replicación, permiso de replicación, fosforilación u otra actividad de modificación secundaria, degradación proteolítica, unión de microtúbulos, unión de actina, unión de septina, actividad de nucleación del centro de organización de microtúbulos y unión a componentes de rutas de señalización del ciclo celular.

15

20

25

En otra realización preferida, el compuesto de la invención se administra en cantidad suficiente para inhibir al menos una aurora quinasa. Preferentemente, la aurora quinasa es la aurora quinasa A, la aurora quinasa B o la aurora quinasa C.

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

30

Un aspecto adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención mezclado con uno o más diluyentes, excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables. A pesar de que los compuestos de la presente invención (incluyen sus sales farmacéuticamente aceptables, y solvatos farmacéuticamente aceptables) pueden administrarse solos, generalmente se administrarán en mezcla con un portador, excipiente o diluyente farmacéutico, particularmente para terapia en seres humanos. Las composiciones farmacéuticas pueden ser para su uso humano o animal en medicina humana y veterinaria.

35

Pueden encontrarse ejemplos de tales excipientes adecuados para las diversas formas diferentes de composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento en "Handbook of Pharmaceutical Excipients", 2ª edición, (1994), editado por A Wade y PJ Weller.

40

En la técnica farmacéutica se conocen bien portadores o diluyentes aceptables para su uso terapéutico, y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985).

45

Los ejemplos de portadores adecuados incluyen lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol y similares. Los ejemplos de diluyentes adecuados incluyen etanol, glicerol y agua.

La elección del portador, excipiente o diluyente farmacéutico puede seleccionarse con respecto a la vía de administración prevista y la práctica farmacéutica convencional. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como, o además de, el portador, excipiente o diluyente cualquier aglutinante, lubricante, agente de suspensión, agente de recubrimiento, agente de solubilización adecuado.

50

Los ejemplos de aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa, lactosa anhidra, lactosa de flujo libre, beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como goma arábiga, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa y polietilenglicol.

55

Los ejemplos de lubricantes adecuados incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares.

60

Pueden proporcionarse conservantes, estabilizadores, tintes e incluso agentes aromatizantes en la composición farmacéutica. Los ejemplos de conservantes incluyen benzoato de sodio, ácido sórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico. También pueden usarse antioxidantes y agentes de suspensión.

SALES

65

Los compuestos de la invención pueden estar presentes como sales, en particular sales farmacéuticamente

aceptables.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención incluyen sales de adición de ácido o base adecuadas de los mismos. Puede encontrarse una revisión de sales farmacéuticas adecuadas en Berge *et al*, J Pharm Sci, 66, 1-19 (1977). Se forman sales, por ejemplo con ácidos inorgánicos fuertes tales como ácidos minerales, por ejemplo ácido sulfúrico, ácido fosfórico o hidrácidos halogenados; con ácidos carboxílicos orgánicos fuertes, tales como ácidos alcanocarboxílicos de 1 a 4 átomos de carbono que no están sustituidos o están sustituidos (por ejemplo, con halógeno), tales como ácido acético; con ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados, por ejemplo oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, ftálico o tetraftálico; con ácidos hidroxicarboxílicos, por ejemplo ácido ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico o cítrico; con aminoácidos, por ejemplo ácido aspártico o glutámico; con ácido benzoico; o con ácidos sulfónicos orgánicos, tales como ácidos alquil(C₁-C₄) o arilsulfónicos que no están sustituidos o están sustituidos (por ejemplo, con un halógeno) tales como ácido metano o p-toluenosulfónico. Preferiblemente, la sal es una sal de HCl.

15 ENANTIÓMEROS/TAUTÓMEROS

En todos los aspectos de la presente invención tratados anteriormente, la invención incluye, cuando sea apropiado todos los enantiómeros y tautómeros de los compuestos de la invención. El experto en la técnica reconocerá compuestos que presentan propiedades ópticas (uno o más átomos de carbono quirales) o características tautoméricas. Los enantiómeros y/o tautómeros correspondientes pueden aislarse/prepararse mediante métodos conocidos en la técnica.

ESTEREOISÓMEROS E ISÓMEROS GEOMÉTRICOS

25 Algunos de los compuestos de la invención pueden existir como estereoisómeros y/o isómeros geométricos, por ejemplo, pueden presentar uno o más centros asimétricos y/o geométricos y de ese modo pueden existir en dos o más formas estereoisoméricas y/o geométricas. La presente invención contempla el uso de todos los estereoisómeros e isómeros geométricos individuales de esos agentes inhibidores, y mezclas de los mismos. Los términos usados en las reivindicaciones abarcan estas formas, siempre que dichas formas conserven la actividad funcional apropiada (aunque no necesariamente en el mismo grado).

La presente invención también incluye todas las variaciones isotópicas adecuadas del agente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Una variación isotópica de un agente de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se define como una en la que al menos un átomo se reemplaza por un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica encontrada habitualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en el agente y sales farmacéuticamente aceptables del mismo incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor y cloro tales como ²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁷O, ¹⁸O, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ¹⁸F y ³⁶Cl, respectivamente. Determinadas variaciones isotópicas del agente y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, por ejemplo, en las que se incorpora un isótopo radiactivo tal como ³H o ¹⁴C, son útiles en estudios de distribución tisular de fármaco y/o sustrato. Se prefieren particularmente isótopos tritados, es decir, ³H, y de carbono-14, es decir, ¹⁴C, por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos tales como deuterio, es decir, ²H, puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, aumento de la semivida *in vivo* o reducción de los requisitos de dosificación y por tanto pueden preferirse en algunas circunstancias. Pueden prepararse generalmente variaciones isotópicas del agente de la presente invención y sales farmacéuticamente aceptables del mismo de esta invención mediante procedimientos convencionales usando variaciones isotópicas apropiadas de reactivos adecuados.

50 SOLVATOS

La presente invención también incluye formas de solvato de los compuestos de la presente invención. Los términos usados en las reivindicaciones abarcan estas formas.

55 POLIMORFOS

La invención se refiere además a los compuestos de la presente invención en sus diversas formas cristalinas, formas polimórficas y formas anhidras. Está bien establecido dentro de la industria farmacéutica que pueden aislarse compuestos químicos en cualquiera de tales formas variando ligeramente el método de purificación y o aislamiento de los disolventes usados en la preparación de síntesis de tales compuestos.

60 PROFÁRMACOS

La memoria descriptiva describe los compuestos de la presente invención en forma de profármaco. Dichos profármacos suelen ser compuestos de la invención en los que uno o más grupos adecuados se han modificado de forma que la modificación se pueda revertir tras su administración a un sujeto humano o mamífero. Dicha reversión se suele llevar a cabo mediante una enzima presente de forma natural en dicho sujeto, aunque es posible

administrar un segundo agente junto con dicho profármaco para realizar la reversión in vivo. Los ejemplos de dichas modificaciones incluyen éster, por ejemplo (cualquiera de los descritos anteriormente) en el que la reversión se puede llevar a cabo mediante una esterasa. El experto en la materia conocerá bien otros sistemas de ese tipo.

5 ADMINISTRACIÓN

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden adaptarse para las vías de administración oral, rectal, vaginal, parenteral, intramuscular, intraperitoneal, intraarterial, intratecal, intrabronquial, subcutánea, intradérmica, intravenosa, nasal, bucal o sublingual.

10 Para la administración oral, se hace un uso particular de comprimidos preparados mediante compresión, píldoras, comprimidos, cápsulas de gelatina, gotas y cápsulas. Preferiblemente, estas composiciones contienen desde 1 hasta 250 mg y más preferiblemente desde 10-100 mg, de principio activo por dosis.

15 Otras formas de administración comprenden disoluciones o emulsiones que pueden inyectarse por vía intravenosa, pro vía intraarterial, por vía intratecal, por vía subcutánea, por vía intradérmica, por vía intraperitoneal o por vía intramuscular, y que se preparan a partir de disoluciones estériles o esterilizables. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden estar en forma de supositorios, óvulos vaginales, suspensiones, emulsiones, lociones, pomadas, cremas, geles, pulverizaciones, disoluciones o polvos para uso externo.

20 Un medio alternativo de administración transdérmica es mediante el uso de un parche cutáneo. Por ejemplo, el principio activo puede incorporarse en una crema que consiste en una emulsión acuosa de polietilenglicoles o parafina líquida. El principio activo también puede incorporarse, a una concentración de entre el 1 y el 10 % en peso, en una pomada que consiste en una base de cera blanca o parafina blanda blanca junto con tales estabilizadores y conservantes según puedan requerirse.

25 Las formas inyectables pueden contener entre 10 - 1000 mg, preferiblemente entre 10 - 250 mg, de principio activo por dosis.

30 Las composiciones pueden formularse en forma farmacéutica unitaria, es decir, en forma de porciones diferenciadas que contienen una dosis unitaria, o un múltiplo o subunidad de una dosis unitaria.

DOSIFICACIÓN

35 Un experto habitual en la técnica puede determinar fácilmente una dosis apropiada de una de las presentes composiciones para administrar a un sujeto sin experimentación excesiva. Normalmente, un médico determinará la dosificación real que será la más adecuada para un paciente individual y dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el modo y el momento de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad del estado particular y el individuo que se somete a terapia. Las dosificaciones dadas a conocer en el presente documento son a modo de ejemplo del caso promedio. Por supuesto puede haber casos individuales en los que sean necesarios intervalos de dosificación superiores o inferiores, y éstos están dentro del alcance de esta invención.

45 Dependiendo de la necesidad, el agente puede administrarse a una dosis de desde 0,01 hasta 30 mg/kg de peso corporal, tal como desde 0,1 hasta 10 mg/kg, más preferiblemente desde 0,1 hasta 1 mg/kg de peso corporal.

50 En una realización a modo de ejemplo, se administrarán una o más dosis de 10 a 150 mg/día al paciente para el tratamiento de tumores malignos.

COMBINACIONES

55 En una realización particularmente preferida, el uno o más compuestos de la invención se administran en combinación con uno o más de otros agentes activos, por ejemplo, fármacos anticancerígenos existentes disponibles en el mercado. En tales casos, los compuestos de la invención pueden administrarse consecutiva, simultánea o secuencialmente con el uno o más de otros agentes activos.

60 Los fármacos anticancerígenos en general son más eficaces cuando se usan en combinación. En particular, es deseable una terapia de combinación con el fin de evitar un solapamiento de las toxicidades principales, el mecanismo de acción y el(los) mecanismo(s) de resistencia. Además, también es deseable administrar la mayoría de los fármacos a sus dosis toleradas máximas con intervalos de tiempo mínimos entre tales dosis. Las principales ventajas de la combinación de fármacos quimioterapéuticos es que pueden promover posibles efectos sinérgicos o aditivos a través de interacciones bioquímicas y también pueden disminuir la aparición de resistencia en células tumorales tempranas que de lo contrario podrían ser sensibles a la quimioterapia inicial con un único agente. Un ejemplo del uso de interacciones bioquímicas en la selección de combinaciones de fármacos se demuestra mediante la administración de leucovorina para aumentar la unión de un metabolito intracelular activo de 5-fluorouracilo a su

diana, timidilato sintasa, aumentado así sus efectos citotóxicos.

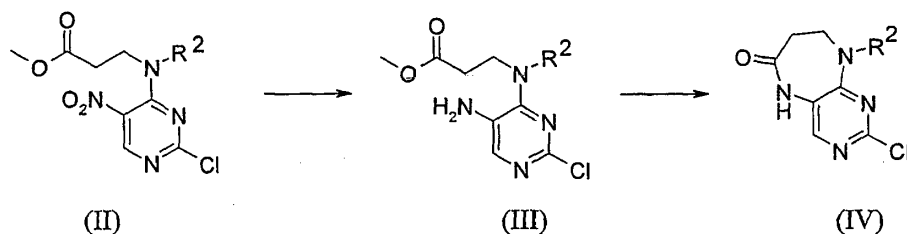
Se usan numerosas combinaciones en los tratamientos actuales de cáncer y leucemia. Puede encontrarse una revisión más extensa de las prácticas médicas en "Oncologic Therapies" editado por E.E. Vokes y H. M. Golomb, publicado por Springer.

Pueden sugerirse combinaciones beneficiosas estudiando la actividad inhibitoria del crecimiento de los compuestos de prueba con agentes que se sabe o se sospecha que son valiosos en el tratamiento de un cáncer particular inicialmente o líneas celulares derivadas de ese cáncer. Este procedimiento también puede usarse para determinar el orden de administración de los agentes, es decir, antes, simultáneamente o tras la administración. Tal programación puede ser una característica de todos los agentes que actúan en el ciclo identificados en el presente documento.

PROCESO

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

- (i) convertir un compuesto de fórmula (II) en un compuesto de fórmula (IV) o bien directamente o bien mediante aislamiento de un compuesto de fórmula (III); y
- (ii) convertir dicho compuesto de fórmula (IV) en un compuesto de fórmula (I)



Preferiblemente, la etapa (i) comprende calentar dicho compuesto de fórmula (II) con NH_4Cl y Fe en $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$.

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

Los ejemplos marcados con un asterisco (*) se incluyen solamente como referencia.

Ejemplos

Procedimiento experimental general

Se adquirieron productos químicos y disolventes de fuentes comerciales y se usaron tal como se recibieron a menos que se indique lo contrario. Se usó MgSO_4 anhidro como agente de secado convencional para disoluciones orgánicas a menos que se indique lo contrario. Se registraron los espectros de RMN usando un instrumento Varian INOVA-500. Se notifican los desplazamientos químicos en partes por millón en relación con un patrón de tetrametilsilano interno. Las constantes de acoplamiento (J) se citan hasta el 0,1 Hz más próximo. Se usan las siguientes abreviaturas: s, singlete; d, doblete; t, triplete; c, cuartete; q, quintuplete; m, multiplete y a, ancho. Los espectros de masas se obtuvieron usando un espectrómetro de masas de cuadrupolo individual ZQ2000 de Waters con ionización por electropulverización (ESI). Se realizó RP-HPLC analítica y preparativa usando cualquiera de las columnas Vydac 218TP54 (250 x 4,6 mm) y Vydac 218TP1022 (250 x 22 mm) usando una elución en gradiente lineal de sistemas de agua/acetonitrilo (que contienen el 0,1 % de ácido trifluoroacético) a velocidades de flujo de 1 ml/min. (analítica) y 9 ml/min. (preparativa). Los gradientes analíticos usados fueron los siguientes:

Método	% de acetonitrilo Tiempo = 0 min.	% de acetonitrilo Tiempo = 20 min.	% de acetonitrilo Tiempo = 25 min.
Vydac 1	0	60	100
Vydac 2	10	70	100
Vydac 3	20	80	100

Alternativamente, columnas Xbridge (100 x 4,6 mm) y Xbridge (100 x 19 mm) usando un gradiente lineal de sistemas de agua/acetonitrilo (que contienen el 0,1 % de hidróxido de amonio) a velocidades de flujo de 1 ml/min. (analítica) y 20 ml/min. (preparativa).

Los gradientes analíticos usados fueron los siguientes:

Método	% de acetonitrilo Tiempo = 0 min.	% de acetonitrilo Tiempo = 5 min.	% de acetonitrilo Tiempo = 10 min.	% de acetonitrilo Tiempo = 12 min.
XBridge1	0		50	100
XBridge2	10			100
XBridge3	20	70		100

Se usaron gel de sílice (EM Kieselgel 60, 0,040-0,063 mm, Merck) o columnas pre-llenadas ISOLUTE (Biotage) para cromatografía ultrarrápida.

5

Abreviaturas:

DIPEA diisopropiletilamina

DCM diclorometano

10 DMF dimetilformamida

DMSO dimetilsulfóxido

EtOAc acetato de etilo

EtOH etanol

HCl ácido clorhídrico

15 K₂CO₃ carbonato de potasio

Mel yoduro de metilo

MeOH metanol

MgSO₄ sulfato de magnesio

NaH hidruro de sodio

20 NaCl cloruro de sodio

NH₄Cl cloruro de amonio

MR mezcla de reacción

ta temperatura ambiente

TBTU tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio

25 TFA ácido trifluoroacético

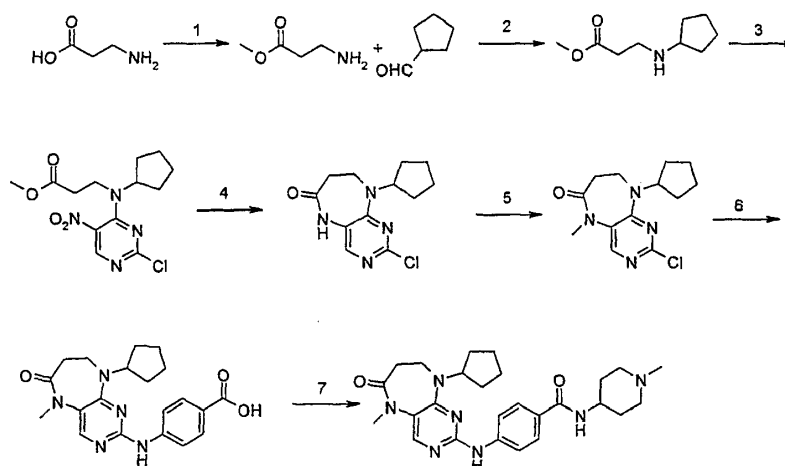
TFE 2,2,2-trifluoroetanol

THF tetrahidrofurano

* EJEMPLO 1

30

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



35

1. Cloruro de tionilo (2,1 eq.), MeOH, 0 °C para adición, 2 h de reflujo; 2. ciclopentanona (0,77 eq.), acetato de sodio (0,77 eq.), triacetoxiborohidruro de sodio (1,11 eq.), DCM, 16 h a ta; 3. 2,4-dicloro-5-nitropirimidina (1,1 eq.), K₂CO₃ (1 eq.), acetona, 16 h a 0 °C - ta; 4. NH₄Cl (8,5 eq.), Fe (8 eq.), EtOH/H₂O (4:1), 2,5 h a reflujo; - no aislado 5. Mel (1,18 eq.), NaH (1,07 eq.), DMF, -10 °C - ta, 3 h; 6. ácido 4-amino-3-metoxibenzoico (1,5 eq.), HCl conc., H₂O/EtOH (4:1), 48 h a reflujo; 7. DIPEA (2 eq.), TBTU (1,1 eq.), 4-aminometilpiperidina (1,2 eq.), DCM, 16 h a ta.

40

Etapa 1: 3-aminopropanoato de metilo

45

Se añadió β-alanina (9,37 g, 0,105 mol) a MeOH (50 ml) y se enfrió la mezcla hasta 0 °C usando un baño de hielo antes de la adición gota a gota de cloruro de tionilo [precaución: adición exotérmica]. Una vez se completó la adición,

se calentó la reacción hasta ta, entonces se sometió a reflujo durante 2 h. A continuación se evaporó el disolvente a presión reducida y se trató el aceite resultante con éster t-butilmetílico y se separaron por filtración los cristales resultantes y se secaron adicionalmente a vacío para dar un sólido cristalino de color blanco (11 g, cuant.); ¹H (DMSO-d₆): δ 2,73 (dd, J= 7 Hz, 2H, CH₂), 2,98 (dd, J= 7 Hz, 2H, CH₂), 3,61 (s, 3H, CH₃), 8,28 (sa, 2H, NH₂); EM positivo: 104,1.

Etapa 2: 3-(ciclopentilamino)propanoato de metilo

Se solubilizó 3-aminopropanoato de metilo (9,37 g, 0,09 mol) en DCM (200 ml) y se añadieron ciclopentanona (6,43 ml, 0,07 mol), acetato de sodio (5,96 g, 0,07 mol) y triacetoxiborohidruro de sodio (22 g, 0,10 mol). Se agitó la reacción a ta durante 16 h. Entonces se añadieron bicarbonato de sodio al 20 % (100 ml) e hidróxido de sodio 2 M (50 ml) y se extrajo el producto usando DCM/H₂O. Se combinaron los extractos orgánicos, se lavaron con NaCl sat., se secaron usando MgSO₄, se filtraron y se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó adicionalmente a vacío para dar el producto como un aceite de color amarillo pálido (8,90 g, 55 %); EM positivo: 172,4.

Etapa 3: 3-[ciclopentil(2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)amino]propanoato de metilo

Se añadieron 3-(ciclopentilamino)propanoato de metilo (838 mg, 0,005 mol) y K₂CO₃ (676 mg, 0,005 mol) a acetona (5 ml) y se enfrió la mezcla resultante hasta 0 °C usando un baño de hielo antes de la adición de 2,4-dicloro-5-nitropirimidina (1,044 g, 1,1 eq.). Entonces se calentó la mezcla de reacción (MR) hasta ta y se continuó agitando durante 16 h adicionales antes de la adición de 0,12 eq. adicionales de la pirimidina. Entonces se continuó agitando durante 3 h adicionales. Entonces se evaporó la MR a presión reducida y se extrajo el producto usando EtOAc/H₂O. Se combinaron los extractos orgánicos, se lavaron con NaCl sat., se secaron usando MgSO₄, se filtraron y se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó adicionalmente a vacío para dar el producto como un residuo aceitoso de color marrón (1,04 g, 65 %); Rt = 16 min. (Vydac 1); ME positivo: 329,1.

Etapa 4: 2-cloro-9-ciclopentil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

Se añadieron 3-[ciclopentil(2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)amino]propanoato de metilo (1,00 g, 0,003 mol) y NH₄Cl (1,38 g, 0,025 mol, 8,5 eq.) a EtOH/H₂O (4:1 ml, 10 ml) y se calentó la mezcla hasta reflujo antes de la adición en porciones de polvo de hierro (1,36 g, 0,024 mol, 8 eq.). Entonces se sometió la MR a reflujo durante 2 h adicionales. Se monitorizó el avance de la reacción mediante HPLC y cuando no quedaba MP se filtró la MR en caliente a través de Celite. Se lavó el Celite con EtOAc (10 ml) y EtOH (10 ml) [ambos calientes] y se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó adicionalmente a vacío para dar el producto como un sólido de color marrón (350 mg, 43 %); Rt = 12 min. (Vydac 1); EM positivo: 267,2.

Etapa 5: 2-cloro-9-ciclopentil-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

Se añadieron 2-cloro-9-ciclopentil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (318 mg, 0,0012 mol) y MeI (88 µl, 0,0014 mol, 1,18 eq.) a DMF (5 ml) y se enfrió la disolución hasta -10 °C usando acetona/nieve carbónica antes de la adición de NaH (30 mg, 0,0013 mol, 1,07 eq.). Entonces se agitó la MR a 0 °C durante 30 min. y a ta durante 30 min. Se concentró la MR y se extrajo el producto usando EtOAc/H₂O. Se combinaron los extractos orgánicos, se lavaron con NaCl sat., se secaron usando MgSO₄, se filtraron y se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó adicionalmente a vacío para dar el producto como un residuo aceitoso de color púrpura (252 mg, 75 %); Rt = 13 min. (Vydac 1); EM positivo: 281,2.

