(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 619 585**

(51) Int. Cl.:

C07D 251/22	(2006.01)
C07D 401/04	(2006.01)
C07D 403/12	(2006.01)
C07D 407/04	(2006.01)
A61K 31/53	(2006.01)
A61P 35/00	(2006.01)
A61P 37/00	(2006.01)
C07D 401/12	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.03.2011 PCT/EP2011/001445**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **29.09.2011 WO2011116951**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2011 E 11711039 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016 EP 2550257**

(54) Título: **Derivados de triazina disustituidos farmacéuticamente activos**

(30) Prioridad:

29.03.2010 US 282766 P
22.03.2010 EP 10075131

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.06.2017

(73) Titular/es:

LEAD DISCOVERY CENTER GMBH (50.0%)
Emil-Figge-Strasse 76a
44227 Dortmund, DE y
BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH (50.0%)

(72) Inventor/es:

EICKHOFF, JAN;
NUSSBAUMER, PETER;
RÜHTER, GERD;
SCHULTZ-FADEMRECHT, CARSTEN;
LÜCKING, ULRICH;
CHOIDAS, AXEL y
KLEBL, BERT

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones :

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

ES 2 619 585 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).

Derivados de triazina disustituidos farmacéuticamente activos

Descripción

La presente invención se refiere a derivados de triazina disustituidos y/o los sales farmacéuticamente aceptables de ellos, el uso de estos derivados como agentes farmacéuticamente activos, en especial para la profilaxis y/o el tratamiento de enfermedades celulares proliferativas, enfermedades inflamatorias y inmunológicas, enfermedades cardiovasculares y enfermedades infecciosas. Además la presente invención está dirigida hacia una composición farmaceútica conteniendo al menos uno de los derivados de triazina disustituidos y/o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Se consideran miembros de la familia de quinasas dependiente de ciclina (CDK) que desencadenan el pasaje por el ciclo celular como blancos terapéuticos atractivos, en especial para cáncer. Miembros de la familia CDK que controlan otros procesos tal como la transcripción y el procesamiento del ARN ganaron menos atención hasta ahora, aunque evidencia experimental para su envolvimiento en diferentes procesos patológicos está surgiendo. Como un regulador general de la transcripción CDK9 es un blanco terapéutico para el tratamiento de enfermedades tal como inflamación, replicación de virus tal como VIH, VEB y VHC, cáncer y hipertrofía cardíaca.

CDK9 regula la transcripción vía la fosforilización de ARN polimerasa II al igual que factores regulatorios adicionales, así habilitando una elongación productiva de transcripción. Ciertos subgrupos de genes, en particular genes codificando ARNs o proteínas con un recambio rápido como genes de expresión inmediata temprana de la respuesta inflamatoria, genes activados por NF-KappaB (Brasier 2008, Cell Cycle 7:17, 2661-2666, Hargreaves et al. (2009) Cell 138, 129-145); y genes antiapoptóticos tal como miembros de las familias MCL-1 y Bcl-2 parecen estar particularmente sensibles a la inhibición de CDK9.

Adicionalmente fue reportado que el crecimiento hipertrófico de cardiomiocitas está relacionado con la activación de CDK9. Además virus como el virus de la inmunodeficiencia humana reclutan CDK9 de manera activa a transcriptos nacientes de ARN, facilitando su replicación. La dependencia de la expresión de genes antiapoptóticos sobre la actividad de CDK9 los hace un blanco farmacéuticamente atractivo para varias formas de leucemia tal como la leucemia linfocítica crónica (LCC), leucemia mielógena aguda (LMC) y leucemia linfoblástica aguda, y tumores sólidos como cáncer de próstata, pulmón, colon, mama y páncreas. Además inhibidores de CDK9 fueron activos en modelos de apoplejía (Osuga 2000, PNAS 97 (18): 10254-10259).