Etapa 6: (compuesto [1]) ácido 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-benzoico.

Método de acoplamiento A

Se añadieron 2-cloro-9-ciclopentil-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona (248 mg, 0,0009 mol) y ácido 4-amino-3-metoxibenzoico (221 mg, 0,0013 mol, 1,5 eq.), HCl conc. (152 µl) y H₂O/EtOH (8:2 ml) a un matraz de fondo redondo y se calentó la MR resultante hasta reflujo durante 4h. Se monitorizó el avance de la reacción mediante HPLC y cuando no quedaba material de partida (tiempo de reacción de 4 h), se concentró la MR a presión reducida y se extrajo el producto usando DCM/H₂O. Se combinaron los extractos orgánicos, se lavaron con NaCl sat., se secaron usando MgSO₄, se filtraron y se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó adicionalmente a vacío para dar un residuo aceitoso de color marrón. Se añadieron algunas gotas de MeOH al residuo y se recogió el ppt sólido formado mediante filtración por succión, se lavó con MeOH y se secó adicionalmente a vacío para dar el producto como un sólido de color púrpura (51 mg, 14 %); Rt = 11,2 min. (0_60_20 min., pureza del 100 %); ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 1,61 (sa, 4H, ciclopent-H), 1,72 (sa, 2H, ciclopent-H), 1,94 (sa, 2H, ciclopent-H), 2,59 (dd, J= 4,5 Hz, 2H, CH₂), 3,18 (s, 3H, CH₃), 3,63 (dd, J= 4,5 Hz, 2H, CH₂), 3,95 (s, 3H, CH₃), 7,51 (s, 1H), 7,56 (d, J= 8 Hz, 1H, phe-H), 7,82 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 8,47 (d, J= 8,5 Hz, 1H, phe-H), 12,64 (sa, 1H, NH); EM positivo: 412,2.

Etapa 7: (compuesto [2]): 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-

N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida

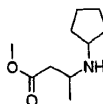
Se añadieron ácido 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-benzoico (35 mg, 0,085 mmol), DIPEA (28 μ l, 0,17 mmol, 2 eq.) y TBTU (30 mg, 0,093 mmol, 1,1 eq.) a 3 ml de DCM y se agitó la disolución resultante a ta durante 30 min. antes de la adición de 4-aminometilpiperidina (13 μ l, 0,10 mmol, 1,2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 16h. Se concentró la MR y se extrajo el producto usando DCM/H₂O. Se combinaron los extractos orgánicos, se lavaron con NaCl sat., se secaron usando MgSO₄, se filtraron y se evaporó el filtrado a presión reducida y se secó adicionalmente a vacío para dar un residuo aceitoso de color amarillo (21 mg, 49 %); Rt = 9,86 min. (0_60_20 min., pureza del 100 %); ¹H-RMN (CD₃OD): δ 1,69 - 1,75 (m, 6H), 1,82 (sa, 2H), 1,96 - 1,99 (m, 2H), 2,03 - 2,05 (sa, 2H), 2,18 - 2,23 (m, 2H), 2,34 (s, 3H, CH₃), 2,68 (dd, J= 4,5 Hz, 2H, CH₂), 2,95 - 2,97 (m, 2H), 3,28 (s, 3H, CH₃), 3,73 (dd, J= 4,5 Hz, 2H, CH₂), 3,89 - 3,94 (m, 1H, CH), 4,01 (s, 3H, CH₃), 4,91 - 4,96 (m, 1H, CH), 7,49 - 7,51 (m, 2H), 8,02 (sa, 1H), 8,50 (d, J= 8,5 Hz, 1H, phe-H); EM positivo: 508,2.

Productos intermedios de aminoéster

Se prepararon los siguientes productos intermedios mediante el método descrito en el ejemplo 1, etapa 2:

Éster metílico del ácido 3-ciclopentilamino-butírico

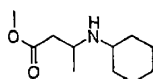
20



EM positivo: 186,3

Éster metílico del ácido 3-ciclohexilamino-butírico

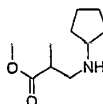
25



EM positivo: 200,3

Éster metílico del ácido 3-ciclopentilamino-2-metil-propiónico

30

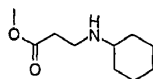


35

¹H-RMN (CDCl₃): 1,18 (3H, d, J 7 Hz, CH₃), 1,33 (2H, m, CH₂), 1,53 (2H, m, CH₂), 1,67 (2H, m, CH₂), 1,82 (2H, m, CH₂), 2,63 (2H, m, CH₂), 2,87 (1H, m, CH), 3,06 (1H, m, CH), 3,69 (3H, s, OCH₃)

Éster metílico del ácido 3-ciclohexilamino-propiónico

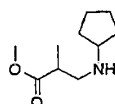
40



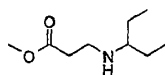
EM positivo: 186,4.

Éster metílico del ácido 3-ciclopentilamino-4-metil-pentanoico

45

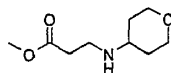


50

Éster metílico del ácido 3-(1-etil-propilamino)-propiónico

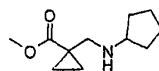
¹H-RMN (CDCl₃): 0,89 (6H, t, J 8 Hz, CH₃), 1,44 (4H, m, CH₂CH₃), 1,77 (1H, sa, NH), 2,39 (1H, m, CH), 2,53 (2H, m, CH₂), 2,89 (2H, m, CH₂), 3,69 (3H, s, OCH₃)

5 *Éster metílico del ácido 3-(tetrahidro-piran-4-ilamino)-propiónico*



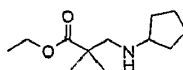
10 ¹H-RMN (CDCl₃): 1,41 (2H, m, CH₂), 1,86 (2H, m, CH₂), 2,54 (2H, m, CH₂), 2,71 (1H, m, CH), 2,95 (2H, m, CH₂), 3,44 (2H, t, J 11,5 Hz, CH₂), 3,71 (3H, s, OCH₃), 3,99 (2H, d, J 11 Hz, CH₂)

Éster metílico del ácido 1-ciclopentilaminometil-ciclopropanocarboxílico



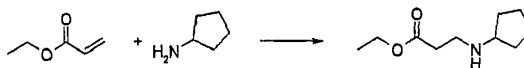
15 ¹H-RMN (CDCl₃): 0,84 (3H, t, J 7 Hz, CH₃), 1,25 (4H, m, CH₂), 1,37 (2H, m, CH), 1,54 (2H, m, CH), 1,70 (2H, m, CH), 1,83 (2H, m, CH), 2,71 (2H, s, CH₂), 3,10 (1H, m, CH), 4,16 (2H, q, J 7 Hz, CH₂CH₃)

20 *Éster etílico del ácido 3-ciclopentilamino-2,2-dimetil-propiónico*



25 ¹H-RMN (CDCl₃): 1,19 (6H, s, CH₃), 1,25 (3H, t, J 7 Hz, CH₃), 1,28 (2H, m, CH), 1,49 (2H, m, CH), 1,65 (2H, m, CH), 2,64 (1H, s, CH₂), 3,01 (1H, m, CH), 4,10 (2H, q, J 7,5 Hz, CH₂)

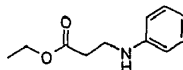
Método alternativo, etapa 2a: 3-aminopropanoato de metilo



30 Se añadió gota a gota acrilato de metilo (4,50 ml, 4,302 g, 49,97 mmol, 0,99 eq.) a una disolución de
 35 ciclopentilamina (5,00 ml, 4,315 g, 50,68 mmol) en metanol (120 ml) a -60 °C (nieve carbónica, acetona). Se
 permitió que la mezcla de reacción se calentase hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Se
 eliminó el disolvente (presión reducida, vacío) para proporcionar el producto como un aceite (8,236 g,
 rendimiento en bruto del 96 %). La RMN protónica indicó que el producto contenía ~25 % de un subproducto
 dialquilado.

Los siguientes compuestos se prepararon mediante un método similar.

40 *Éster etílico del ácido 3-fenilamino-propiónico*

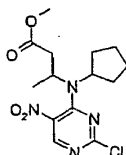


45 ¹H-RMN (CDCl₃): 1,29 (3H, t, J 7,5 Hz, CH₃), 2,64 (2H, t, J 6,5 Hz, CH₂), 3,48 (2H, t, J 6,5 Hz, CH₂), 4,18 (2H, q, J 7 Hz, CH₂), 6,65 - 6,74 (5H, m, Ar-H)

Productos intermedios de nitropirimidina

También se prepararon los siguientes productos intermedios mediante el método descrito en el ejemplo 1,
 etapa 3:

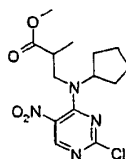
50 *Éster metílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-butírico*



ES 2 585 110 T3

Rt = 18,0 min. (0_60_20 min.); EM positivo: 343,20.

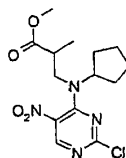
Éster metílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclohexil-amino]-butírico



5

EM positivo: 357,2.

Éster metílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-2-metil-propiónico

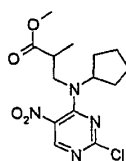


10

¹H-RMN (CDCl₃): 1,22 (3H, d, J 12 Hz, CH₃), 1,57 (2H, m, CH₂), 1,76 (2H, m, CH₂), 1,93 (2H, m, CH₂), 1,98 (2H, m, CH₂), 3,18 (1H, s, CH), 3,61 (3H, m, CH + CH₂), 3,68 (3H, s, OCH₃), 8,74 (1H, s, Pyr-H)

15

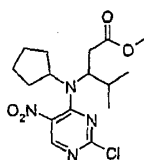
Éster metílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclohexil-amino]-propiónico



20

Rt = 17,6 min. (Vydac 1); EM positivo: 343,1.

Éster metílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-4-metil-pentanoico

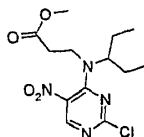


25

¹H-RMN (CDCl₃): 0,94 (6H, t, J 7 Hz), 1,45 -1,82 (7H, m, 3 x CH₂ + CH), 2,17 (1H, m, CH), 2,69 (2H, m, 2 x CH), 3,35 (2H, m, H₂), 2,58 (1H, m, CH), 3,73 (3H, s, OCH₃), 8,64 (1H, s, Pyr-H)

30

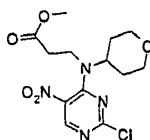
Éster metílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-(1-etil-propil)-amino]-propiónico



EM (positivo) 331,1, 333,1

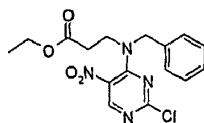
35

Éster metílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-(tetrahidro-piran-4-il)-amino]-propiónico



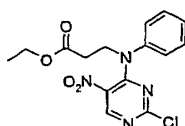
EM (positivo) 345,1, 347,0; t_R = 12,62 min. (Vydac 1).

Éster etílico del ácido 3-[bencil-(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-amino]-propiónico



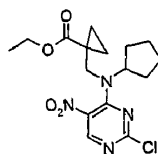
5 ¹H-RMN (CDCl₃): 1,26 (3H, t, J 7 Hz, CH₃), 2,73 (2H, t, J 7 Hz, CH₂), 3,85 (2H, m, CH₂), 4,16 (2H, q, J 7 Hz, CH₂), 4,71 (2H, s, CH₂), 7,20 (2H, m, Ar-H), 7,37 (3H, m, Ar-H), 8,69 (1H, s, Pyr-H).

Éster etílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-fenil-amino]-propiónico



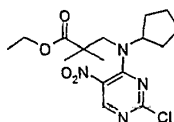
10 ¹H-RMN (CDCl₃): 1,22 (3H, t, J 7,5 Hz, CH₃), 2,73 (2H, t, J 7 Hz, CH₂), 4,09 (2H, q, J 7 Hz, CH₂), 4,43 (2H, t, J 7 Hz, CH₂), 7,14-7,48 (5H, m, Ar-H), 8,57 (1H, s, Pyr-H).

Éster etílico del ácido 1-[[2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-metil]ciclopropanocarboxílico



20 EM (positivo) 381,1, 383,3; t_R = 4,80 min. (XBridge 1).

Éster etílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-2,2-dimetil-propiónico

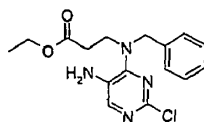


25 EM (positivo) 371,1, 373,1; t_R=4,67 min. (XBridge 1).

Ésteres de aminopirimidina que conducen a cloropirimidin-diazepinas

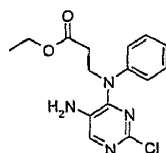
30 Se aislaron los siguientes compuestos a partir de la reacción de reducción mostrada en el ejemplo 1, etapa 4 como productos intermedios no ciclados.

Éster etílico del ácido 3-[(5-amino-2-cloro-pirimidin-4-il)-bencil-amino]-propiónico



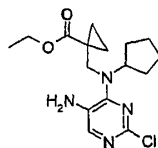
35 ¹H-RMN (CDCl₃): 1,26 (3H, t, J 7,5 Hz, CH₃), 2,73 (2H, t, J 7 Hz, CH₂), 3,86 (2H, t, J 7 Hz, CH₂), 4,14 (2H, q, J 7 Hz, CH₂), 4,86 (2H, s, CH₂), 7,26 - 7,39 (5H, m, Ar-H), 7,94 (1H, s, Pyr-H)

40 Éster etílico del ácido 3-[(5-amino-2-cloro-pirimidin-4-il)-fenil-amino]-propiónico



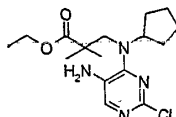
EM (positivo) 321,2, 323,2; t_R= 3,54 min. (XBridge 1).

Éster etílico del ácido 1-[[5-amino-2-cloro-pirimidin-4-il]-ciclopentil-amino]-metil]-ciclopropanocarboxílico



5 EM (positivo) 339,2, 341,2; t_R = 4,15 min. (XBridge 1).

Éster etílico del ácido 3-[[5-amino-2-cloro-pirimidin-4-il]-ciclopentil-amino]-2,2-dimetil-propiónico



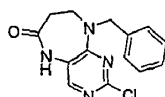
10 EM (positivo) 341,2, 343,2; t_R = 4,25 min. (XBridge 1).

Entonces se ciclaron los compuestos anteriores usando el siguiente método.

15 Se calentó el compuesto relevante (5 mmol) en DMF (10 ml) hasta 140 °C durante 2 horas. Se evaporó el disolvente a vacío, se añadió acetato de etilo (10 ml), y se filtró el sólido resultante y se secó a vacío para dar los compuestos enumerados a continuación.

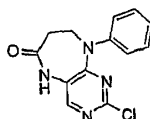
Nota: Esta reacción también puede llevarse a cabo con DMSO/NaH

20 *9-Bencil-2-cloro-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona*



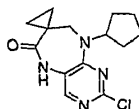
25 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 2,72 (2H, m, CH₂), 3,67 (2H, m, CH₂), 4,86 (2H, s, CH₂), 7,26-7,37 (5H, m, Ar-H), 7,88 (1H, s, Pyr-H), 9,77 (1H, s, NH)

2-Cloro-9-fenil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona



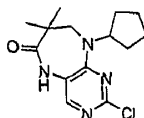
30 EM (positivo) 275,2, 277,2; t_R = 2,80 min. (XBridge 1).

2-Cloro-9-ciclopentil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-7,1'-ciclopropan]-6-ona



35 EM (positivo) 293,2, 295,2; t_R = 3,48 min. (XBridge 1).

2-Cloro-9-ciclopentil-7,7-dimetil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona



40 EM (positivo) 295,1, 297,2; t_R = 3,58 min. (XBridge 1).

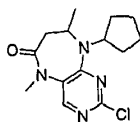
45

Diazepinonas alquiladas

También se prepararon los siguientes productos intermedios mediante el método descrito en el ejemplo 1, etapa 5:

5

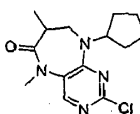
2-Cloro-9-ciclopentil-5,8-dimetil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona



10

Rt = 14,6 min. (Vydac 1); EM positivo: 295,2.

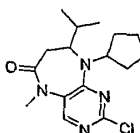
2-Cloro-9-ciclopentil-5,7-dimetil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona



15

EM (positivo) 295,1, 297,2; t_R = 9,11 min. (XBridge 2).

2-Cloro-9-ciclopentil-8-isopropil-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

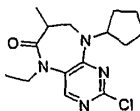


20

EM (positivo) 323,1, 325,1; t_R = 10,17 min. (XBridge 2).

2-Cloro-9-ciclopentil-5-etil-7-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

25

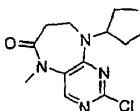


30

¹H-RMN (CDCl₃): 1,08 (6H, m, 2 x CH₃), 1,38 (1H, m, CH), 1,55 -1,70 (5H, m, CH + CH₂), 1,70 (1H, m, CH), 2,10 (1H, m, CH), 2,73 (1H, m, CH), 3,48 (2H, m, CH₂), 4,03 (1H, m, CH), 4,72 (1H, m, CH), 7,98 (1H, s, Pyr-H)

2-Cloro-9-(1-etil-propil)-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

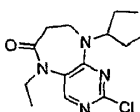
35



EM (positivo) 283,2, 285,1; t_R = 8,44 min. (XBridge 2).

2-Cloro-9-(1-etil-propil)-5-etil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

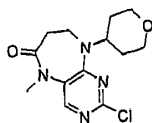
40



EM (positivo) 297,12, 299,14; t_R = 3,67 min. (XBridge 2).

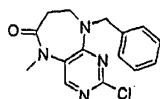
2-Cloro-5-metil-9-(tetrahidro-piran-4-il)-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

45



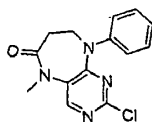
EM (positivo) 297,1, 299,2; t_R = 5,74 min. (XBridge 2).

5 *9-Bencil-2-cloro-5-metil-5,7,8,9-tetrahidropirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona*



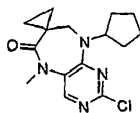
EM (positivo) 303,1, 305,2; t_R = 13,57 min. (Vydac 1).

10 *2-Cloro-5-metil-9-fenil-5,7,8,9-tetrahidropirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona*



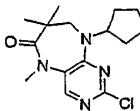
15 EM (positivo) 289,1, 291,1; t_R = 2,93 min. (XBridge 2).

2-Cloro-9-ciclopentil-5-metil-5,7,8,9-tetrahidropirimido[4,5-b][1,4]diazepin-7,1'-ciclopropan-6-ona



20 EM (positivo) 307,1, 309,2; t_R = 3,67 min. (XBridge 2).

2-Cloro-9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-5,7,8,9-tetrahidropirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

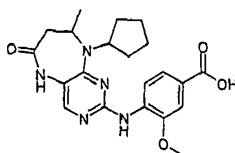


25 EM (positivo) 309,1, 311,2; t_R = 3,90 min. (XBridge 2).

30 Pirimidindiazepinonas acopladas

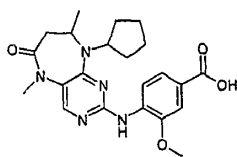
También se prepararon los siguientes compuestos mediante el método descrito en el ejemplo 1, etapa 6, método de acoplamiento A:

35 *Compuesto [3]: ácido 4-(9-ciclopentil-8-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-benzoico*



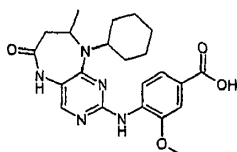
40 Sólido de color púrpura (29 %) $^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1,33 (d, J = Hz, 3H, CH_3), 1,52 - 1,58 (m, 3H, ciclopent- H), 1,70 - 1,78 (m, 3H, ciclopent- H), 1,87 - 1,93 (m, 2H, ciclopent- H), 2,97 - 3,00 (m, 2H, CH_2), 3,94 (s, 3H, CH_3), 4,15 - 4,17 (m, 1H, CH), 4,93 - 4,97 (m, 1H, CH), 7,59 - 7,60 (m, 2H), 7,82 (1, 1H), 8,01 (d, J = 9 Hz, 1H, phe- H), 9,55 (sa, 1H, OH), 9,96 (s, 1H); EM positivo: 426,2. R_t = 11,08 min. (pureza del 100 %, (Vydac 1))

45 *Compuesto [4]: ácido 4-(9-ciclopentil-5,8-dimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-benzoico*



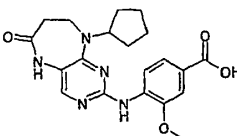
Sólido de color púrpura (67 %). $^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1,26 (d, $J = \text{Hz}$, 3H, CH_3), 1,43 - 1,93 (m, 8H, ciclo-pent-H), 2,52 (s, 3H, CH_3), 2,99 - 3,02 (m, 2H, CH_2), 3,96 (s, 3H, CH_3), 4,13 - 4,16 (m, 1H, CH), 4,65 - 4,69 (m, 1H, CH), 7,60 - 7,61 (m, 2H), 8,06 (d, $J = 9 \text{ Hz}$, 1H, phe-H), 8,17 (s, 1H), 9,35 (sa, 1H); EM positivo: 426,2. Rt = 11,59 min. (pureza del 96 %, (Vydac 1))

Compuesto [5]: ácido 4-(9-ciclohexil-8-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-benzoico



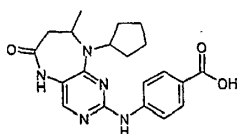
Sólido de color marrón (12 %); $^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1,27 (d, $J = 6,5 \text{ Hz}$, 3H, CH_3), 1,58 - 1,87 (m, 10H, ciclohex-H), 2,85 - 2,88 (m, 2H, CH_2), 3,94 (s, 3H, CH_3), 4,21 - 4,23 (m, 1H, CH), 4,77 (sa, 1H, CH), 7,03 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,57 - 7,58 (m, 2H), 7,086 (s, 1H), 8,07 - 8,08 (m, 1H), 9,89 (sa, 1H, NH); ME positivo: 426,2. Rt = 11,58 min. (pureza del 90 %, (Vydac 1))

Compuesto [6]: ácido 4-(9-ciclopentil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-benzoico



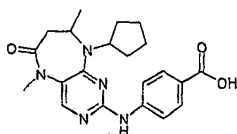
Sólido de color púrpura (13 %); $^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1,55 - 1,86 (m, 8H, ciclo-pent-H), 2,70 - 2,73 (m, 2H, CH_2), 3,70 - 3,72 (m, 2H, CH_2), 5,02 - 5,09 (m, 1H, CH), 7,57 - 7,59 (m, 2H), 7,77 (s, 1H, pirimid-H), 8,06 (d, $J = 8,5 \text{ Hz}$, 1H, phe-H), 9,54 (sa, 1H, OH), 9,75 (s, 1H, NH); EM positivo: 398,2. Rt = 10,55 min. (pureza del 96 %, (Vydac 1))

Compuesto [7]: ácido 4-(9-ciclopentil-8-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-benzoico



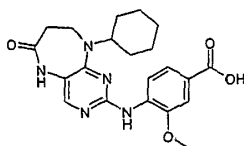
Sólido blanquecino (10 %); $^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1,27 (d, $J = 6,5 \text{ Hz}$, 3H, CH_3), 1,46-1,90 (m, 8H, ciclo-pent-H), 2,83 - 2,86 (m, 2H, CH_2), 4,07 - 4,09 (m, 1H, CH), 5,04-5,09 (m, 1H, CH), 7,20 (dd, $J = 3,5$ y $8,5 \text{ Hz}$, 2H, phe-H), 7,79 (d, $J = 2,0 \text{ Hz}$, 1H, pirimid-H), 7,86 (d, $J = 8,5 \text{ Hz}$, 2H, phe-H), 9,78 (sa, 1H, NH); EM positivo: 382,2. Rt = 10,46 min. (pureza del 90 %, (Vydac 1))

Compuesto [8]: ácido 4-(9-ciclopentil-5,8-dimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-benzoico



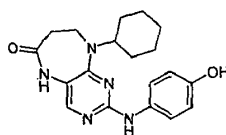
Sólido blanquecino (25 %); $^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6): δ 1,19 (d, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 3H, CH_3), 1,32-2,10 (m, 8H, ciclo-pent-H), 2,73 - 2,76 (m, 2H, CH_2), 3,22 (s, 3H, CH_3), 4,04 (m, 1H, CH), 4,70 - 4,75 (m, 1H, CH), 7,78 - 7,85 (m, 4H, phe-H), 8,12 (s, 1H, pirimid-H), 9,68 (sa, 1H, NH); EM positivo: 394,0. Rt = 11,05 min. (pureza del 96 %, (Vydac 1))

Compuesto [9]: ácido 4-(9-ciclohexil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico



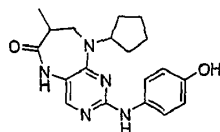
Sólido de color marrón (15 %); $^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6): δ 1,15 - 1,86 (m, 10H, ciclohex-H), 2,72 (dd, $J = 4,5$ Hz, 2H, CH_2), 3,75 (dd, $J = 4,5$ Hz, 2H, CH_2), 3,96 (s, 3H, CH_3), 4,58 - 4,63 (m, 1H, CH), 7,58 - 7,60 (m, 2H), 7,79 (s, 1H, pirimido), 8,16 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, phe-H), 9,74 (sa, 1H, NH); EM positivo: 412,2. Rt = 11,19 min. (pureza del 100 %, (Vydac 1))

Compuesto [10]: 9-ciclohexil-2-(4-hidroxi-fenilamino)-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona



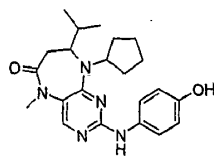
Sólido de color púrpura (7 %); $^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6): δ 1,17 - 1,87 (m, 10H, ciclohex-H), 2,72 (sa, 2H, CH_2), 3,72 (sa, 2H, CH_2), 4,62 - 4,66 (m, 1H, CH), 6,82 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, phe-H), 7,13 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,34 - 7,37 (m, 3H, 2 x phe-H y NH); EM positivo: 354,2. Rt = 10,63 min. (pureza del 100 %, (Vydac 1))

Compuesto [11]: 9-ciclopentil-2-(4-hidroxi-fenilamino)-7-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona



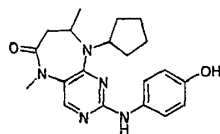
$^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD): 1,18 (3H, d, J 7 Hz, CH_3), 1,52 (1H, m, CH), 1,61 - 1,84 (6H, m, CH), 1,99 (1H, m, CH), 2,85 (1H, m, CH), 3,53 (2H, m, CH), 5,14 (1H, m, CH), 6,74 (2H, m, Ar-H), 7,34 (2H, m, Ar-H), 7,64 (1H, s, Pyr-H); EM (positivo): 354,2; $t_R = 10,85$ min. (Vydac 1).

Compuesto [12]: 9-ciclopentil-2-(4-hidroxi-fenilamino)-8-isopropil-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona



$^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 0,72 (3H, d, J 7 Hz, CHCH_3), 0,85 (2H, d, J 7 Hz, CHCH_3), 1,29 (1H, m, CH), 1,51 (4H, m, CH), 1,60 (2H, m, CH), 1,93 (1H, m, CH), 2,08 (1H, m, CH), 2,29 (2H, m, 2 x CH), 3,13 (3H, s, N- CH_3), 3,82 (1H, m, CH), 4,15 (1H, m, CH), 6,65 (2H, d, J 6 Hz, Ar-H), 7,47 (2H, d, J 6 Hz, Ar-H), 8,14 (1H, s, Pyr-H), 8,99 (1H, s, NH); EM (positivo): 396,1; $t_R = 12,54$ min. (Vydac 1).

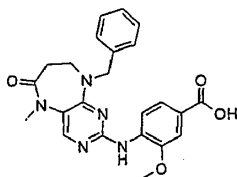
Compuesto [13]: 9-ciclopentil-2-(4-hidroxi-fenilamino)-5,8-dimetil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona



Sólido de color blanco (27 %); $^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6): δ 1,22 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H, CH_3), 1,38 - 1,85 (m, 8H, ciclopent-H), 2,49 - 2,53 (m, 2H, CH_2), 3,18 (s, 3H, CH_3), 4,05 - 4,10 (m, 1H, CH), 4,51 - 4,60 (m, 1H, CH), 6,80 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, phe-H), 7,22 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, phe-H), 7,98 (s, 1H, pirimid-H), 9,53 (sa, 1H, OH), 10,05 (sa, 1H, NH); EM positivo: 368,3. Rt= 10,81 min. (pureza del 93 %, (Vydac 1))

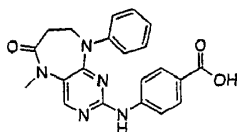
Compuesto [14]: ácido 4-(9-bencil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-

metoxi-benzoico



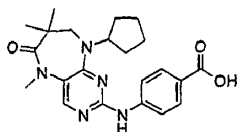
5 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 2,72 (2H, m, CH_2), 3,68 (2H, m, CH_2), 3,90 (3H, s, OCH_3), 4,88 (2H, s, CH_2), 7,22 - 7,44 (6H, m, Ar-H), 7,44 (1H, s, Ar-H), 7,77 (1H, s, Pyr-H), 8,10 (1H, d, J 7 Hz), 8,18 (1H, s, NH); EM (positivo): 434,2; t_R = 10,97 min. (Vydac 1).

10 **Compuesto [15]: ácido 4-(5-metil-6-oxo-9-fenil-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-benzoico**



15 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 2,84 (2H, m, CH_2), 3,28 (3H, s, CH_3), 4,08 (2H, m, CH_2), 7,24 (2H, d, J 8,5 Hz, Ar-H), 7,35 - 7,37 (3H, m, Ar-H), 7,47 - 7,52 (4H, m, Ar-H), 8,29 (1H, s, Pyr-H), 9,77 (1H, s, NH); EM (positivo): 390,2; t_R = 1,93 min. (XBridge 2).

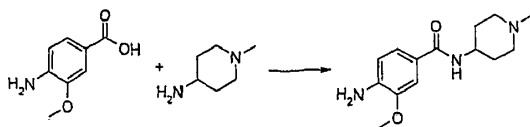
20 **Compuesto [16]: ácido 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-benzoico**



25 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 1,09 (6H, s, CH_3), 1,60 (4H, m, CH), 1,74 (2H, m, CH), 1,88 (2H, m, CH), 3,19 (3H, s, N- CH_3), 3,37 (2H, s, CH_2), 5,23 (1H, s, CH), 7,82 (4H, m, Ar-H), 7,99 (1H, s, Pyr-H), 9,57 (1H, s, NH); EM (positivo): 410,25; t_R = 2,25 min. (XBridge 2).

Preparación y reacción de amino-benzamidas

4-Amino-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida

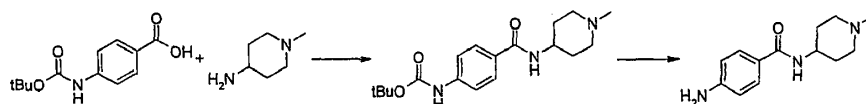


30 A ácido 4-amino-3-metoxibenzoico (1,064 g mg, 6,37 mmol) en diclorometano (50 ml) se le añadió DIPEA (2,22 ul, 12,74 mmol) y TBTU (2,25 g, 7,0 mmol) y se agitó la mezcla durante 10 minutos. Se añadió 4-amino-1-metilpiperidina (0,872 g, 7,65 mmol) y se continuó agitando durante 16 horas. Se filtró el sólido resultante y se secó a vacío (1,04 g, 3,95 mmol, 62 %).

35 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 1,54 (2H, m, CH), 1,68 (2H, m, CH), 1,90 (2H, m, CH), 2,15 (3H, s, N- CH_3), 2,76 (2H, d, J 11,5 Hz, CH), 3,66 (1H, m, CH), 3,77 (3H, s, OCH_3), 6,56 (1H, m, Ar-H), 7,26 (1H, m, Ar-H), 7,75 (1H, d, J 7,5 Hz); EM (positivo) 264,4; t_R = 7,45 min. (Vydac 2).

40 Se prepararon las siguientes amino-benzamidas mediante un método similar:

45 **4-Amino-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida** por medio del éster terc-butílico del ácido [4-(1-metil-piperidin-4-ilcarbamoyl)-fenil]-carbámico



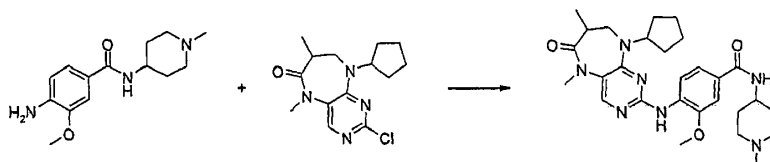
Éster terc-butílico del ácido [4-(1-metil-piperidin-4-ilcarbamoil)-fenil]-carbámico, $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 1,44 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,52 (2H, m, CH), 1,71 (2H, m, CH), 1,92 (2H, m, CH), 1,92 (3H, s, N- CH_3), 2,74 (2H, m, CH), 3,68 (1H, m, N-CH), 7,47 (2H, d, J 8,5 Hz, Ar-H), 7,72 (2H, d, J 8,5 Hz, Ar-H), 8,00 (1H, d, J 7,5 Hz, NH), 9,54 (1H, s, NH) Se usó este compuesto sin desprotección previa cuando se usó el método de acoplamiento B (a continuación)

5

Método de acoplamiento B

Compuesto [17]: 4-(9-ciclopentil-5,7-dimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida

10



Se calentaron la anilina (149 mg, 0,57 mmol), pirimidina (53 mg, 0,19 mmol) y el TFA (109 μl , 0,95 mmol) en 2,2,2-trifluoroetanol (5 ml) hasta reflujo durante 18 horas. Se evaporó el disolvente, se añadió acetato de etilo (10 ml), se lavó con NaHCO_3 sat., salmuera y se evaporó el disolvente. Se añadió acetato de etilo (10 ml) y se filtró el sólido resultante y se secó a vacío (30 mg, 0,06 mmol, 30 %).

15

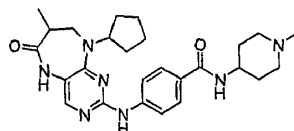
$^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 1,06 (3H, d, J 7 Hz, CHCH_3), 1,52 - 1,78 (10H, m, alquilo CH + CH_2), 2,01 (2H, m, CH), 2,36 (3H, s, N- CH_3), 2,73 (1H, m, CH), 2,85 (2H, m, CH), 3,45 (1H, m, CH), 3,71 (1H, m, CH), 3,94 (3H, s, OCH_3), 5,06 (1H, m, CH), 7,46 (2H, m, Ar-H), 7,61 (1H, s, Ar-H), 7,77 (1H, s, NH), 8,10 (1H, d, J 8 Hz, Ar-H), 8,36 (1H, d, J 8 Hz, Ar-H), 9,44 (1H, s, NH); EM (positivo): 508,2; $t_R = 7,30$ min. (XBridge 2).

20

Se prepararon los siguientes compuestos de manera similar al compuesto anterior:

Compuesto [18]: 4-(9-ciclopentil-7-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida

25

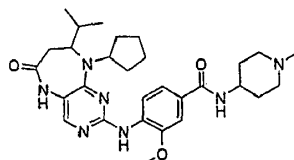


$^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 1,08 (3H, d, J 7 Hz, CHCH_3), 1,53 - 1,80 (10H, m, alquilo CH + CH_2), 2,01 (2H, m, CH), 2,12 (2H, m, CH), 2,29 (3H, s, N- CH_3), 2,75 (1H, m, CH), 2,90 (2H, m, CH), 3,48 (1H, m, CH), 3,77 (1H, m, CH), 5,11 (1H, m, CH), 7,78 (4H, m, Ar-H), 8,04 (1H, d, J 7,5 Hz, NH), 9,35 (1H, s, CONH), 9,43 (1H, s, CONH); EM (positivo): 478,2; $t_R = 6,74$ min. (XBridge 2).

30

Compuesto [19]: 4-(9-ciclopentil-8-isopropil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida

35

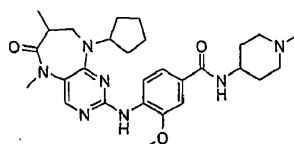


$^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD): 0,92 (3H, d, J 6,5 Hz, CHCH_3), 1,04 (3H, d, J 6 Hz, CHCH_3), 1,65 - 1,97 (14H, m, alquilo CH + CH_2), 2,25 (2H, dd, J 11,5 Hz, 11,5 Hz, CH), 2,36 (3H, s, N- CH_3), 2,67 (1H, m, CH), 3,03 (3H, m, CH + CH_2), 3,51 (1H, m, CH), 3,95 (1H, m, CH), 4,02 (3H, s, OCH_3), 5,09 (1H, m, CH), 7,59 (2H, m, Ar-H), 7,87 (1H, s, pyr-H-H), 8,46 (1H, d, J 7 Hz, Ar-H); EM (positivo): 536,3; $t_R = 7,68$ min. (XBridge 2).

40

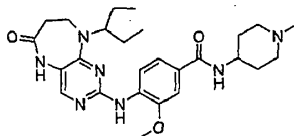
Compuesto [20]: 4-(9-ciclopentil-5,7-dimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida

45



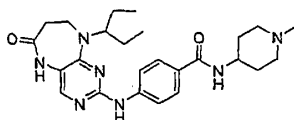
¹H-RMN (DMSO): 1,02 (3H, d, J 6,5 Hz, CHCH₃), 1,54 - 1,80 (12H, m, alquilo CH + CH₂), 2,10 (3H, m, (CH + CH₂), 2,27 (3H, s, N-CH₃), 2,84 (3H, m, CH₃), 3,15 (3H, s, CH₃), 3,46 (1H, m, CH), 3,80 (1H, m, N-CH), 3,95 (3H, s, OCH₃), 4,76 (1H, m, CH), 7,50 (2H, m, Ar-H), 7,75 (1H, s, Ar-H), 8,10 (1H, s, NH), 8,14 (1H, d, J 7,5 Hz, Ar-H), 8,40 (1H, d, J 8 Hz, Ar-H); EM (positivo): 522,3; t_R = 7,76 min. (XBridge 2).

5 **Compuesto [21]:** 4-[9-(1-etil-propil)-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino]-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



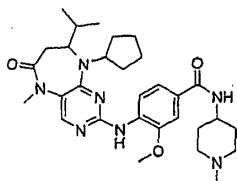
10 ¹H-RMN (DMSO): 0,85 (6H, d, J 7 Hz, CH₂CH₃), 1,59 (4H, m, CH₂CH₃), 1,66 (2H, m, CH), 1,83 (2H, m, CH), 2,37 (3H, s, N-CH₃), 2,65 (2H, m, CH₂), 2,98 (2H, m, CH), 3,50 (2H, m, CH₂), 3,83 (1H, m, N-CH), 3,94 (3H, s, OCH₃), 4,93 (1H, s, CH), 4,49(2H, m, Ar-H + NH), 7,57 (1H, s, NH), 7,79 (1H, s, Ar-H), 8,15 (1H, d, J 6,5 Hz, Ar-H), 8,37 (1H, d, J 8,5 Hz, Ar-H), 9,41 (1H, s, NH); EM (positivo): 496,2; t_R = 6,73 min. (XBridge 2).

15 **Compuesto [22]:** 4-[9-(1-etil-propil)-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino]-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



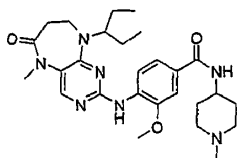
20 ¹H-RMN (DMSO): 0,86 (6H, d, J 7 Hz, CH₂CH₃), 1,56 (4H, m, CH₂CH₃), 1,62 (2H, m, CH), 1,76 (2H, m, CH), 2,52 (3H, s, N-CH₃), 2,63 (2H, m, CH₂), 3,22 (2H, m, CH), 3,49 (2H, m, CH₂), 3,92 (1H, m, CH), 4,97 (1H, m, CH), 7,78 (4H, m, Ar-H), 8,15 (1H, s, Pyr-H), 9,31 (1H, s, NH), 9,39 (1H, s, NH); EM (positivo): 466,3; t_R = 6,26 min. (XBridge 2).

25 **Compuesto [23]:** 4-(9-ciclopentil-8-isopropil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



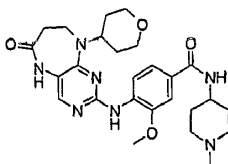
30 ¹H-RMN (CD₃OD): 0,83 (3H, d, J 7 Hz, CHCH₃), 0,93 (3H, d, J 7 Hz, CHCH₃), 1,41 (2H, m, CH), 1,65 (4H, m, CH), 1,79 (2H, m, CH), 1,91 (2H, m, CH), 2,17 (2H, m, CH), 2,41 (2H, m, 2 x CH), 2,71 (4H, m, CH₃ + CH), 2,91 (2H, m, CH), 3,35 (3H, s, CH₃), 3,90 (1H, m, CH), 3,94 (3H, s, OCH₃), 4,21 (1H, m, CH), 4,27 (1H, m, CH), 7,18 (2H, m, Ar-H), 8,23 (1H, s, Pyr-H), 8,56 (1H, d, J 8,5 Hz, Ar-H); EM (positivo): 550,3; t_R = 8,40 min. (XBridge 2).

35 **Compuesto [24]:** 4-[9-(1-etil-propil)-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino]-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



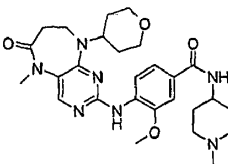
40 ¹H-RMN (DMSO): 0,85 (6H, t, J 7,5, CH₂CH₃), 1,62 (8H, m, CH + CH₂), 1,76 (2H, d, J 7 Hz, CH), 1,94 (2H, dd, J 10 Hz, 10 Hz, CH), 2,17 (3H, s, N-CH₃), 2,64 (2H, m, CH₂), 2,80 (2H, d, J 11 Hz, CH), 3,18 (3H, s, N-CH₃), 3,49 (2H, m, CH₂), 3,75 (1H, m, CH), 3,95 (3H, s, OCH₃), 4,65 (1H, m, CH), 7,49 (2H, m, Ar-H), 7,69 (1H, s, Pyr-H), 8,07 (1H, s, NH), 8,10 (1H, d, J 9 Hz, Ar-H), 8,37 (1H, d, J 9 Hz, Ar-H); EM (positivo): 510,3; t_R = 8,35 min. (XBridge 2).

45 **Compuesto [25]:** 3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-4-[6-oxo-9-(tetrahidropiran-4-il)-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino]-benzamida



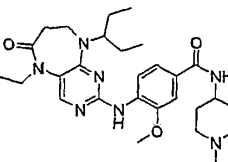
5 $^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD): 1,60 (2H, m, CH), 1,69 (2H, d, J 11 Hz, CH), 1,93 (2H, d, J 12 Hz, CH), 1,97 (2H, dd, J 12 Hz, 12 Hz, CH), 2,18 (3H, s, N- CH_3), 2,61 (2H, m, CH_2), 2,80 (2H, d, J 10,5 Hz, CH), 3,48 (2H, dd, J 11 Hz, CH), 3,62 (2H, m, CH_2), 3,75 (1H, m, CH), 3,95 (3H, s, OCH_3), 4,04 (2H, d, J 8 Hz, CH), 4,85 (1H, s, CH), 7,49 (2H, m, Ar-H), 7,66 (1H, s, NH), 7,81 (1H, s, Pyr-H), 8,11 (1H, d, J 7,5 Hz, Ar-H), 8,33 (1H, d, J 8 Hz, Ar-H), 9,45 (1H, s, NH); EM (positivo): 510,1; t_R = 5,34 min. (XBridge 2).

10 **Compuesto [26]: 3-metoxi-4-[5-metil-6-oxo-9-(tetrahidro-piran-4-il)-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino]-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida**



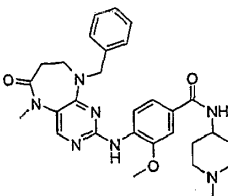
15 $^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD): 1,73 (2H, ddd, J 3 Hz, 12 Hz, 18 Hz, CH), 1,84 (2H, d, J 11 Hz, CH), 1,98 (4H, m, alquilo CH), 2,19 (2H, dd, J 10,5 Hz, 10,5 Hz, CH), 2,33 (3H, s, N- CH_3), 2,71 (2H, m, CH_2), 2,97 (2H, d, J 12 Hz, CH), 3,65 (2H, dd, J 11 Hz, CH), 3,75 (2H, m, CH_2), 3,92 (1H, m, CH), 4,02 (3H, s, OCH_3), 4,12 (1H, dd, J 4 Hz, 11 Hz, CH), 4,78 (1H, m, CH), 7,53 (2H, m, Ar-H), 8,04 (1H, s, Pyr-H), 8,45 (1H, d, J 9 Hz, Ar-H); EM (positivo): 524,3; t_R = 5,71 min. (XBridge 2).

20 **Compuesto [27]: 4-[5-etil-9-(1-etil-propil)-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino]-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida**



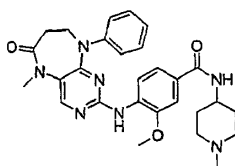
25 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 0,86 (6H, t, J 7,5 Hz, CH_3), 0,94 (3H, d, J 7 Hz, CH_3), 1,63 (6H, m, alquilo CH + CH_2), 1,78 (2H, d, J 11 Hz, CH), 1,94 (2H, dd, J 11,5 Hz, CH), 2,18 (3H, s, N- CH_3), 2,57 (2H, m, CH_2), 2,80 (2H, m, CH_2), 3,47 (2H, m, CH_2), 3,77 (3H, m, CH + CH_2), 3,96 (3H, s, OCH_3), 4,59 (1H, m, CH), 7,50 (2H, m, Ar-H), 7,24 (1H, s, NH), 8,01 (2H, m, Ar-H + Pyr-H), 8,39 (1H, d, J 9 Hz, Ar-H); EM (positivo): 524,3; t_R = 7,56 min. (XBridge 2).

30 **Compuesto [29]: 4-(9-bencil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida**



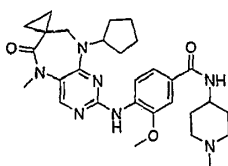
35 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 1,58 (2H, ddd, J 4 Hz, 12,5 Hz), 24,5 Hz, CH), 1,73 (2H, d, J 11,5 Hz, CH), 1,93 (2H, dd, J 15 Hz, CH), 2,17 (3H, s, N- CH_3), 2,69 (2H, m, CH_2), 2,78 (2H, d, J 11,5 Hz, CH), 3,22 (3H, s, N- CH_3), 3,63 (2H, m, CH_2), 3,72 (1H, m, CH), 3,91 (3H, s, OCH_3), 4,87 (2H, s, CH_2), 7,23 - 7,32 (4H, m, Ar-H), 7,35 - 7,43 (2H, m, Ar-H), 7,44 (1H, d, J 2 Hz, Ar-H), 7,72 (1H, s, Pyr-H), 8,04 (1H, d, J 7,5 Hz, Ar-H), 8,12 (1H, d, J 8,5 Hz), 8,16 (1H, s, NH); EM (positivo): 530,4; t_R = 4,55 min. (XBridge 2).

40 **Compuesto [30]: 3-metoxi-4-(5-metil-6-oxo-9-fenil-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida**



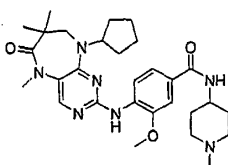
5 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 1,56 (2H, dd, J 11,5 Hz, 20,5 Hz), CH), 1,75 (2H, d, J 10 Hz, CH), 1,95 (2H, m, CH), 2,18 (3H, s, N-CH₃), 2,83 (3H, m, CH + CH₂), 3,16 (1H, s, CH), 3,27 (3H, s, N-CH₃), 3,71 (1H, m, N-CH), 3,88 (3H, s, OCH₃), 4,06 (2H, m, CH₂); EM (positivo): 516,3; t_R = 2,72 min. (XBridge 2).

Compuesto [31]: 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-espiro[pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-3,1'-ciclopropano]-2-ilamino)-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



10 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 0,66 (2H, d, J 6 Hz, ciclopropil-CH), 0,91 (2H, d, J 6 Hz, ciclopropil-CH), 1,50 (2H, m, CH), 1,58 (4H, m, CH), 1,69 (2H, m, CH), 1,77 (2H, m, CH), 1,95 (4H, m, CH), 2,16 (3H, s, N-CH₃), 2,73 (1H, s, CH), 2,79 (2H, d, J 11 Hz, CH), 2,89 (1H, s, CH), 3,16 (3H, s, N-CH₃), 3,47 (2H, s, CH₂), 3,72 (1H, m, CH), 3,94 (3H, s, OCH₃), 4,86 (1H, m, CH), 7,46 (2H, m, Ar-H), 7,67 (1H, s, NH), 7,95 (1H, s, Pyr-H), 8,07 (1H, d, J 8 Hz, Ar-H), 8,38 (1H, d, J 8 Hz, Ar-H); EM (positivo): 534,3; t_R = 3,05 min. (XBridge 2).

15 Compuesto [32]: 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida

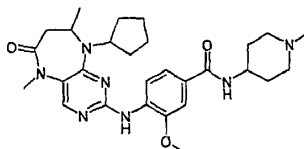


20 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO): 1,09 (6H, s, CH₃), 1,58 (6H, m, CH₂), 1,74 (4H, m, CH), 1,95 (4H, m, CH), 2,16 (3H, s, NCH₃), 2,73 (2H, d, J 11,5 Hz), CH), 3,18 (3H, s, NCH₃), 3,37 (2H, s, CH₂), 3,74 (1H, m, CH), 3,94 (3H, s, OCH₃), 5,19 (1H, m, CH), 7,46 (2H, m, Ar-H), 7,67 (1H, s, NH), 7,98 (1H, s, Pyr-H), 8,07 (1H, d, J 8 Hz, Ar-H), 8,36 (1H, d, J 8 Hz); EM (positivo): 536,40; t_R = 3,32 min. (XBridge 2).

Acoplamiento de amida

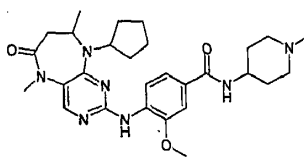
30 También se prepararon los siguientes mediante el método descrito en el ejemplo 1, etapa 7:

Compuesto [33]: 4-(9-ciclopentil-5,8-dimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



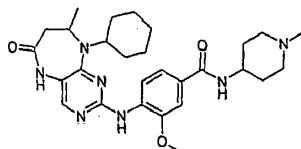
35 Sólido de color amarillo (31 %). $^1\text{H-RMN}$ (CD₃OD): δ 1,24 (d, J = 6,5 Hz, 3H, CH₃), 1,36 - 2,17 (m, 16H, 8 x ciclopent-H y 4 x piperid-H), 2,51 (s, 3H, CH₃), 3,14 - 3,16 (m, 2H, CH₂), 3,28 (s, 3H, CH₃), 4,00 (s, 3H, CH₃), 4,04 - 4,06 (m, 1H, CH), 4,71 - 4,74 (m, 1H, CH), 7,49 - 7,52 (m, 2H), 7,99 (s, 1H), 8,41 (d, J = 8,5 Hz, 1H, phe-H); EM positivo: 522,4. Rt = 10,03 min. (pureza del 97 %, Vydac 1)

40 Compuesto [34]: 4-(9-ciclopentil-8-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



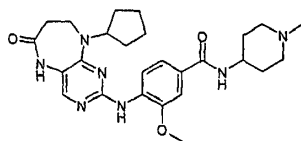
Sólido de color amarillo (38 %); EM positivo: 508,3. Rt = 9,53 min. (pureza del 97 %, Vydac 1)

- 5 **Compuesto [35]:** 4-(9-Ciclohexil-8-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



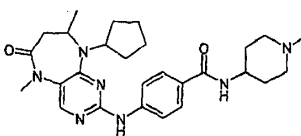
- 10 Sólido blanquecino (33 %); $^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD): δ 1,34 - 1,41 (m, 2H), 1,44 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H, CH_3), 1,60 - 1,99 (m, 8H), 2,22 - 2,26 (m, 2H), 2,73 - 2,77 (m, 1H), 2,91 (s, 3H, CH_3), 2,96 - 3,25 (m, 5H), 3,61 - 3,63 (m, 2H, CH_2), 4,01 (s, 3H, CH_3), 4,17 - 4,21 (m, 1H, CH), 4,33 - 4,36 (m, 1H, CH), 7,59 (dd, $J = 2,0$ y 8,5 Hz, 1H, phe- H), 7,63 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, phe- H), 7,69 (s, 1H, pirimid- H), 8,00 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, phe- H); EM positivo: 522,2. Rt = 10,17 min. (pureza del 100 %, Vydac 1)

- 15 **Compuesto [36]:** 4-(9-ciclopentil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



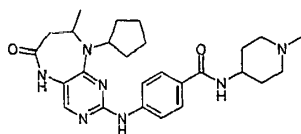
- 20 Sólido de color púrpura (40 %); $^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD): δ 1,65 - 2,25 (m, 8H, ciclopent- H), 2,34 (s, 3H, CH_3), 2,73 - 2,75 (m, 2H, CH_2), 3,69 - 3,71 (m, 2H, CH_2), 3,90 - 3,94 (m, 1H, CH), 4,01 (s, 3H, CH_3), 5,22 - 5,25 (m, 1H, CH), 7,48 - 7,51 (m, 2H, 2 x phe- H), 7,76 (s, 1H, pirimid- H), 8,47 (s, 1H, NH); EM positivo: 493,4. Rt = 9,21 min. (pureza del 92 %, Vydac 1)

- 25 **Compuesto [37]:** 4-(9-ciclopentil-5,8-dimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



- 30 Sólido blanquecino (45 %); $^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6): δ 1,17 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H, CH_3), 1,29-2,10 (m, 16H, 8 x ciclopent- H y 8 x piperid- H), 2,21 (sa, 3H, CH_3), 2,81 - 2,83 (m, 2H, CH_2), 3,21 (s, 3H, CH_3), 3,73 - 3,76 (m, 1H, CH), 4,03 - 4,05 (m, 1H, CH), 4,68-4,72 (m, 1H, CH), 7,74 - 7,79 (m, 4H, phe- H), 8,11 (s, 1H, pirimid- H), 9,47 (sa, 1H, NH); EM positivo: 492,3. Rt = 9,70 min. (pureza del 92 %, Vydac 1)

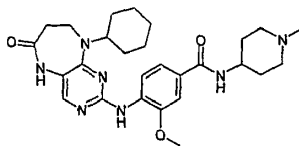
- 35 **Compuesto [38]:** 4-(9-ciclopentil-8-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



- 40 Sólido blanquecino (15 %); $^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6): δ 1,25 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3), 1,51 - 2,04 (m, 10H), 2,09 (s, 3H, CH_3), 2,55 - 2,66 (m, 6H), 2,78 - 2,79 (m, 2H, CH_2), 3,05 - 3,15 (m, 1H, CH), 3,95 - 4,04 (m, 1H, CH), 5,13 - 5,15 (m, 1H, CH), 7,75 (dd, $J = 8,5$ Hz, 4H, phe- H), 7,81 (s, 1H, pirimid- H), 8,24 (d, $J = 7$ Hz, 1H, NH), 9,48 (s, 1H, NH), 9,66 (sa, 1H, NH); EM positivo: 478,3. Rt = 9,28 min. (pureza del 100 %, Vydac 1)

45

Compuesto [39]: 4-(9-ciclohexil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-metil-piperidin-4-il)-benzamida



Sólido blanquecino (19 %); ¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 1,16 - 1,98 (m, 18H, 10 x ciclohex-H) y 8 x piperid-H), 2,18 (s, 3H, CH₃), 2,60 (dd, J = 5 Hz, 2H, CH₂), 3,60 (dd, J = 5 Hz, 2H, CH₂), 3,73 - 3,76 (m, 1H, CH), 3,95 (s, 3H, CH₃), 4,58 - 4,63 (m, 1H, CH), 7,46 (dd, J = 2,0 y 8,0 Hz, 1H, phe-H), 7,49 (d, J = 2 Hz, 1H, phe-H), 7,60 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 8,10 (d, J = 8,0 Hz, 1H, NH), 8,37 (d, J = 8,0 Hz, 1H, phe-H), 9,41 (sa, 1H, NH); EM positivo: 508,4. Rt = 9,70 min. (pureza del 95 %, Vydac 1)

* EJEMPLO 2

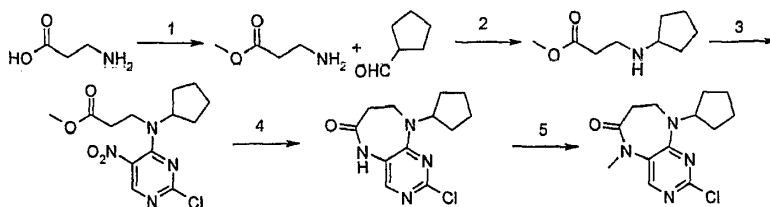
Procedimiento experimental general

Se realizó RP-HPLC analítica y preparativa-EM usando columnas XBridge (50 x 4,6 mm C 18 3,5 μm o 100 x 4,6 mm C18 3,5 μm) y Xbridge (100 x 19 mm C 18 5 μm) de Waters usando un gradiente lineal de sistemas de disolvente A (agua que contiene el 0,1 % de hidróxido de amonio y el 5 % de acetonitrilo)/disolvente B (acetonitrilo). Se realizó RP-HPLC preparativa usando una columna Prepsil ODS 10 μ de Apex (22 x 250 mm) usando un gradiente lineal de disolvente A (agua que contiene el 0,1 % de TFA)/disolvente B (acetonitrilo). Se obtuvieron espectros de masas usando un espectrómetro de masas de cuadrupolo individual ZQ2000 de Waters con ionización por electropulverización (ESI).

Los gradientes usados fueron los siguientes:

Modo	Método	Columna	Velocidad de flujo ml/min.	% de disolvente B								
				0 min.	0,5 min.	4 min.	6 min.	8,5 min.	10 min.	12 min.	40 min.	
Analítico	Analítico_1	4,6 x 50	1,6	10		100	100					
Analítico	Analítico_2	4,6 x 100	1	10					50	100		
Analítico	Analítico_3	4,6 x 100	1									
Preparativo	Preparativo_1	19 x 100	20	10	10			100		100		
Preparativo	Preparativo_2	19 x 100	20	30	30			80		100		
Preparativo	Preparativo_3	19 x 100	20	10	10			55		100		
Preparativo	Preparativo_4	22 x 250	9	0								60
Preparativo	Preparativo_5	19 x 100	20	55	55			100		100		

Producto intermedio 1: 2-cloro-9-ciclopentil-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona.



1. Cloruro de tionilo (2,1 eq.), MeOH, 0 °C durante la adición, 2 h de reflujo; 2. Ciclopentanona (0,77 eq.), acetato de sodio (0,77 eq.), triacetoxiborohidruro de sodio (1,11 eq.), DCM, 16 h a ta; 3. 2,4-Dicloro-5-nitropirimidina (1,1 eq.), K₂CO₃ (1 eq.), acetona, 16 h a 0 °C - ta; 4. NH₄Cl (8,5 eq.), Fe (8 eq.), EtOH/H₂O (4:1), 2,5 h a reflujo; 5. Mel (1,18 eq.), NaH (1,07 eq.), DMF, -10 °C - ta, 3 h.

Etapa 1: 3-aminopropanoato de metilo

Se añadió β-alanina (9,37 g, 0,105 mol, 1,0 eq.), a MeOH (50 ml) y se enfrió la mezcla hasta 0 °C antes de la adición gota a gota de cloruro de tionilo (16 ml, 0,221 mol, 2,1 eq.) [precaución: adición exotérmica]. Se permitió que la

reacción se calentase hasta ta después se calentó a reflujo durante 2 h. Se concentró la disolución a vacío, se trató con éster *t*-butilmetílico y se eliminaron los cristales resultantes por filtración. El producto era un sólido cristalino de color blanco (11 g, 100 %); ¹H (DMSO-*d*₆): δ 2,73 (2H, dd, *J* = 7 Hz, CH₂), 2,98 (2H, dd, *J* = 7 Hz, CH₂), 3,61 (3H, s, CH₃), 8,28 (2H, sa, NH₂); EM positivo: 104,1.

5

Etapa 2: 3-(ciclopentilamino)propanoato de metilo

Se disolvió 3-aminopropanoato de metilo (9,37 g, 0,09 mol) en DCM (200 ml). Se añadieron ciclopentanona (6,43 ml, 0,07 mol, 0,77 eq.), acetato de sodio (5,96 g, 0,07 mol, 0,77 eq.) y triacetoxiborohidruro de sodio (22 g, 0,10 mol, 1,11 eq.), entonces se agitó la reacción a ta durante 16h. Se añadieron bicarbonato de sodio al 20 % (100 ml) e hidróxido de sodio 2 M (50 ml) y se extrajo el producto usando DCM/H₂O. Se combinaron los extractos orgánicos, se lavaron con NaCl sat., se secaron (MgSO₄) y se evaporaron a presión reducida para dar el producto como un aceite de color amarillo pálido (8,90 g, 55 %); EM positivo: 172,4.

10

Etapa 3: 3-[ciclopentil(2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)amino]propanoato de metilo

Se añadieron 3-(ciclopentilamino)propanoato de metilo (0,838 g, 0,005 mol, 1 eq.) y K₂CO₃ (0,676 g, 0,005 mol, 1 eq.) a acetona (5 ml) y se enfrió la mezcla resultante hasta 0 °C antes de la adición gota a gota de 2,4-dicloro-5-nitropirimidina (1,04 g, 0,0055 mol, 1,1 eq.). Se calentó la mezcla de reacción (MR) hasta ta y se continuó agitando durante 16 h adicionales antes de la adición de 0,12 eq. adicionales de la pirimidina. Se continuó agitando durante 3 h adicionales. Se evaporó la MR a presión reducida y se extrajo el producto usando EtOAc/H₂O. Se lavaron los extractos orgánicos con NaCl sat., se secaron (MgSO₄) y se evaporaron a presión reducida para dar el producto como un residuo aceitoso de color marrón (1,04 g, 65 %); EM positivo: 329,2; Rt = 3,78 min. (Analítico_1).

20

*Etapa 4: 2-cloro-9-ciclopentil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-*b*][1,4]diazepin-6-ona*

Se añadieron 3-[ciclopentil(2-cloro-5-nitropirimidin-4-il)amino]propanoato de metilo (1,0 g, 0,003 mol, 1 eq.) y NH₄Cl (1,38 g, 0,025 mol, 8,5 eq.) a EtOH/H₂O (4:1, 10 ml) y se calentó la mezcla hasta reflujo. Se añadió en porciones polvo de hierro (1,36 g, 0,024 mol, 8 eq.) y tras 2 h se filtró en caliente la MR a través de Celite lavando con EtOAc (10 ml) y EtOH (10 ml) [ambos calientes]. Se evaporó el disolvente a presión reducida para dar el producto como un sólido de color marrón (0,35 g, 43 %); ¹H (DMSO-*d*₆): δ 1,55 (4H, m, 2CH₂), 1,7 (2H, m, CH₂), 1,83 (2H, m, CH₂), 2,66 (2H, t, *J* = 5 Hz, CH₂), 3,57 (2H, t, *J* = 5 Hz, CH₂), 5,01 (1H, m, CH), 7,83 (1H, s, CH), 9,71 (1H, s, NH); EM positivo: 267,2; Rt = 2,87 min. (Analítico_1).

30

*Etapa 5: 2-cloro-9-ciclopentil-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-*b*][1,4]diazepin-6(7H)-ona*

Se añadieron 2-cloro-9-ciclopentil-5,7,8,9-tetrahidro-6H-pirimido[4,5-*b*][1,4]diazepin-6-ona (0,318 g, 0,0012 mol) y Mel (0,088 ml, 0,0014 mol, 1,18 eq.) a DMF (5 ml) y se enfrió la disolución hasta -10 °C. Se añadió NaH (0,03 g, 0,0013 mol, 1,07 eq.) y se agitó la MR a 0 °C durante 30 min. y a ta durante 30 min. Se evaporó el disolvente a presión reducida y se extrajo el producto usando EtOAc/H₂O. Se combinaron los extractos orgánicos, se lavaron con NaCl sat., se secaron (MgSO₄) y se evaporaron a presión reducida para dar el producto como un residuo aceitoso de color púrpura (0,25 g, 75 %); ¹H (DMSO-*d*₆): δ 1,55 (4H, m, 2CH₂), 1,7 (2H, m, CH₂), 1,9 (2H, m, CH₂), 2,63 (2H, t, *J* = 5 Hz, CH₂), 3,17 (3H, s, CH₃), 3,65 (2H, t, *J* = 5 Hz, CH₂), 4,74 (1H, m, CH), 8,14 (1H, s, CH); EM positivo: 281,2; Rt = 3,11 min. (Analítico_1).

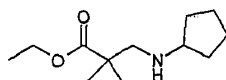
45

Usando métodos similares a los descritos anteriormente para el producto intermedio 1, se prepararon los siguientes productos intermedios 2-4:

Producto intermedio 2: 2'-cloro-9'-ciclopentil-5'-metil-8'-9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-*b*][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona

50

La reacción del éster etílico del ácido 1-aminometil-ciclopropanocarboxílico con ciclopentanona, acetato de sodio y triacetoxiborohidruro de sodio en DCM dio éster etílico del ácido 1-ciclopentilaminometil-ciclopropanocarboxílico

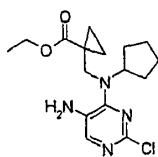


55

¹H-RMN (CDCl₃): 0,84 (3H, t, *J* 7 Hz, CH₃), 1,25 (4H, m, CH₂), 1,37 (2H, m, CH), 1,54 (2H, m, CH), 1,70 (2H, m, CH), 1,83 (2H, m, CH), 2,71 (2H, s, CH₂), 3,10 (1H, m, CH), 4,16 (2H, q, *J* 7 Hz, CH₂CH₃)

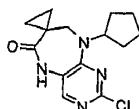
60

La reacción de éster metílico del ácido 1-ciclopentilaminometil-ciclopropanocarboxílico con 2,4-dicloro-5-nitropirimidina y K₂CO₃ en acetona dio éster etílico del ácido 1-[[[2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-metil]ciclopropanocarboxílico. El tratamiento con NH₄Cl y polvo de hierro en etanol dio éster etílico del ácido 1-[[[5-amino-2-cloro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-metil]-ciclopropanocarboxílico



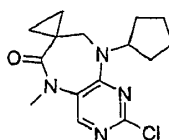
EM (positivo): 339,2, 341,2; Rt = 4,15 min. (Analítico_2).

- 5 Se calentó el compuesto anterior en DMF hasta 140 °C durante 2 horas. Se evaporó el disolvente a vacío, se añadió acetato de etilo, y se filtró el sólido resultante y se secó a vacío para dar 2'-cloro-9'-ciclopentil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona



10 EM (positivo): 293,2, 295,2; Rt = 3,48 min. (Analítico_2).

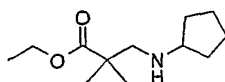
- 15 La reacción de 2-cloro-9-ciclopentil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-7,1'-ciclopropan]-6-ona con Mel y NaH en DMF dio 2'-cloro-9'-ciclopentil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona



20 EM (positivo): 307,1, 309,2; Rt = 3,67 min. (Analítico_3).

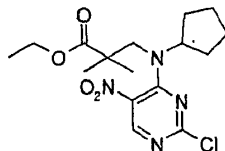
Producto intermedio 3: 2-cloro-9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona

- 25 La reacción del éster etílico del ácido 3-amino-2,2-dimetil-propiónico con ciclopentanona, acetato de sodio y triacetoxiborohidruro de sodio en DCM dio éster etílico del ácido 3-ciclopentilamino-2,2-dimetil-propiónico



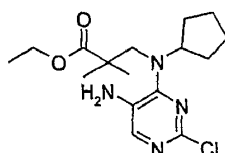
30 ¹H-RMN (CDCl₃): 1,19 (6H, s, CH₃), 1,25 (3H, t, J 7 Hz, CH₃), 1,28 (2H, m, CH), 1,49 (2H, m, CH), 1,65 (2H, m, CH), 2,64 (1H, s, CH₂), 3,01 (1H, m, CH), 4,10 (2H, q, J 7,5 Hz, CH₂)

- La reacción del éster etílico del ácido 3-ciclopentilamino-2,2-dimetil-propiónico con 2,4-dicloro-5-nitropirimidina y K₂CO₃ en acetona dio éster etílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-2,2-dimetil-propiónico



35 EM (positivo): 371,1, 373,1; Rt = 4,67 min. (Analítico_2).

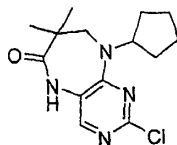
- 40 La reacción del éster etílico del ácido 3-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-2,2-dimetil-propiónico con NH₄Cl y polvo de hierro en etanol dio éster etílico del ácido 3-[(5-amino-2-cloro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-2,2-dimetil-propiónico



EM (positivo): 341,2, 343,2; Rt = 4,25 min. (Analítico_2).

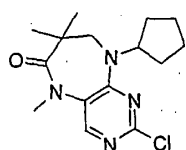
Se calentó el éster etílico del ácido 3-[(5-amino-2-cloro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-2,2-dimetil-propiónico en DMF hasta 140 °C durante 2 horas. Se evaporó el disolvente a vacío, se añadió acetato de etilo, y se filtró el sólido resultante y se secó a vacío para dar 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-dimetil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

5



EM (positivo): 295,1, 297,2; Rt = 3,58 min. (Analítico_2).

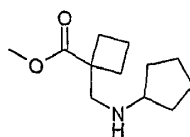
10 La reacción de 2-cloro-9-ciclopentil-7,7-dimetil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona con MeI y NaH en DMF dio 2-cloro-9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona



15 EM (positivo): 309,1, 311,2; Rt = 3,90 min. (Analítico_3).

Producto intermedio 4: 2'-cloro-9'-ciclopentil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona

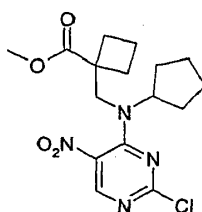
20 La reacción del éster metílico del ácido 1-aminometil-ciclobutanocarboxílico con ciclopentanona, acetato de sodio y triacetoxiborohidruro de sodio en DCM dio éster metílico del ácido 1-ciclopentilaminometil-ciclobutanocarboxílico



25 ¹H-RMN (CDCl₃): 1,36 (2H, m, CH₂), 1,51 (2H, m, CH₂), 1,66 (2H, m, CH₂), 1,95 (4H, m, 2 x CH₂), 2,15 (2H, m, CH₂), 2,43 (4H, m, 2 x CH₂), 2,93 (2H, s, CH₂), 3,21 (1H, m, CH), 3,76 (3H, s, CH₃)

La reacción del éster metílico del ácido 1-ciclopentilaminometil-ciclobutanocarboxílico con 2,4-dicloro-5-nitropirimidina y K₂CO₃ en acetona dio éster metílico del ácido 1-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-metil-ciclobutanocarboxílico

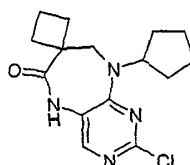
30



EM (positivo):369,2, 371,2; Rt = 3,48 min. (Analítico_1).

35

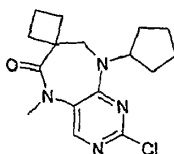
La reacción del éster metílico del ácido 1-[(2-cloro-5-nitro-pirimidin-4-il)-ciclopentil-amino]-metil-ciclobutanocarboxílico con NH₄Cl y polvo de hierro en etanol dio 2'-cloro-9'-ciclopentil-8',9'-dihidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona, aislada directamente.



40

EM (positivo): 307,2, 309,2; Rt = 3,48 min. (Analítico_1).

La reacción de 2-cloro-9-ciclopentil-5,7,8,9-tetrahidro-pirrido[4,5-b][1,4]diazepin-7,1'-ciclobutano]-6-ona con Mel y NaH en DMF dio 2'-cloro-9'-ciclopentil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona

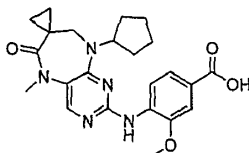


5

EM (positivo): 321,2, 323,3; Rt = 3,77 min. (Analítico_1).

10 Producto intermedio 5: ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico

15 Se calentaron 2'-cloro-9'-ciclopentil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (producto intermedio 2) (0,70 g, 2,5 mmol, 1 eq.), ácido 4-amino-3-metoxibenzoico (1,25 g, 7,5 mmol, 3 eq.) y TFA (1,43 g, 12,5 mmol, 5 eq.) hasta reflujo en TFE (25 ml) durante 18 horas. Se evaporó el disolvente a vacío y se trituró el residuo resultante con MeOH para dar ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (0,81 g, 74 %).

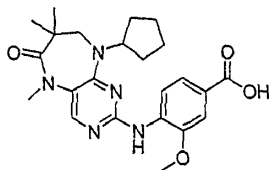


20 Rt = 1,88 min. (Analítico_1) EM (positivo): 438,4, EM (negativo): 436,5.

Producto intermedio 6: ácido 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico

25 Se calentaron 2-cloro-9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (producto intermedio 3) (0,35 g, 1,14 mmol, 1 eq.), ácido 4-amino-3-metoxibenzoico (0,57 g, 3,42 mmol, 3 eq.) y TFA (0,42 ml, 5,7 mmol, 5 eq.) hasta reflujo en TFE (10 ml) durante 36 horas. Se evaporó el disolvente a vacío y se trituró el residuo resultante con EtOAc para dar ácido 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico (0,38 g, 76 %).

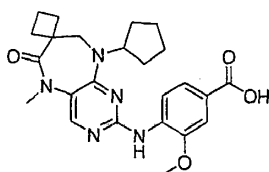
30



EM (positivo): 440,3, EM (negativo): 438,5.

35 Producto intermedio 7: ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico

40 Se calentaron 2'-cloro-9'-ciclopentil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (producto intermedio 4) (1,02 g, 3,18 mmol, 1 eq.), ácido 4-amino-3-metoxibenzoico (1,6 g, 9,5 mmol, 3 eq.) y TFA (1,2 ml, 15,9 mmol, 5 eq.) hasta reflujo en TFE (40 ml) durante 24 horas. Se evaporó el disolvente a vacío y se trituró el residuo resultante con EtOAc para dar ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (1,08 g, 75 %).

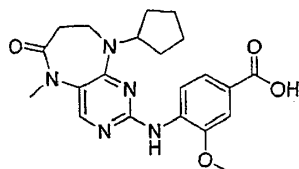


45

Rt = 2,10 min. (Analítico_1); EM (positivo): 452,3, EM (negativo): 450,4.

Producto intermedio 8: ácido 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico

5 Se calentaron 2-cloro-9-ciclopentil-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (producto intermedio 1) (0,70 g, 2,5 mmol, 1 eq.), ácido 4-amino-3-metoxibenzoico (1,25 g, 7,5 mmol, 3 eq.) y TFA (0,93 ml, 12,5 mmol, 5 eq.) hasta reflujo en TFE (25 ml) durante 20 horas. Se evaporó el disolvente a vacío y se trituró el residuo resultante con MeOH para dar ácido 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico (0,66 g, 64 %).

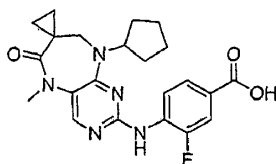


10

Rt = 1,88 min. (Analítico_1); EM (positivo): 412,4, EM (negativo): 410,5.

15 Producto intermedio 9: ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-fluorobenzoico

20 Se calentaron 2'-cloro-9'-ciclopentil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (producto intermedio 2) (0,42 g, 1,36 mmol, 1 eq.), ácido 4-amino-3-fluorobenzoico (0,63 g, 4,1 mmol, 3 eq.) y TFA (0,51 ml, 6,8 mmol, 5 eq.) hasta reflujo en TFE (10 ml) durante 36 horas. Se añadieron ácido 4-amino-3-fluorobenzoico (0,63 g, 4,1 mmol, 3 eq.) y TFA (0,51 ml, 6,8 mmol, 5 eq.) adicionales y se calentó la reacción hasta reflujo de nuevo durante 4 días. Se evaporó el disolvente a vacío y se trituró el residuo resultante con EtOAc para dar ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-fluorobenzoico (0,41 g, 71 %).



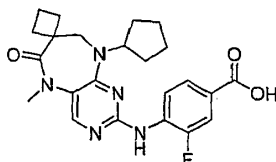
25

Rt = 1,93 min. (Analítico_1); EM (positivo): 426,3

30 Producto intermedio 10: ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-fluorobenzoico

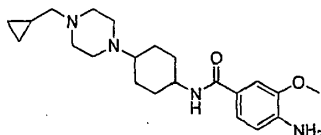
35 Se calentaron 2'-cloro-9'-ciclopentil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (producto intermedio 4) (0,20 g, 0,63 mmol, 1 eq.), ácido 4-amino-3-fluorobenzoico (0,30 g, 1,9 mmol, 3 eq.) y TFA (0,24 ml, 3,2 mmol, 5 eq.) hasta reflujo en TFE durante 18 horas. Se añadieron ácido 4-amino-3-fluorobenzoico (0,20 g) y TFA (0,1 ml) adicionales y se calentó la reacción hasta reflujo de nuevo durante 2 días. Se añadió TFA (0,24 ml) adicional y se calentó la reacción hasta reflujo de nuevo durante 3 días. Se evaporó el disolvente a vacío y se trituró el residuo resultante con EtOAc para dar ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-fluorobenzoico (0,15 g, 55 %).

40



Rt = 2,02 min. (Analítico_1); EM (positivo): 440,3; EM (negativo): 438,4

45 Producto intermedio 11: 4-amino-N-(trans-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

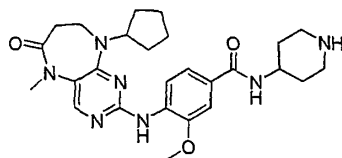


4-Amino-N-(trans-4-(4-(ciclopropimetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida es un compuesto conocido en la técnica y se preparó mediante los métodos descritos en el documento WO 2007/090844 A1.

Producto intermedio 12: 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(piperidin-4-il)benzamida

Se agitaron juntos ácido 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 8) (0,49 g, 1,2 mmol, 1 eq.), TBTU (0,42 g, 1,3 mmol, 1,1 eq.) y DIPEA (0,40 ml, 2,4 mmol, 2 eq.) en DCM (25 ml) durante 30 min. antes de la adición de 4-amino-1-BOC-piperidina (0,29 g, 1,4 mmol, 1,2 eq.). Se agitó la MR a ta durante 20 horas antes de diluir con DCM (30 ml) y lavar secuencialmente con agua (2 x 15 ml), hidrogenocarbonato de sodio saturado acuoso al 50 % (1 x 20 ml), carbonato de potasio saturado acuoso (1 x 20 ml) y salmuera saturada (1 x 20 ml). Se concentró a vacío para aislar 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(1-BOC-piperidin-4-il)benzamida que se usó sin purificación adicional (0,71 g). Rt = 3,58 min. (Analítico_1).

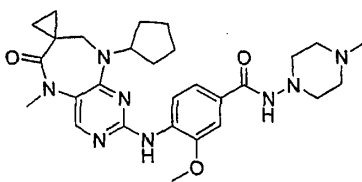
Se añadió ácido clorhídrico metanólico y se agitó la disolución durante 4 horas a ta. La concentración a vacío proporcionó la sal de clorhidrato de 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(piperidin-4-il)benzamida. Se repartió esta sal entre DCM y disolución acuosa de carbonato de potasio a pH 8. Se separó la fase de DCM y se extrajo la fase acuosa con DCM y EtOAc. Se secaron las fases orgánicas combinadas (MgSO₄) y se concentraron a vacío para proporcionar 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(piperidin-4-il)benzamida como base libre (0,51 g).



Rt = 2,78 min. (Analítico_1); EM (positivo): 494; EM (negativo): 492.

Compuesto [254]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(4-metilpiperazin-1il)benzamida

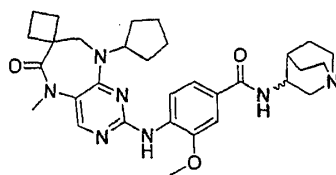
Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (22 mg, 0,05 mmol, 1 eq.), DIPEA (17 µl, 0,10 mmol, 2 eq.) y TBTU (18 mg, 0,055 mmol, 1,1 eq.) a 0,5 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 30 min. antes de la adición de 1-amino-4-metilpiperazina (12 µl, 0,1 mmol, 2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 4 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(4-metilpiperazin-1il)benzamida (sólido de color blanco, 8 mg, 30 %).



Rt = 2,63 min. (Analítico_1) EM (positivo): 535,5; EM (negativo): 533,6; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,63 - 0,70 (2 H, m), 0,87 - 0,94 (2 H, m), 1,43 - 1,54 (2 H, m), 1,55 - 1,63 (2 H, m), 1,64 - 1,73 (2 H, m), 1,83 - 1,94 (2 H, m), 2,18 (3 H, s), 2,31 - 2,48 (4 H, m), 2,92 (4 H, m), 3,16 (3 H, s), 3,47 (2 H, s), 3,94 (3 H, s), 4,78 - 4,91 (1 H, m), 7,35 - 7,48 (2 H, m), 7,68 (1 H, s), 7,98 (1 H, s), 8,39 (1 H, d, J=8,3 Hz), 9,31 (1 H, s).

Compuesto [218]: (±)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(quinuclidin-3-il)benzamida

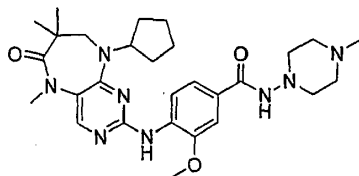
Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 7) (15 mg, 0,033 mmol), DIPEA (12 µl, 0,066 mmol, 2 eq.) y TBTU (12 mg, 0,036 mmol, 1,1 eq.) a 0,5 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 5 min. antes de la adición de diclorhidrato de 3-aminoquinuclidina (8 mg, 0,04 mmol, 1,2 eq.) y DIPEA (13 µL). Entonces se agitó la MR a ta durante 3 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_2) para proporcionar (±)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(quinuclidin-3-il)benzamida.



Rt = 3,26 min. (Analítico_1); EM (positivo): 560,4; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 8,37 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 8,08 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,45 - 7,53 (m, 2H), 4,82 (quin, J = 8,3 Hz, 1H), 3,84 - 4,01 (m, 4H), 3,64 (s, 2H), 3,18 (s, 3H), 3,04 - 3,14 (m, 1H), 2,88 (t, J = 9,8 Hz, 1H), 2,58 - 2,75 (m, 4H), 2,21 - 2,33 (m, 2H), 2,07 (s, 2H), 1,97 (s. a., 2H), 1,87 (s. a., 2H), 1,76 (d, J = 4,9 Hz, 2H), 1,56 - 1,70 (m, 8H), 1,30 (s. a., 1H)

Compuesto [195]: 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidropirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida

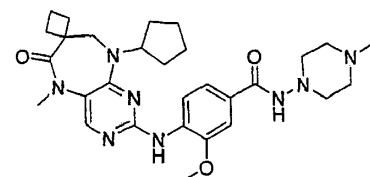
Se añadieron ácido 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidropirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 6) (20 mg, 0,046 mmol, 1 eq.), DIPEA (16 μl, 0,091 mmol, 2 eq.) y TBTU (16 mg, 0,05 mmol, 1,1 eq.) a 0,5 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 5 min. antes de la adición de 1-amino-4-metilpiperazina (7 mg). Entonces se agitó la MR a ta durante 16 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para proporcionar 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidropirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida.



Rt = 2,81 min. (Analítico_1); EM (positivo): 537,5; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 1,09 (6H, s), 1,61 (4H, m), 1,73 (2H, m), 1,87 (2H, m), 2,19 (3H, s), 2,42 (2H, m), 2,92 (4H, m), 3,29 (3H, s), 3,37 (3H, m), 3,93 (3H, s), 3,17 (1H, m), 7,40 (2H, m), 7,68 (1H, s), 7,98 (1H, s), 8,37 (1H, d, J 7 Hz), 9,30 (1H, s).

Compuesto [221]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida

Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 7) (15 mg, 0,033 mmol, 1 eq.), DIPEA (12 μl, 0,066 mmol, 2 eq.) y TBTU (12 mg, 0,036 mmol, 1,1 eq.) a 0,5 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 5 min. antes de la adición de 1-amino-4-metilpiperazina (5 mg) y DIPEA (13 μL). Entonces se agitó la MR a ta durante 3 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_2) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida.

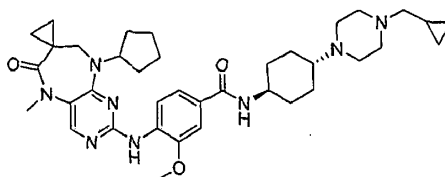


Rt = 2,79 min. (Analítico_1); EM (positivo): 549,5; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 9,31 (s, 1H), 8,37 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,37 - 7,47 (m, 2H), 4,73 - 4,86 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,64 (s, 2H), 3,18 (s, 3H), 2,92 (s. a., 4H), 2,36 (s. a., 4H), 2,27 (d, J = 9,3 Hz, 2H), 2,18 (s, 3H), 1,97 (s. a., 2H), 1,79-1,91 (m, 1H), 1,76 (s. a., 2H), 1,54 - 1,72 (m, 7H).

Compuesto [371]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-((trans-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

Se calentaron juntos 2'-cloro-9'-ciclopentil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (producto intermedio 2) (0,14 g, 0,45 mmol, 1 eq.), 4-amino-N-(trans-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (producto intermedio 11) (0,26 g, 0,67 mmol, 1,5 eq.) y TFA (0,17 ml, 2,2 mmol, 5 eq.) en TFE (3 ml) a 80 °C durante 18 horas. Se añadió cantidad adicional de producto intermedio 2 (0,14 g) y se calentó la reacción adicionalmente durante 48 horas. Se concentró la MR a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice eluyendo con un gradiente de amoniaco al 0→20 %/MeOH en

DCM seguido por HPLC preparativa (Preparativo_4) entonces finalmente RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para dar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-((trans)-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (0,11 g, 25 %).



5

Rt = 3,18 min. (Analítico_1); ES (positivo): 657,6; ES (negativo): 655,7; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,05 (d, J = 4,20 Hz, 3H), 0,44 (d, J = 7,74 Hz, 2H), 0,67 (d, J = 1,61 Hz, 2H), 0,74- 0,85 (m, 1H), 0,90 (s, 2H), 1,23 - 1,44 (m, 3H), 1,44 - 1,55 (m, 2H), 1,54 - 1,64 (m, 2H), 1,64 - 1,74 (m, 2H), 1,88 (s. a., 5H), 2,08 (s, 3H), 2,13 (d, J = 6,45 Hz, 2H), 2,17 - 2,28 (m, 1H), 2,29 - 2,47 (m, 3H), 2,60 - 2,67 (m, 1H), 3,06 - 3,23 (m, 5H), 3,47 (s, 2H), 3,65 - 3,79 (m, 1H), 3,94 (s, 2H), 4,05 - 4,13 (m, 1H), 4,78 - 4,91 (m, 1H), 7,48 (s, 2H), 7,67 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 8,00 - 8,07 (m, 1H), 8,31 - 8,45 (m, 1H).

10

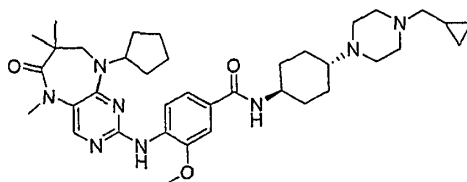
15

Compuesto [372]: 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-((trans)-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

Se calentaron juntos 2-cloro-9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (producto intermedio 3) (0,13 g, 0,43 mmol, 1 eq.), 4-amino-N-(trans-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (producto intermedio 11) (0,26 g, 0,67 mmol, 1,5 eq.) y TFA (0,17 ml, 2,2 mmol, 5 eq.) en TFE (3 ml) a 80 °C durante 18 horas. Se añadió cantidad adicional de producto intermedio 6 (0,13 g) y se calentó la reacción adicionalmente durante 48 horas. Se concentró la MR a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice eluyendo con un gradiente de amoníaco al 0→20%/MeOH en DCM seguido por HPLC preparativa (Preparativo_4) entonces finalmente RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para dar 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-((trans)-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (0,03 g, 7 %).

20

25



30

Rt = 3,38 min. (Analítico_1); ES (positivo): 659,6; ES (negativo): 657,7; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,05 (d, J = 3,86 Hz, 3H), 0,40 - 0,48 (m, 3H), 0,73 - 0,84 (m, 2H), 1,03 - 1,13 (m, 10H), 1,18 (s, 1H), 1,24 - 1,43 (m, 6H), 1,61 (s. a., 3H), 1,74 (d, J = 9,65 Hz, 2H), 1,88 (s. a., 5H), 2,08 (s, 5H), 2,13 (d, J = 6,75 Hz, 2H), 2,17 - 2,25 (m, 1H), 2,36 (s. a., 3H), 2,60 - 2,67 (m, 1H), 3,14 - 3,22 (m, 2H), 3,37 (s, 1H), 3,51 (s, 1H), 3,94 (s, 2H), 5,18 (t, J = 8,52 Hz, 1H), 7,43 - 7,50 (m, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 8,03 (d, J = 7,72 Hz, 1H), 8,35 (d, J = 8,36 Hz, 1H).

35

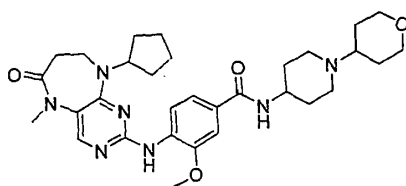
Alternativamente, el experto apreciará que los ejemplos 5, 6 podrían sintetizarse mediante la reacción de los productos intermedios 5 o 6 con el compuesto conocido trans-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)-ciclohexilamina (descrito en el documento US 6.861.422 B2) usando condiciones de formación de enlace amida convencionales tales como las descritas en el ejemplo 1.

40

Compuesto [345]: 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-[1-(tetrahidro-piran-4-il)-piperidin-4-il]-benzamida

Se hicieron reaccionar 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(piperidin-4-il)benzamida (producto intermedio 12) (35 mg, 0,07 mmol, 1 eq.) y triacetoxiborohidruro de sodio (18 mg, 0,084 mmol, 1,2 eq.) en DCM (0,5 ml) con tetrahidropiran-4-ona (6,5 μl, 0,07 mmol, 1 eq.) a ta durante 2 días. Se añadieron triacetoxiborohidruro de sodio (18 mg, 1,2 eq.), tetrahidropiran-4-ona (6,5 μl, 1 eq.) adicionales y ácido acético (4 μl, 1 eq.). Tras dos días se diluyó la MR con DCM, se lavó con agua y se concentró la fase orgánica a vacío. Se purificó el residuo resultante mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para proporcionar 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-[1-(tetrahidro-piran-4-il)-piperidin-4-il]-benzamida (10 mg, 25 %).

50

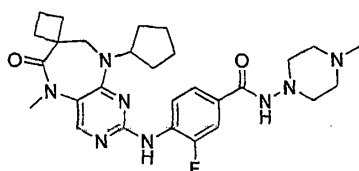


Rt = 2,74 min. (Analítico_1); ES (positivo): 578,5; ES (negativo): 576,7.

5 **Compuesto [373]:** 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-fluoro-N-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida

Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-fluorobenzoico (producto intermedio 10) (100 mg, 0,23 mmol, 1 eq.), DIPEA (80 µl, 0,46 mmol, 2 eq.) y TBTU (80 mg, 0,25 mmol, 1,1 eq.) a 1 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 10 min. antes de la adición de 1-amino-4-metilpiperazina (33 µl, 0,27 mmol, 1,2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 1 hora antes de fraccionar en dos lotes iguales y purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_3) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-fluoro-N-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida (0,05 g, 41 %).

15



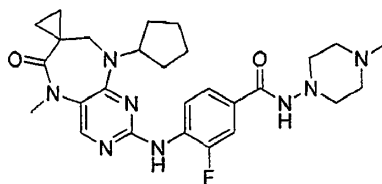
20 Rt = 2,74 min. (Analítico_1); EM (positivo): 537,5; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 1,55 - 1,65 (8H, m), 1,71 (2H, m), 1,88 (2H, m), 2,18 (3H, s), 2,28 (2H, q, J 10,5 Hz), 2,41 - 2,52 (4H, m), 2,89 (4H, m), 3,18 (3H, s), 3,61 (2H, s), 4,76 (1H, quintete, 8,5 Hz), 7,61 (2H, m), 8,03 (1H, s), 8,12 (1H, dd, J 8 Hz), 8,5 Hz), 8,76 (1H, s), 9,36 (1H, s).

20

Compuesto [374]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-fluoro-N-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida

25 Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-fluorobenzoico (producto intermedio 9) (0,27 g, 0,63 mmol, 1 eq.), DIPEA (0,21 ml, 1,26 mmol, 2 eq.) y TBTU (0,22 g, 0,69 mmol, 1,1 eq.) a 5 ml de DCM y se agitó la disolución resultante a ta durante 30 min. antes de la adición de 1-amino-4-metilpiperazina (91 µl, 0,75 mmol, 1,2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 4 horas antes de lavar con agua, concentrar a vacío y purificar el residuo mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-fluoro-N-(4-metilpiperazin-1-il)benzamida (0,14 g, 44 %).

30

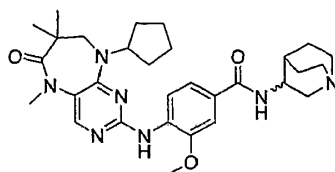


35 Rt = 2,58 min. (Analítico_1); EM (positivo): 523,4; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,65 - 0,67 (2H, s, CH₂), 0,85 - 0,95 (2H, m, CH₂), 1,23 - 1,82 (8H, m, alquil-H), 2,18 (3H, s, CH₃), 2,36-2,41 (4H, m, alquil-H), 2,88 (4H, s, alquil-H), 3,16 (3H, s, CH₃), 3,44 (2H, s, alquil-H), 4,77 - 4,80 (1H, m, CH), 7,6 (2H, m, aril-H), 7,96 (1H, s, aril-H), 8,16 (1H, t, J = 8 Hz, aril-H), 8,70 (1H, s, NH), 9,35(1H, s, NH).

40 **Compuesto [194]:** (±)-4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(quinuclidin-3-il)benzamida

Se añadieron ácido 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 6) (20 mg, 0,046 mmol, 1 eq.), DIPEA (16 µl, 0,091 mmol, 2 eq.) y TBTU (16 mg, 0,05 mmol, 1,1 eq.) a 0,5 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 5 min. antes de la adición de clorhidrato de 3-aminoquinuclidina (11 mg, 0,055 mmol, 1,1 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 16 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para proporcionar (±)-4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-(quinuclidin-3-il)benzamida (8 mg, 32 %).

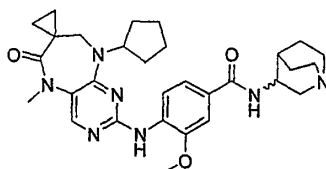
45



Rt = 3,28 min. (Analítico_1); EM (positivo): 548,5; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 8,37 (1H, d, J 8 Hz), 8,07 (1H, d, J 6,5 Hz), 7,98 (1H, s), 7,69 (1H, s), 7,47 - 7,50 (2H, m), 5,19 (1H, quint, J 8 Hz), 3,95 (4H, m), 3,37 (2H, s), 3,18 (3H, s), 3,11 (1H, m), 2,89 (1H, m), 2,65 - 2,72 (4H, m), 1,88 (2H, m), 1,73 - 1,87 (4H, m), 1,57 - 1,61 (6H, m), 1,31 (1H, m), 1,09 (6H, s).

Compuesto [186]: (±)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(quinuclidin-3-il)benzamida

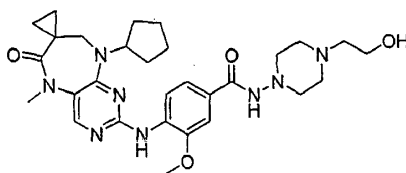
Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (25 mg, 0,057 mmol, 1 eq.), DIPEA (20 μl, 0,11 mmol, 2 eq.) y TBTU (20 mg, 0,063 mmol, 1,1 eq.) a 0,5 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 15 min. antes de la adición de diclorhidrato de 3-aminoquinuclidina (11 mg, 0,055 mmol, 1,1 eq.) y DIPEA (40 μl). Entonces se agitó la MR a ta durante 16 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para proporcionar (±)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[hidroespiro(ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(quinuclidin-3-il)benzamida.



Rt = 3,02 min. (Analítico_1); EM (positivo): 546,4; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 8,40 (1H, d, J 8 Hz), 8,08 (1H, d, J 7 Hz), 7,98 (1H, s), 7,69 (1H, s), 7,47 - 7,50 (2H, m), 4,87 (1H, quint, J 9 Hz), 4,10 (1H, q, J 5,5 Hz), 3,95 (4H, m), 3,47 (2H, s), 3,27 (3H, s), 3,07 (1H, m), 2,08 (1H, m), 2,63 - 2,86 (4H, m), 1,88 (3H, m), 1,78 (1H, m), 1,68 (2H, m), 1,50 - 1,62 (5H, m), 1,32 (1H, m), 0,90 (2H, m), 0,66 (2H, m).

Compuesto [375]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-(4-(2-hidroxietil)piperazin-1-il)-3-metoxibenzamida

Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (48 mg, 0,11 mmol, 1 eq.), DIPEA (36 μl, 0,22 mmol, 2 eq.) y TBTU (39 mg, 0,12 mmol, 1,1 eq.) a 5 ml de DCM y se agitó la disolución resultante a ta durante 15 min. antes de la adición de 2-(4-aminopiperazin-1-il)etanol (19 mg, 0,13 mmol, 1,2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 16 horas antes de concentrar a vacío y purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-(4-(2-hidroxietil)piperazin-1-il)-3-metoxibenzamida (24 mg, 39 %).

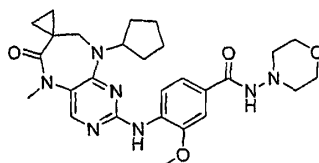


Rt = 2,48 min. (Analítico_1); EM (positivo): 565,4; ¹H-RMN (DMSO) δ ppm: 0,66 - 0,67 (2H, m, CH₂), 0,88 - 0,90 (2H, m, CH₂), 1,23 - 1,90 (8H, m, alquil-H), 2,34-2,41 (4H, m, alquil-H), 2,91 (4H, t, J = 4 Hz, alquil-H), 3,16 (3H, s, CH₃), 3,46-3,51 (4H, m,), 3,93 (3H, s, CH₃), 4,38-4,45 (1H, m,) 4,81-4,87 (1H, m, CH), 7,40 (2H, d, J = 10,5 Hz, aril-H), 7,67 (1H, s), 7,98 (1H, s), 8,39 (1H, d, J = 8 Hz, aril-H), 9,30 (1H, s, NH).

Compuesto [376]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-morfolinobenzamida

Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (50 mg, 0,11 mmol, 1 eq.), DIPEA (38 μl, 0,23 mmol, 2 eq.) y TBTU (40 mg, 0,12 mmol, 1,1 eq.) a 5 ml de DCM y se agitó la disolución resultante a ta durante 15 min. antes de la adición de 4-aminomorfolina (12 mg, 0,14 mmol, 1,2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 16

horas antes de concentrar a vacío y purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-morfolinobenzamida (26 mg, 44 %).

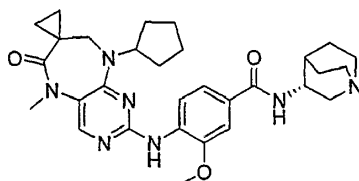


5
Rt = 2,72 min. (Analítico_1); EM (positivo): 522,4; ¹H-RMN (DMSO) δ ppm: 0,65 - 0,71 (2H, m, CH₂), 0,85 - 0,91 (2H, m, CH₂), 1,23 - 1,88 (8H, m, alquil-H), 2,92 (4H, t, J = 4 Hz, alquil-H), 3,16 (3H, s, CH₃), 3,47 (2H, s, alquil-H), 3,66 (4H, t, J = 4,5 Hz), 3,94 (3H, s, CH₃), 4,81 - 4,87 (1H, m, CH), 7,41 (2H, d, J = 9,5 Hz), 7,69 (1H, s), 7,98 (1H, s), 8,40 (1H, d, J = 8 Hz), 9,41 (1H, s, NH).

10
Compuesto [347]: (R)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(quinuclidin-3-il)benzamida

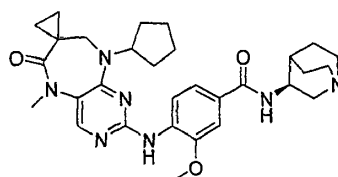
15 Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (0,11 g, 0,25 mmol, 1 eq.), DIPEA (0,17 ml) y TBTU (88 mg, 0,28 mmol, 1,1 eq.) a 5 ml de DCM y se agitó la disolución resultante a ta durante 30 min. antes de la adición de clorhidrato de (R)-(+)-3-aminoquinuclidina (60 mg, 0,30 mmol, 1,2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 16 horas antes de diluir con DCM y lavar secuencialmente con agua (x2), hidrogenocarbonato de sodio saturado acuoso al 50 %, hidrogenocarbonato de sodio saturado acuoso y salmuera saturada. Se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se concentró a vacío. Se disolvió el residuo en la cantidad mínima de EtOAc antes de la adición de n-heptano para precipitar (R)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepina-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(quinuclidin-3-il)benzamida (sólido de color blanco, 0,13 g, 96 %).

25
Rt = 3,07 min. (Analítico_1); EM (positivo): 546,5; EM (negativo): 544,6; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm 0,62 - 0,72 (2 H, m), 0,87 - 0,94 (2 H, m), 1,20 - 1,38 (1 H, m), 1,44 - 1,54 (2 H, m), 1,54 - 1,64 (4 H, m), 1,64 - 1,74 (2 H, m), 1,75 - 1,85 (1 H, m), 1,85 - 1,95 (3 H, m), 2,65 - 2,79 (4 H, m), 2,83 - 3,01 (1 H, m), 3,11 - 3,21 (4 H, m), 3,47 (2 H, s), 3,95 (4 H, s), 4,77 - 4,93 (1 H, m), 7,42 - 7,54 (2 H, m), 7,69 (1 H, s), 7,98 (1 H, s), 8,10 (1 H, d, J=6,3 Hz), 8,39 (1 H, d, J=8,3 Hz).



35
Compuesto [348]: (S)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(quinuclidin-3-il)benzamida

40 Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (0,11 g, 0,25 mmol, 1 eq.), DIPEA (0,17 ml) y TBTU (88 mg, 0,28 mmol, 1,1 eq.) a 5 ml de DCM y se agitó la disolución resultante a ta durante 30 min. antes de la adición de diclorhidrato de (S)-(-)-3-aminoquinuclidina (60 mg, 0,30 mmol, 1,2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 16 horas antes de diluir con DCM y lavar secuencialmente con agua (x2), hidrogenocarbonato de sodio saturado acuoso al 50 %, hidrogenocarbonato de sodio saturado acuoso y salmuera saturada. Se secó la fase orgánica (MgSO₄) y se concentró a vacío. Se disolvió el residuo en la cantidad mínima de EtOAc antes de la adición de n-heptano para precipitar (S)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-(quinuclidin-3-il)benzamida (sólido de color blanco, 0,075 g, 55 %).

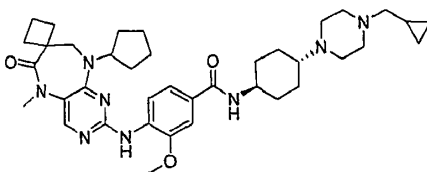


50 Rt = 3,04 min. (Analítico_1); EM (positivo): 546,5; EM (negativo): 544,6; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,59 - 0,74 (2 H,

m), 0,86 - 0,97 (2 H, m), 1,20 - 1,43 (1 H, m), 1,45 - 1,75 (7 H, m), 1,76 - 1,98 (4 H, m), 2,66 - 2,86 (3 H, m), 2,89 - 3,07 (1 H, m), 3,17 (3 H, s), 3,47 (3 H, s), 3,89 - 4,02 (4 H, m), 4,76 - 4,96 (1 H, m), 7,42 - 7,59 (2 H, m), 7,70 (1 H, s), 7,98 (1 H, s), 8,14 (1 H, d, J=6,3 Hz), 8,40 (1 H, d, J=7,8 Hz).

5 **Compuesto [377]:** 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-((trans)-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

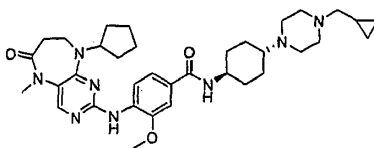
Se calentaron 2'-cloro-9'-ciclopentil-5'-metil-8',9'-dihidroespiro[ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-6'(5'H)-ona (producto intermedio 4) (0,065 g, 0,2 mmol, 1 eq.), 4-amino-N-(trans-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (producto intermedio 11) (0,24 g, 0,6 mmol, 3 eq.) y TFA (75 μ l, 1 mmol, 5 eq.) en TFE (6 ml) hasta reflujo juntos 40 horas. Se concentró la MR a vacío y se repartió el residuo entre EtOAc e hidrogenocarbonato de sodio saturado. Se separó la fase orgánica, se lavó con salmuera saturada y se concentró a vacío hasta un residuo que se purificó mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para dar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro(ciclobutano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin)-2'-ilamino)-N-((trans)-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida.



20 Rt = 3,41 min. (Analítico_1); ES (positivo): 671,6; ES (negativo): 669,7; 1 H-RMN (DMSO- d_6) δ ppm: 0,03 (2H, dd, J 9,5 Hz, 5 Hz), 0,41 (2H, dd, J 10 Hz, 5 Hz), 0,79 (1H, m), 1,20 - 1,37 (4H, m), 1,55 - 1,94 (18H, m), 2,04 (2H, d, J 6,5 Hz), 2,16 - 2,46 (8H, m), 3,15 (3H, s), 3,32 (2H, s), 3,69 (1H, m), 3,90 (3H, s), 4,79 (1H, m), 7,44 (2H, m), 7,68 (1H, s), 8,01 (2H, m), 8,34 (1H, d, J 8,5 Hz).

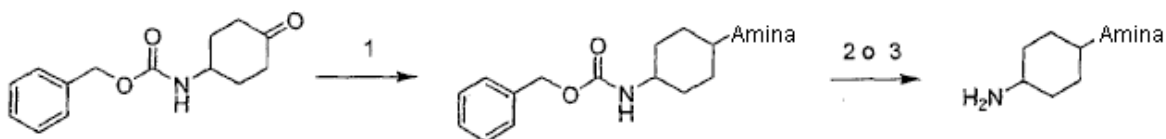
25 **Compuesto [378]:** 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-((trans)-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

Se calentaron juntos 2-cloro-9-ciclopentil-5-metil-8,9-dihidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6(7H)-ona (producto intermedio 1) (0,13 g, 0,43 mmol, 1 eq.), 4-amino-N-(trans-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (producto intermedio 11) (0,26 g, 0,67 mmol, 1,5 eq.) y TFA (0,17 ml, 2,2 mmol, 5 eq.) en TFE (3 ml) a 80 °C durante 18 horas. Se añadió cantidad adicional de producto intermedio 1 (0,10 g) y se calentó la reacción adicionalmente durante 48 horas. Se concentró la MR a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre sílice eluyendo con un gradiente de amoniaco al 0-20 %/MeOH en DCM seguido por HPLC preparativa (Preparativo_4) entonces finalmente RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_1) para dar 4-(9-ciclopentil-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-N-((trans)-4-(4-(ciclopropilmetil)piperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (0,11 g, 26 %).



40 Rt = 2,88 min. (Analítico_1); ES (positivo): 631,5; ES (negativo): 629,6; 1 H-RMN (DMSO- d_6) δ ppm: -0,15 - 0,11 (m, 2 H), 0,40 (d, J = 8,06 Hz, 2 H), 0,63 - 0,85 (m, 1 H), 1,11 - 1,41 (m, 3 H), 1,57 (s. a., 2 H), 1,69 (d, J = 17,73 Hz, 2 H), 1,74 - 1,95 (m, 6 H), 2,04 (s, 2 H), 2,09 (d, J = 6,45 Hz, 2 H), 2,16 (d, J = 9,67 Hz, 1 H), 2,32 (s. a., 2 H), 2,49 (s. a., 1 H), 2,51 - 2,59 (m, 2 H), 2,59 (s. a., 1 H), 3,07 - 3,17 (m, 3 H), 3,27 (s, 5 H), 3,53 - 3,62 (m, 2 H), 3,67 (dd, J = 7,41, 3,55 Hz, 1 H), 3,89 (s, 2 H), 4,04 (q, J = 5,37 Hz, 1 H), 4,76 (quin, J = 8,22 Hz, 1 H), 7,38 - 7,48 (m, 2 H), 7,68 (s, 1 H), 7,99 (d, J = 7,74 Hz, 1 H), 8,03 (s, 1 H), 8,33 (d, J = 8,06 Hz, 1 H).

45 Productos intermedios 13-19: 4-(amina-sustituido)ciclohexanaminas



50 1. [Análogo al método III en Abdel-Magid A.F. *et al.* (1996) J. Org. Chem., 61, 3849-3862] triacetoxiborohidruo de

sodio (1,5 eq.), ácido acético (1 eq.), amina (1,1 eq.), THF, 20 h a ta; 2. H₂, Pd al 10 %/C, 60 °C, metanol, hidrogenación de flujo; 3. Yoduro de sodio (4 eq.), clorotrimetilsilano (4 eq.), acetonitrilo, 0 °C -ta, 18h.

Etapa 1:

5 Se añadió N-benciloxycarbonil-4-aminociclohexanona, un compuesto conocido en la técnica [documento WO 2007/002181 A2] (normalmente escala de 1 mmol), a un tubo de reacción que contenía THF (5 ml), la piperazina homopiperazina o morfolina sustituida apropiada, junto con ácido acético y triacetoxiborohidruro de sodio. Se agitó la
10 reacción a temperatura ambiente durante 20 horas. Se extinguió la reacción con disolución de NaHCO₃ (2 ml) antes de acidificar hasta pH 2 con disolución de HCl 1 N. Se lavó la mezcla con EtOAc antes de separar la fase acuosa y basificar hasta pH 10 con disolución de NaOH 2 N. Se extrajo el producto en EtOAc, que se lavó con NaCl sat., se secó (MgSO₄) y se evaporó a presión reducida para proporcionar el 4-(amina-sustituido)ciclohexilcarbamato de bencilo requerido.

Etapa 2:

Se disolvieron cada 4-(amina-sustituido)ciclohexilcarbamato de bencilo en metanol hasta una concentración de 0,05 M. Se realizó la hidrogenación usando un reactor de flujo H-Cube™ (ThalesNano Inc.) a una velocidad de flujo de 1 ml/min. sobre catalizador de Pd al 10 %/C calentado hasta 60 °C en modo de hidrógeno completo. La
20 concentración a presión reducida proporcionó el producto de 4-(amina-sustituido)ciclohexanamina deseado como aceites. Pudieron obtenerse las sales de clorhidrato sólidas agitando con HCl etéreo.

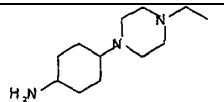
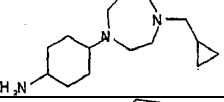
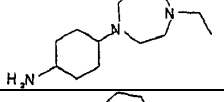
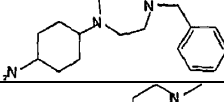
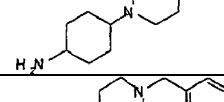
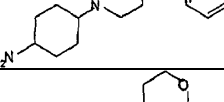
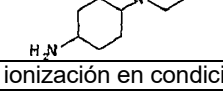
Quando se requirió desproteger selectivamente los carbamatos de bencilo en presencia de un grupo N-bencilo (productos intermedios 16 y 18), se empleó la etapa 3 en lugar de la etapa 2.

25

Etapa 3:

Se disolvió yoduro de sodio (1,5 mmol, 4 eq.) en acetonitrilo anhidro (5 ml) y se agitó mientras se añadía clorotrimetilsilano (1,5 mmol, 4 eq.). Tras 5 minutos se añadió lentamente esta mezcla a una disolución de la 4-
30 (amina-sustituido)ciclohexanamina disuelta en acetonitrilo anhidro (2 ml), se enfrió en un baño de hielo-agua. Tras 1 hora se retiró el baño de enfriamiento y se agitó la MR a temperatura ambiente durante 18 horas. Se concentró la MR a presión reducida y se volvió a disolver en disolución al 1 % de agua en metanol. Se absorbió la mezcla sobre una columna SCX II, se lavó con metanol y se eluyó con amoniaco en metanol. Se concentró a vacío para proporcionar la 4-(amina-sustituido)ciclohexanamina deseada.

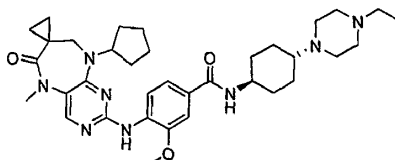
35

Producto intermedio	Estructura	ES (positivo) [M+H] ⁺	Análítico_1 Rt (min.)
13		212,3	2,05
14		252,3	2,42
15		nd	-
16		nd	-
17		nd	-
18		274,3	3,27
19		185,2	1,47
nd = sin datos (no se detectó ionización en condiciones normales)			

Compuesto [379]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahydroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido][4,5-

b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-((trans)-4-(4-etilpiperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

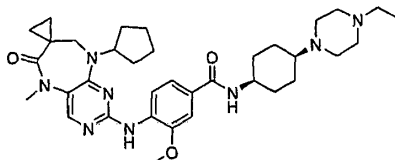
Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (66 mg, 0,15 mmol, 1 eq.), DIPEA (52 µl, 0,3 mmol, 2 eq.) y TBTU (54 mg, 0,17 mmol, 1,1 eq.) a 1,5 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 20 min. antes de la adición de 4-(4-etilpiperazin-1-il)ciclohexanamina (producto intermedio 13) como la sal de clorhidrato (58 mg, 0,18 mmol, 1,2 eq.) y DIPEA (78 µl, 0,45 mmol, 3 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 2 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_2) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-((trans)-4-(4-etilpiperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (vidrio incoloro, 26 mg, 28 %).



Rt = 3,00 min. (Analítico_1) EM (positivo) 631,6; EM (negativo) 629,7; Rt = 3,00 min. (Analítico_1) EM (positivo) 631,6; EM (negativo) 629,7; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,59 - 0,72 (2 H, m), 0,81 - 0,92 (2 H, m), 0,97 (3 H, t, J=7,1 Hz), 1,20 - 1,42 (4 H, m), 1,42 - 1,55 (2 H, m), 1,54 - 1,64 (2 H, m), 1,64 - 1,73 (2 H, m), 1,83 (2 H, d, J=11,7 Hz), 1,89 (4 H, d, J=7,8 Hz), 2,14 - 2,42 (7 H, m), 3,16 (3 H, s), 3,47 (2 H, s), 3,64 - 3,79 (1 H, m), 3,94 (3 H, s), 4,84 (1 H, quin, J=8,7 Hz), 7,40 - 7,54 (2 H, m), 7,67 (1 H, s), 7,98 (1 H, s), 8,03 (1 H, d, J=7,8 Hz), 8,38 (1 H, d, J=8,3 Hz).

Compuesto [380]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,7']diazepin]-2'-ilamino)-N-((cis)-4-(4-etilpiperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

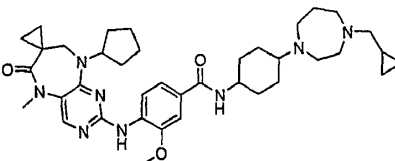
A partir de la síntesis y purificación del compuesto [379], se aisló como compuesto separado 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]2'-ilamino)-N-((cis)-4-(4-etilpiperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (vidrio incoloro, 27 mg, 29 %).



Rt = 3,13 min. (Analítico_1) EM (positivo) 631,6; EM (negativo) 629,7; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,60 - 0,72 (2 H, m), 0,83 - 0,93 (2 H, m), 0,98 (3 H, t, J=7,1 Hz), 1,38 - 1,55 (6 H, m), 1,55-1,63 (2H, m), 1,63-1,80 (4H, m), 1,80-1,96 (4H, m), 2,02-2,17 (1H, m), 2,16 - 2,44 (7 H, m), 3,16 (3 H, s), 3,47 (2 H, s), 3,79 - 3,92 (1 H, m), 3,94 (3 H, s), 4,84 (1 H, quin, J=8,5 Hz), 7,44 - 7,58 (2 H, m), 7,67 (1 H, s), 7,98 (1 H, s), 8,03 (1 H, d, J=7,3 Hz), 8,37 (2 H, d, J=8,8 Hz).

Compuesto [381]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-(4-(4-(ciclopropilmetil)-1,4-diazepan-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (88 mg, 0,2 mmol, 1 eq.), DIPEA (70 µl, 0,4 mmol, 2 eq.) y TBTU (72 mg, 0,24 mmol, 1,2 eq.) a 2 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 20 min. antes de la adición de 4-(4-(ciclopropilmetil)-1,4-diazepan-1-il)ciclohexanamina (producto intermedio 14) (60 mg, 0,24 mmol, 1,2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 2 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_2) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-(4-(4-(ciclopropilmetil)-1,4-diazepan-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida como una mezcla de isómeros cis y trans (sólido blanquecino, 67 mg, 50 %).

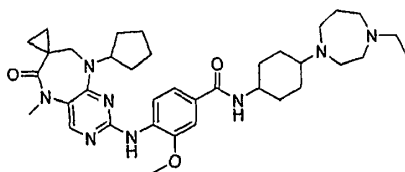


Rt = 4,12 min. (pico ancho) (Analítico_1) EM (positivo) 671,6; EM (negativo) 669,7; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,01 (2 H, d, J=4,4 Hz), 0,40 (2 H, d, J=7,3 Hz), 0,63 (2 H, s. a.), 0,71 0,83 (1 H, m), 0,87 (2 H, s. a.), 1,02 (1 H, t, J=7,1 Hz), 1,25 - 1,38 (2,5 H, m), 1,39 - 1,52 (3,5 H, m), 1,52 - 1,61 (2 H, m), 1,65 (4 H, d; J=5,9 Hz), 1,70 - 1,80 (3

H, m), 1,85 (3 H, d, $J=4,4$ Hz), 2,21 - 2,31 (1 H, m), 2,55 - 2,83 (8 H, m), 3,13 (3,5 H, s), 3,35 - 3,55 (3 H, m), 3,69 (0,5 H, s. a.), 3,91 (3,5 H, s), 4,31 (0,5 H, t, $J=5,1$ Hz), 4,81 (1 H, t, $J=8,5$ Hz), 7,25 - 7,54 (2 H, m), 7,64 (1 H, s), 7,84 - 8,16 (2 H, m), 8,35 (1 H, d, $J=8,3$ Hz).

5 **Compuesto [382]:** 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-(4-(4-etil-1,4-diazepan-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

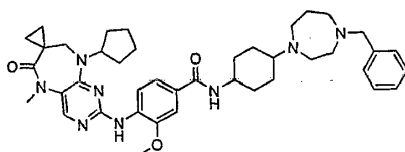
Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (44 mg, 0,1 mmol, 1 eq.), DIPEA (35 μ l, 0,2 mmol, 2 eq.) y TBTU (36 mg, 0,12 mmol, 1,2 eq.) a 1 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 20 min. antes de la adición de 4-(4-etil-1,4-diazepan-1-il)ciclohexanamina (producto intermedio 15) como la sal de clorhidrato (32 mg, 0,1 mmol, 1 eq.) y DIPEA (53 μ l, 0,3 mmol, 3 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 2 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_2) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-(4-(4-etil-1,4-diazepan-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida como una mezcla de isómeros cis y trans (sólido de color blanco, 10 mg, 16 %).



20 Rt = 3,98 min., 4,18 min. (picos anchos) (Analítico_1) EM (positivo) 645,6; EM (negativo) 643,7; 1 H-RMN (DMSO- d_6) δ ppm: 0,57 - 0,74 (2 H, m), 0,82 - 0,93 (2 H, m), 0,95 - 1,09 (3 H, m), 1,30 - 1,42 (2 H, m), 1,42 - 1,54 (3,5 H, m), 1,58 (2 H, d, $J=4,4$ Hz), 1,63 - 1,75 (3,5 H, m), 1,75 - 1,83 (1,5 H, m), 1,88 (3,5 H, s. a.), 1,98 - 2,16 (1,5 H, m), 2,59 - 2,86 (4 H, m), 3,17 (4 H, s), 3,41-3,53 (3,5 H, m), 3,78 (2,5 H, m), 3,88 - 4,02 (3,5 H, m), 4,06 - 4,38 (1 H, m), 4,76 - 4,91 (1 H, m), 7,39 - 7,57 (2 H, m), 7,59 - 7,78 (1 H, m), 7,98 (2 H, s), 8,31 - 8,45 (1 H, m)

25 **Compuesto [383]:** N-(4-(4-bencil-1,4-diazepan-1-il)ciclohexil)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzamida

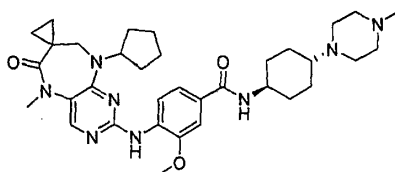
Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (66 mg, 0,15 mmol, 1 eq.), DIPEA (52 μ l, 0,3 mmol, 2 eq.) y TBTU (54 mg, 0,17 mmol, 1,1 eq.) a 1 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 20 min. antes de la adición de 4-(4-bencil-1,4-diazepan-1-il)ciclohexanamina (producto intermedio 16) (54 mg, 0,19 mmol, 1,27 eq.) disuelta en DMF (0,5 ml). Entonces se agitó la MR a ta durante 2 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_5) para proporcionar N-(4-(4-bencil-1,4-diazepan-1-il)ciclohexil)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzamida como una mezcla de isómeros cis y trans (sólido blanquecino, 33 mg, 31 %).



40 Rt = 4,40 min. (Analítico_1) EM (positivo) 707,6; EM (negativo) 705,7; 1 H-RMN (DMSO- d_6) δ ppm: 0,73 (2 H, s. a.), 0,96 (2 H, s. a.), 1,22 - 2,22 (19 H, m), 2,64 - 2,91 (4 H, m), 3,23 (5 H, s), 3,53 (8 H, s), 3,89 - 4,24 (4 H, m), 4,91 (1 H, t, $J=8,5$ Hz), 5,82 (0 H, s), 7,23-8,54 (10H, m).

45 **Compuesto [384]:** 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-((trans)-4-(4-metilpiperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

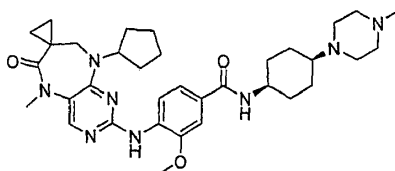
Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (66 mg, 0,15 mmol, 1 eq.), DIPEA (52 μ l, 0,3 mmol, 2 eq.) y TBTU (54 mg, 0,17 mmol, 1,1 eq.) a 1 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 20 min. antes de la adición de 4-(4-metilpiperazin-1-il)ciclohexanamina (producto intermedio 17) (35 mg, 0,18 mmol, 1,2 eq.) disuelta en DMF (0,5 ml). Entonces se agitó la MR a ta durante 2 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (preparativo_2 y Preparativo_3) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-((trans)-4-(4-metilpiperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (sólido de color blanco, 17 mg, 18 %).



Rt = 2,85 min. (Analítico_1) EM (positivo) 617,5; EM (negativo) 615,6; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,61 - 0,76 (2 H, m), 0,89 (1 H, t, J=6,8 Hz), 0,92 - 0,98 (2 H, m), 1,22 - 1,47 (5 H, m), 1,47 - 1,79 (6 H, m), 1,81 - 2,02 (5 H, m), 2,07 - 2,20 (3 H, m), 2,20 - 2,42 (4 H, m), 3,20 (4 H, s), 3,34 (3 H, s), 3,51 (2 H, s), 3,67 - 3,82 (1 H, m), 3,98 (3 H, s), 4,88 (1 H, quin, J=8,5 Hz), 7,42 - 7,59 (2 H, m), 7,71 (1 H, s), 8,02 (1 H, s), 8,08 (1 H, d, J=7,8 Hz), 8,42 (1 H, d, J=8,3 Hz).

Compuesto [385]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-((cis)-4-(4-metilpiperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida

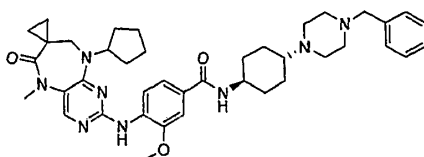
A partir de la síntesis y purificación del compuesto [384], se aisló como compuesto separado 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-N-((cis)-4-(4-metilpiperazin-1-il)ciclohexil)-3-metoxibenzamida (sólido de color blanco, 34 mg, 37 %).



Rt = 2,93 min. (Analítico_1) EM (positivo) 617,5; EM (negativo) 615,6; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,62 - 0,80 (2 H, m), 0,84 - 1,02 (4 H, m), 1,18 - 1,36 (4 H, m), 1,43 - 1,84 (12 H, m), 1,84 - 2,03 (4 H, m), 2,09 - 2,22 (4 H, m), 2,41 (4 H, s. a.), 3,21 (3 H, s), 3,52 (2 H, s), 3,89 - 3,97 (1 H, m), 3,99 (3 H, s), 4,89 (1 H, quin, J=8,5 Hz), 7,47 - 7,61 (2 H, m), 7,72 (1 H, s), 8,03 (1 H, s), 8,08 (1 H, d, J=7,3 Hz), 8,43 (1 H, d, J=9,3 Hz)

Compuesto [386]: N-((trans)-4-(4-bencilpiperazin-1-il)ciclohexil)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzamida

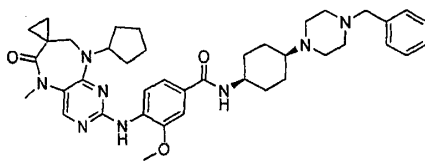
Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (66 mg, 0,15 mmol, 1 eq.), DIPEA (52 μl, 0,3 mmol, 2 eq.) y TBTU (54 mg, 0,17 mmol, 1,1 eq.) a 1 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 20 min. antes de la adición de 4-(4-bencilpiperazin-1-il)ciclohexanamina (producto intermedio 18) (35 mg, 0,18 mmol, 1,2 eq.) disuelta en DMF (0,5 ml). Entonces se agitó la MR a ta durante 2 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_2) para proporcionar N-((trans)-4-(4-bencilpiperazin-1-il)ciclohexil)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzamida (sólido de color blanco, 13 mg, 13 %).



Rt = 3,64 min. (Analítico_1) EM (positivo) 693,6; EM (negativo) 691,7; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,62 - 0,79 (2 H, m), 0,85 - 1,02 (2 H, m), 1,20 - 1,46 (4 H, m), 1,46 - 1,58 (2 H, m), 1,59 - 1,67 (2 H, m), 1,67 - 1,78 (2 H, m), 1,80 - 2,02 (6 H, m), 2,12 (1 H, s), 2,18 - 2,46 (6 H, m), 3,20 (3 H, s), 3,43 - 3,56 (5 H, m), 3,67 - 3,84 (1 H, m), 3,97 (3 H, s), 4,88 (1 H, quin, J=8,4 Hz), 7,22 - 7,42 (6 H, m), 7,44 - 7,59 (2 H, m), 7,71 (1 H, s), 8,02 (1 H, s), 8,08 (1 H, d, J=7,8 Hz), 8,42 (1 H, d, J=7,8 Hz)

Compuesto [387]: N-((cis)-4-(4-bencilpiperazin-1-il)ciclohexil)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzamida

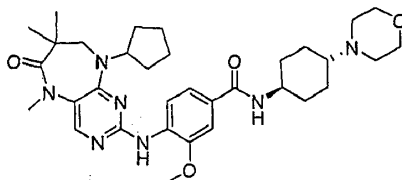
A partir de la síntesis y purificación del compuesto [386], se aisló como compuesto separado N-((cis)-4-(4-bencilpiperazin-1-il)ciclohexil)-4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzamida (sólido de color blanco, 20 mg, 19 %).



Rt = 3,85 min. (Analítico_1) EM (positivo) 693,6; EM (negativo) 691,7; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,62 - 0,79 (2 H, m), 0,87 - 1,01 (2 H, m), 1,43 - 1,59 (5 H, m), 1,59 - 1,67 (2 H, m), 1,66 - 1,74 (2 H, m), 1,75 - 1,84 (2 H, m), 1,92 (4 H, s. a.), 2,07 - 2,29 (2 H, m), 2,41 (4 H, s. a.), 3,20 (3 H, s), 3,51 (4 H, s), 3,87 - 4,05 (4 H, m), 4,74 - 4,99 (1 H, m), 7,24 - 7,39 (5 H, m), 7,50 - 7,56 (2 H, m), 7,71 (1 H, s), 8,02 (1 H, s), 8,07 (1 H, d, J=6,8 Hz), 8,42 (1 H, d, J=8,8 Hz)

Compuesto [388]: 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-((trans)-4-morfolinociclohexil)benzamida

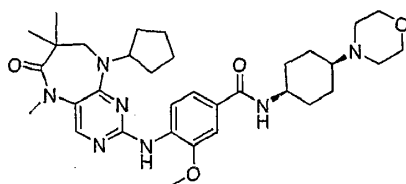
Se añadieron ácido 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 6) (66 mg, 0,15 mmol, 1 eq.), DIPEA (52 μl, 0,3 mmol, 2 eq.) y TBTU (54 mg, 0,17 mmol, 1,1 eq.) a 1,5 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 20 min. antes de la adición de 4-morfolinociclohexanamina (producto intermedio 16) (33 mg, 0,18 mmol, 1,2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 2 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (preparativo_2) para proporcionar 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-((trans)-4-morfolinociclohexil)benzamida (sólido blanquecino, 10 mg, 11 %).



Rt = 3,16 min. (Analítico_1) EM (positivo) 606,4; EM (negativo) 604,5; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 1,07 - 1,18 (7 H, m), 1,24 - 1,49 (4 H, m), 1,58 - 1,71 (4 H, m), 1,71 - 1,84 (2 H, m), 1,83 - 2,03 (6 H, m), 2,23 (1 H, t, J=10,5 Hz), 2,43 - 2,51 (3 H, m), 3,17 - 3,28 (4 H, m), 3,42 (3 H, s. a.), 3,60 (4 H, s. a.), 3,64 (1 H, s. a.), 3,71 - 3,83 (1 H, m), 3,98 (3 H, s), 5,23 (1 H, t, J=8,3 Hz), 7,44 - 7,60 (2 H, m), 7,72 (1 H, s), 8,02 (1 H, s), 8,09 (1 H, d, J=7,8 Hz), 8,40 (1 H, d, J=8,3 Hz)

Compuesto [389]: 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-((cis)-4-morfolinociclohexil)benzamida

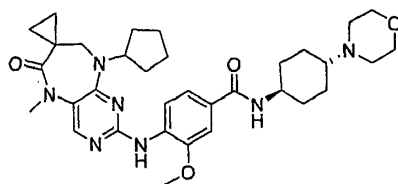
A partir de la síntesis y purificación del compuesto [388], se aisló como compuesto separado 4-(9-ciclopentil-5,7,7-trimetil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidro-5H-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-2-ilamino)-3-metoxi-N-((cis)-4-morfolinociclohexil)benzamida (sólido de color blanco, 22 mg, 24 %).



Rt = 3,31 min. (Analítico_1) EM (positivo) 606,4; EM (negativo) 604,5; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 1,13 (6 H, s), 1,39 - 1,60 (4 H, m), 1,60 - 1,71 (4 H, m), 1,71 - 1,85 (4 H, m), 1,85 - 2,01 (4 H, m), 2,07 - 2,22 (2 H, m), 2,42 - 2,48 (4 H, m), 3,22 (4 H, s), 3,64 (4 H, s. a.), 3,87 - 4,05 (4 H, m), 5,14 - 5,31 (1 H, m), 7,45 - 7,62 (2 H, m), 7,71 (1 H, s), 8,02 (1 H, s), 8,09 (1 H, d, J=7,3 Hz), 8,39 (1 H, d, J=8,3 Hz)

Compuesto [390]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-((trans)-4-morfolinociclohexil)benzamida

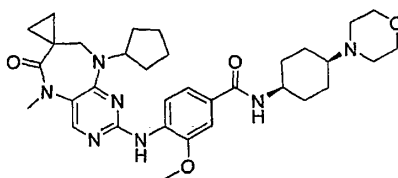
Se añadieron ácido 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxibenzoico (producto intermedio 5) (66 mg, 0,15 mmol, 1 eq.), DIPEA (52 μl, 0,3 mmol, 2 eq.) y TBTU (54 mg, 0,17 mmol, 1,1 eq.) a 1,5 ml de DMF y se agitó la disolución resultante a ta durante 20 min. antes de la adición de 4-morfolinociclohexanamina (producto intermedio 16) (33 mg, 0,18 mmol, 1,2 eq.). Entonces se agitó la MR a ta durante 2 horas antes de purificar mediante RP-HPLC preparativa-EM (Preparativo_2) para proporcionar 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-((trans)-4-morfolinociclohexil)benzamida (sólido blanquecino, 13 mg, 14 %).



Rt = 2,96 min. (Analítico_1) EM (positivo) 604,4; EM (negativo) 602,5; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,72 (2 H, s), 0,95 (2 H, s), 1,24 - 1,49 (4 H, m), 1,49 - 1,60 (2 H, m), 1,60 - 1,69 (2 H, m), 1,69 - 1,82 (2 H, m), 1,82 - 2,03 (6 H, m), 2,14 (1 H, s), 2,17 - 2,32 (1 H, m), 3,22 (4 H, s), 3,53 (2 H, s), 3,61 (4 H, s. a.), 3,71 - 3,84 (1 H, m), 4,00 (3 H, s), 4,90 (1 H, quin, J=8,5 Hz), 7,43 - 7,61 (2 H, m), 7,73 (1 H, s), 8,04 (1 H, s), 8,10 (1 H, d, J=7,8 Hz), 8,44 (1 H, d, J=8,3 Hz)

Compuesto [391]: 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-((cis)-4-morfolinociclohexil)benzamida

A partir de la síntesis y purificación del compuesto [390], se aisló como compuesto separado 4-(9'-ciclopentil-5'-metil-6'-oxo-5',6',8',9'-tetrahidroespiro[ciclopropano-1,7'-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin]-2'-ilamino)-3-metoxi-N-((cis)-4-morfolinociclohexil)benzamida (sólido de color blanco, 27 mg, 30 %).



Rt = 3,10 min. (Analítico_1) EM (positivo) 604,4; EM (negativo) 602,5; ¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 0,66 - 0,81 (2 H, m), 0,88 - 1,03 (2 H, m), 1,45 - 1,86 (12 H, m), 1,87 - 2,02 (4 H, m), 2,10 - 2,21 (1 H, m), 2,47 (4 H, s. a.), 3,22 (3 H, s), 3,52 (2 H, s), 3,65 (4 H, s. a.), 3,89 - 4,05 (4 H, m), 4,90 (1 H, quin, J=8,5 Hz), 7,50 - 7,63 (2 H, m), 7,73 (1 H, s), 8,03 (1 H, s), 8,10 (1 H, d, J=7,3 Hz), 8,43 (1 H,

* EJEMPLO 3

Se aisló un clon de CDC25C humano de longitud completa mediante PCR de ARNm de HeLa y se insertó en un fragmento BamHI-HindIII en pRsetA. Se cortó el fragmento amino terminal de CDC25C (que codifica para los residuos 1-300) de este vector y se insertó en pET28a (entre los sitios NcoI y BamHI). La expresión estaba bajo el control del promotor de T7, y la proteína codificada contenía una etiqueta His₆ en el extremo carboxilo terminal. Se transformó el vector en una cepa de *E. coli* BRL(DE3) pLysS para experimentos de expresión. Se expresó CDC25C en células bacterianas BL21(DE3) RIL, se hizo crecer en medio LB a 37 °C hasta que se alcanzó una DO_{600nm} de 0,6. Se indujo la expresión con IPTG 1 mM y se hizo crecer el cultivo bacteriano adicionalmente durante 3 h. Se recogieron las bacterias mediante centrifugación y se resuspendió el sedimento celular en Tris 50 mM pH 7,5 y sacarosa al 10 %, se sometió a congelación ultrarrápida y se almacenó a -70 °C hasta que se usó. Se purificó la proteína CDC25C a partir de cuerpos de inclusión de *E. coli*. Se aislaron los cuerpos de inclusión en un tampón (Tris 50 mM pH 8,0, EDTA 2 mM, NaCl 100 mM, Triton X-100 al 0,5 %). Tras la desnaturalización en presencia de urea 6 M, se volvió a plegar la proteína por medio de diálisis lenta de la urea. Se almacenó la proteína en Tris 25 mM pH 8,0, NaCl 100 mM, DTT 1 mM, EDTA 1 mM y glicerol al 10 % a -70 °C hasta que se usó.

Se amplificó un clon de PLK1 humano de longitud completa (XM_047240) (aminoácidos 1-603) a partir de una biblioteca de ADNc de pulmón fetal usando cebadores que incorporan sitios de restricción. El cebador en 5' (gccgctagcgcgacgatgacgataagatgagtctgctgcagtgactgcaggggaagc) tenía un sitio NheI antes del codón de iniciación de ATG. El cebador en 3' (ggaattcttaggaggccttgagacgg) incorporó un codón de terminación antes del sitio EcoRI. Se clonó el producto de PCR en los sitios NheI/EcoRI de un vector de expresión de baculovirus, pSSP1. La clonación en este vector dio como resultado una fusión de la etiqueta His₆ en el extremo amino terminal del constructo de PLK1. Se dividieron de nuevo células Sf9 de un número de pase inferior a 20 para dar un volumen de cultivo de 300 ml, a una densidad celular de 1,5 x 10⁶ células/ml. Las células se usaron solamente para la expresión en fase de crecimiento logarítmico. Se añadió el baculovirus con PLK1 (de la amplificación de P2) para dar una multiplicidad de infección de 3, esto es equivalente a 3 partículas virales por cada célula de insecto. Se incubaron los matraces a 27 °C, con agitación a 100 r.p.m. durante 48 h. En la recogida, se determinaron la densidad y viabilidad celulares, se centrifugaron los cultivos a 2500 r.p.m. durante 5 min. y se lavaron con solución salina tamponada con fosfato helada. Se volvió a centrifugar el lavado a la misma velocidad y se congeló instantáneamente el sedimento. Se purificó la proteína PLK1 en una columna de afinidad de metal. Se lisó el sedimento de células de insecto en un tampón (Tris-HCl 10 mM pH 8,0, NaCl 150 mM, β-mercaptoetanol 5 mM, PMSF 1 mM, benzamidina 1 mM, imidazol 20 mM y cóctel de inhibidor de proteasa (Sigma) y se cargó el sobrenadante preaclarado sobre NiNTA-agarosa (Qiagen). Se lavó la columna de afinidad con el tampón de lisis y se eluyó la proteína unida con imidazol 250 mM en el mismo tampón. Tras diálisis durante la noche frente a Tris HCl 25 mM, pH 7,5, NaCl 100 mM, DTT 1 mM, PMSF 1

mM, benzamidina 1 mM, cóctel de inhibidores de proteasa (Sigma) y glicerol al 10 %, se almacenó la proteína purificada a -70 °C hasta que se usó.

* EJEMPLO 4

5 Se llevaron a cabo ensayos de proteína cinasa PLK1 usando un formato de placa de 96 pocillos incubando CDC25C (2 µg/pocillo) con PLK1 (1 µg/pocillo) en tampón Tris/HCl 20 mM pH 7,5, complementado con β-glicerofosfato 25 mM, EGTA 5 mM, DTT 1 mM y NaVO₃ 1 mM. Se añadieron diluciones en serie de compuesto de prueba en tampón de ensayo. Se inició la reacción mediante la adición de ATP 100 µM y 0,5 µCi de [³²P]-ATP. Se incubó la mezcla de reacción a 30 °C durante 1 h, entonces se detuvo con ácido ortofosfórico acuoso 75 mM, se transfirió a una placa con filtro P81 de 96 pocillos (Whatman), se secó, y se evaluó el grado de fosforilación de CDC25C mediante recuento de centelleo usando un lector de placas TopCount de Packard. Se analizaron los datos del ensayo sin procesar mediante parámetros de análisis de regresión no lineal y se determinaron los valores de CI₅₀ usando la ecuación: $y = A + ((B-A)/(1+((C/x)^D)))$, en la que y es el % de inhibición, A es la inhibición mínima, B es la inhibición máxima, C es CE₅₀ y D es el factor de pendiente.

20 Se llevaron a cabo ensayos de proliferación celular usando líneas celulares de tumor humanas (obtenidas de la Colección americana de cultivos tipo, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, EE.UU.). Se realizaron ensayos MTT de 72-h convencionales (azul de tiazolilo; bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio) (Loveland *et al*, Biochem. Int., 1992, 27, 501; Haselsberger *et al*, Anti Cancer Drugs, 1996, 7, 331). En resumen: se sembraron células en placas de 96 pocillos según el tiempo de duplicación y se incubaron durante la noche a 37 °C. Se prepararon los compuestos de prueba en DMSO y una serie de dilución de 1/3 preparada en 100 µl de medio celular, se añadieron a las células (por triplicado) y se incubaron durante 72 h a 37 °C. Se preparó MTT como una disolución madre de 5 mg/ml en medio celular y se esterilizó mediante filtración. Se retiró el medio de las células seguido por un lavado con 200 µl de PBS. Entonces se añadió la disolución de MTT a 20 µl por pocillo y se incubó en la oscuridad a 37 °C durante 4 h. Se retiró la disolución de MTT y se lavaron de nuevo las células con 200 µl de PBS. Se solubilizó el colorante de MTT con 200 µl por pocillo de DMSO con agitación. Se leyó la absorbancia a 540 nm y se analizaron los datos usando software de ajuste de curvas (GraphPad Prism versión 3.00 para Windows, GraphPad Software, San Diego California EE.UU.) para determinar los valores de CI₅₀ (concentración de compuesto de prueba que inhibe el crecimiento celular en un 50 %).

EJEMPLO 5

Propiedades farmacocinéticas

(a) Metodología

40 Se llevaron a cabo investigaciones preliminares de las farmacocinéticas de compuestos seleccionados en ratones CD-1 conscientes en ayunas (25-30 g). Se dosificaron los compuestos como 1 mg/kg mediante administración intravenosa o 5-10 mg/kg por vía oral. Veintiún ratones macho por vía de administración (n=3 ratones por punto de tiempo) recibieron disolución de dosis mediante inyección de bolo individual en la vena de la cola o mediante sonda nasogástrica. Se recogieron muestras de sangre mediante punción cardiaca a los 5, 15, 30, 60, 120, 240 y 360 min. tras la administración por vía i.v. y a los 30, 60, 120, 240, 360, 480 y 1440 min. tras la administración oral. Se recogieron muestras de sangre en tubos que contenían el anticoagulante heparina de litio, se mezclaron y se colocaron inmediatamente sobre hielo picado. Se derivó plasma de sangre completa mediante centrifugación, se colocaron y se almacenaron a -80 °C antes del análisis. Se determinaron las concentraciones plasmáticas mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas en modo positivo de electropulverización en tándem (IES-CL/EM/EM) usando curvas de calibración preparadas en la matriz apropiada. El nivel inferior de cuantificación (LLOQ) en todos los casos fue de aproximadamente 5 ng/ml. Se procesaron los datos de concentración plasmática-tiempo usando el programa informático WinNonLin versión 5.2 a partir de los cuales se calcularon las áreas bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (AUC_{t_{0-∞}}) mediante análisis no compartimental usando el modelo 201 (entrada de bolo por vía i.v.) o el modelo 200 (entrada extravascular).

EJEMPLO 6

(a) Datos de flujo de salida celular

60 Se han usado ensayos de viabilidad celular *in vitro* para medir el efecto de la acumulación de fármaco en líneas celulares de tumor parentales y resistentes a fármacos emparejadas. Las parejas usadas son la línea A2780 de carcinoma de ovario humano con su homólogo de MDR A2780/ADR y la línea MES-SA de sarcoma uterino humano con su homólogo de MDR MES-SA/Dx5 [Wesolowska O., *et al.* (2005) Anticancer Res., 25, 383-389].

65 Método: Se sembraron células tumorales humanas cultivadas de la línea celular de ovario A2780 y su pareja resistente a la doxorubicina, A2780/ADR y la línea celular uterina MES-SA y su pareja resistente a la doxorubicina, MES-SA/DX5 a 3000 células por pocillo en placas de cultivo tisular de 96 pocillos de Nunc, 100 µl por pocillo en

- 5 medio DMEM que contenía suero de ternero fetal al 10 % y penicilina/estreptomicina. Se llenaron los pocillos de la primera columna en cada placa con 100 μ l de medio DMEM en lugar de células para proporcionar un control de blanco para el Alamar Blue. Se incubaron las células durante la noche a 37 °C y un 5 % de CO₂. Se añadieron los compuestos de interés, disueltos en DMSO, sobre las células a diversas concentraciones. En primer lugar se prepararon diluciones de los compuestos en DMEM a dos veces la concentración deseada final y se añadieron 100 μ l de las diluciones sobre las células. Se sometió a prueba cada conjunto de compuestos por triplicado en cada línea celular. Tras 72 horas de incubación, se añadieron 20 μ l de reactivo Alamar Blue (AbD Serotec) a cada pocillo y se incubó durante 3 horas. Entonces se leyeron las placas a 544/595 nm.
- 10 La cantidad de reactivo Alamar Blue reaccionado representa la actividad metabólica de las células. Se calculó la actividad celular relativa como un porcentaje del control (células sin compuesto) y se derivó la concentración de compuesto activo que inhibía la actividad celular en un 50 % (CI₅₀). Se calcularon los valores a partir del promedio de tres mediciones individuales con corrección de blanco (control de sólo medio).
- 15 Se realizó el ensayo en el instrumento Biomek FxP, plataforma de automatización de Beckman Coulter. Se leyeron las placas en el lector de placas Paradigm suministrado por Beckman Coulter. Se calcularon las razones de asimetría como el valor de CI₅₀ del compuesto en las células resistentes a fármaco dividido entre el valor de CI₅₀ en las células parentales.

20 (b) Inhibición de PLK1

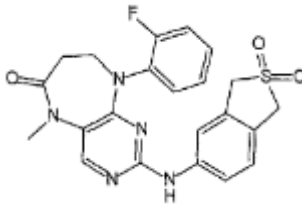
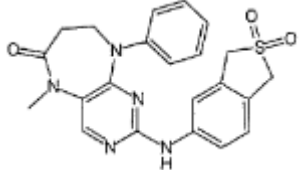
- Además, los compuestos de esta invención que presentan baja asimetría de células parentales/MDR en ensayos de viabilidad celular también son más eficaces en la inhibición PLK1 dentro de células tumorales MDR que los compuestos de la técnica anterior. Por tanto, tienen un mayor potencial como inhibidores de PLK terapéuticos. La proteína de filamento intermedia vimentina es una diana celular de la fosforilación de PLK1. La inhibición de PLK1 se asocia con una disminución en fosfo-vimentina. Esto se ha medido en la pareja de líneas celulares A2780 - A2780/ADR. Método: se sembraron en placa células A2780 y células A2780/ADR en placas de 96 pocillos separadas (Perkin Elmer) a una densidad de 20.000 células/pocillo y se incubaron durante la noche a 37 °C y un 5 % de CO₂. Se añadieron compuestos de prueba a las células en un intervalo de concentraciones, con pocillos por triplicado para cada concentración (la concentración máxima de DMSO en las células era del 0,1 %). Tras 7 h de incubación, se fijaron las células en formaldehído al 3,7 % enfriado con hielo durante 10 min. Se lavaron las células en PBS, entonces se permeabilizaron en metanol frío durante 10 min. Se lavaron las células de nuevo en PBS, entonces se incubaron con PBS que contenía Triton X-100 al 0,1 % durante 5 min. Se lavaron las células una vez con PBS que contenía albúmina sérica bovina al 1 % (Sigma), entonces se incubaron durante 3 h con anticuerpos frente a fosfo-histona H3-Ser10 (1:4000; Millipore) y fosfo-vimentina-Ser82 (1:1000; MBL), en albúmina sérica bovina al 1 %. Se detectaron los anticuerpos con anticuerpo de cabra anti-IgG de ratón conjugado con Alexafluor 488 (Invitrogen) y anticuerpo de cabra anti-IgG de conejo conjugado con Alexafluor 546 (Invitrogen), en albúmina sérica bovina al 1 % con DAPI 300 nM (Cambridge Biosciences). Se exploraron las placas en un lector Cellomics Arrayscan II HCS (Cellomics) usando un objetivo 10X. Se usó Cell Health Profiling V2 Bioapplication (Cellomics) para adquirir y analizar las imágenes. Se midió la tinción de fosfo-vimentina, a intensidades por encima de un umbral definido por el usuario, en células mitóticas sólo (definidas por la presencia de fosfo-histona H3) y se notificó la intensidad de tinción promedio por célula mitótica para cada pocillo. Se derivaron los valores de CI₅₀ usando valores promedio a partir de tres pocillos replicados. Se calcularon las razones de asimetría como el valor de CI₅₀ del compuesto en las células A2780/ADR resistentes a fármaco dividido entre el valor de CI₅₀ en las células A2780 parentales. Aunque la invención se ha descrito con respecto a las realizaciones preferidas, se deberá entender que la invención tal como se reivindica no se debe limitar indebidamente a dichas realizaciones específicas.

TABLA

Comp.	Estructura	AurA CI50	PLK1 CI50	nombre	
73		***		2-(2-(2,2-Dioxo-2,3-dihidro-1H-2lambda*6*-benzo[c]tiofen-5-itamino)9-(2-fluorofenil)-5-metil-5,7,8,9-tetrahidropirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona	¹ H-RMN (DMSO): 2,82 (2H, m, CH2), 3,27 (3H, s, CH3), 4,0 (2H, m, CH2), 4,12 (2H, s, CH2), 4,30 (2H, s, CH2), 6,91 (1H, d, J 8,5 Hz, CH), 7,16 (2H, m, 2CH), 7,36 (2H, m, 2CH), 7,43 (1H, m, CH), 7,56 (1H, m, CH), 8,28 (1H, s, CH), 9,50 (1H, s, NH); MS(+ve): 454,3; t _R = 2,67 min (XBridge 4)
75		***		2-(2-(2,2-Dioxo-2,3-dihidro-1H-2lambda*6*-benzo[c]tiofen-5-ilamino)5-metil-9-fenil-5,7,8,9-tetrahidropirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona	¹ H-RMN (DMSO): 2,78 (2H, m, CH2), 3,27 (3H, s, CH3), 4,03 (2H, m, CH2), 4,09 (2H, s, CH2), 4,30 (2H, s, CH2), 6,93 (1H, d, J 8,5 Hz, CH), 7,19 (1H, d, J 8,5 Hz, CH), 7,29 (4H, m, 4CH), 7,46 (2H, m, 2CH), 8,3 (1H, s, CH), 9,49 (1H, s, NH); MS(+ve): 436,3; t _R = 2,66 min (XBridge 4),

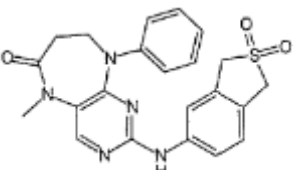
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que se selecciona entre los siguientes:

Comp.	Estructura	Nombre
73		2-(2-(2,2-Dioxo-2,3-dihidro-1H-2lambda*6*-benzo[c]tiofen-5-itamino)9-(2-fluoro-fenil)-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona
75		2-(2-(2,2-Dioxo-2,3-dihidro-1H-2lambda*6*-benzo[c]tiofen-5-ilamino)5-metil-9-fenil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

5 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

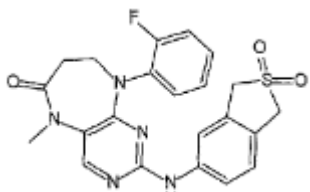
2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es:

Comp.	Estructura	nombre
75		2-(2-(2,2-Dioxo-2,3-dihidro-1H-2lambda*6*-benzo[c]tiofen-5-ilamino)5-metil-9-fenil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

10

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es:

Comp.	Estructura	nombre
73		2-(2-(2,2-Dioxo-2,3-dihidro-1H-2lambda*6*-benzo[c]tiofen-5-itamino)9-(2-fluoro-fenil)-5-metil-5,7,8,9-tetrahidro-pirimido[4,5-b][1,4]diazepin-6-ona

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

15 4. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación anterior premezclado con un diluyente, excipiente o transportador farmacéuticamente aceptable.

5. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno proliferativo.

20

6. Uso de acuerdo con la reivindicación 5 en el que el trastorno proliferativo es cáncer o leucemia.

7. Uso de acuerdo con la reivindicación 5 en el que el trastorno proliferativo es glomerulonefritis, artritis reumatoide, psoriasis o trastorno pulmonar obstructivo crónico.

25

8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en medicina.

9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de un trastorno proliferativo.

30

10. Una combinación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y uno o más principios activos adicionales.

FIGURA 1

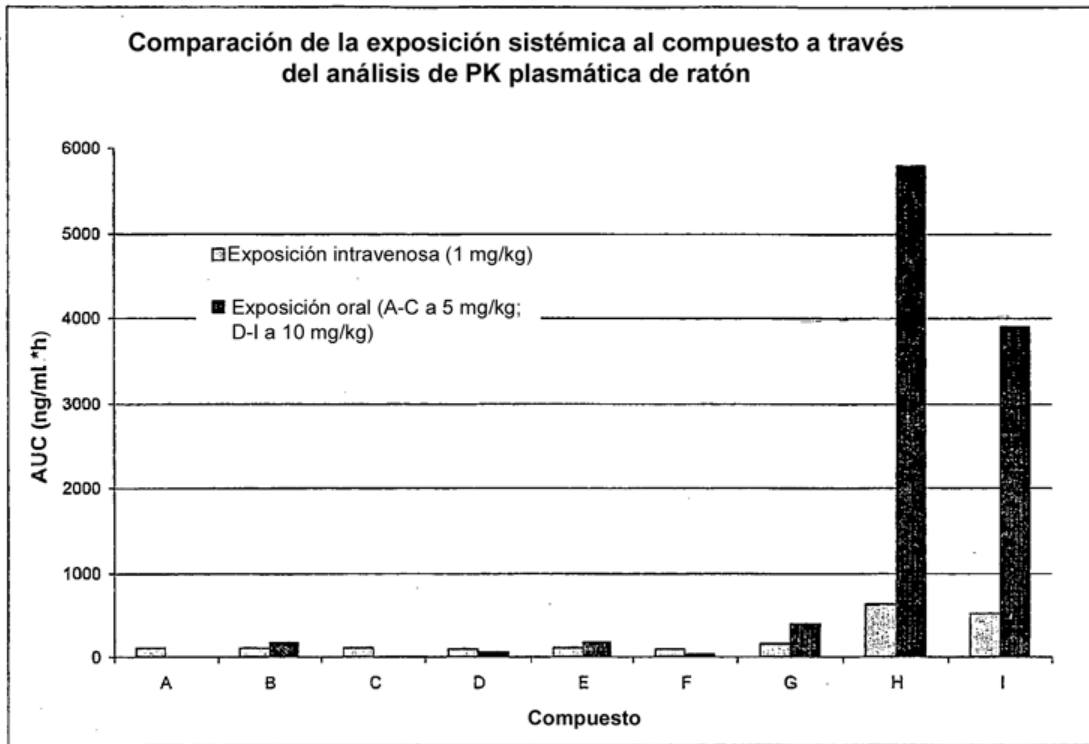


FIGURA 2

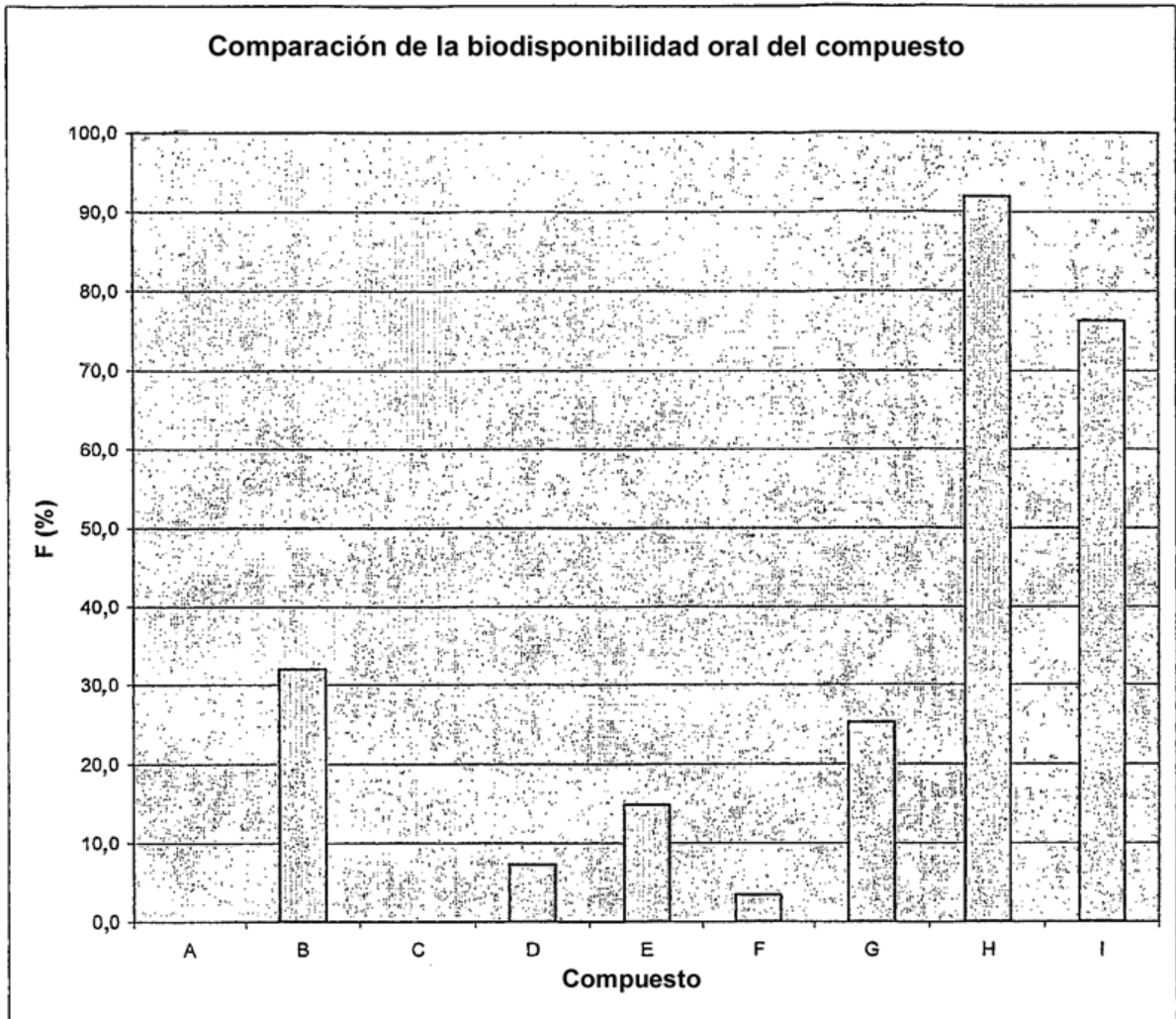


FIGURA 3