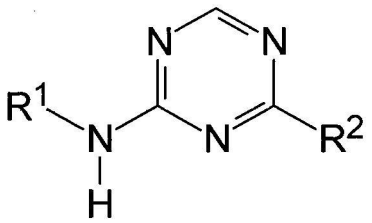
Para artículos de reseña, vea Wang 2009 (Trends in Pharmaceutical Sciences 29:6, 302-313), y Kohoutek, 2009 (Cell Division 2009, 4:19).

Es el objetivo de la presente invención de provisionar compuestos y/o sales farmacéuticamente aceptables de ellos que se pueden usar como agentes farmacéuticamente activos, en especial para la profilaxis y/o el tratamiento de enfermedades celulares proliferativas, enfermedades inflamatorias, enfermedades inmunes, enfermedades cardiovasculares y enfermedades infecciosas, al igual composiciones que comprenden al menos uno de esos compuestos y/o sales farmacéuticamente aceptables de ellos como ingredientes farmacéuticamente activos.

Este objetivo está alcanzado por los compuestos y/o sus sales farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la reivindicación independiente 1, los compuestos de la presente invención para uso como agentes farmacéuticamente activos, el uso de los compuestos de la presente invención para la preparación de una composición farmacéutica para la profilaxis y el tratamiento de enfermedades infecciosas, incluyendo enfermedades oportunistas, enfermedades inmunológicas, enfermedades autoinmunológicas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades celulares proliferativas, inflamación, disfunción eréctil y apoplejía de acuerdo con la reivindicación independiente 7, el uso de compuestos de la presente invención como inhibidores de la proteína quinasa CDK9.

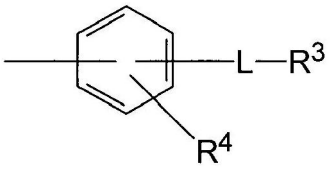
Más características, aspectos y detalles ventajosos de la invención son evidentes de las reivindicaciones dependientes, la descripción, los ejemplos y los dibujos.

Los novedosos compuestos de triazina disustituidos de acuerdo con la presente invención están definidos por la fórmula general (I) en la que



Formula (I)

R^1 representa



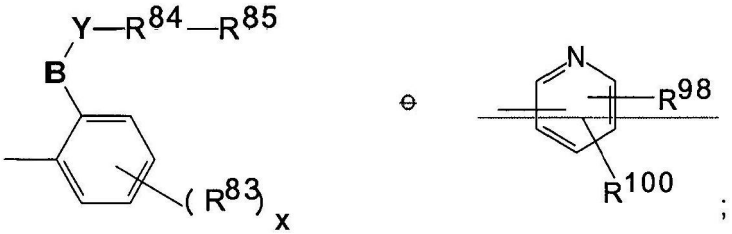
en donde

L es $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, o $-CF_2-$;

R^2 es $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH(CH_3)$, $-SO_2N(CH_3)_2$, $-SO_2NH(CH_2CH_2OCH_3)$, $-NHSO_2CH_3$, $-NHSO_2CH_2CH_3$, $-NHSO_2CH_2CH_2CH_3$, $-NHSO_2CF_3$, $-SO_2CH_3$, $-NHSO_2NH_2$, $-SO(NH)CH_3$;

R^4 es -H, $-CH_3$, -F, -Cl, o $-CF_3$;

R^2 representa



en donde el grupo **$-B-Y-R^{84}-R^{85}$** es $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-OCH_2CH_2CH_3$, $-OCH_2CH_2CH_2CH_3$, $-OCH(CH_3)_2$, -OPh,$-OCH_2Ph$, $-OCH_2$(4-piridilo) ;

R^{83} es -H, -F, o -Cl;

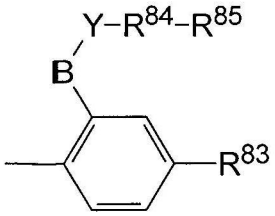
x es 0, 1 ó 2;

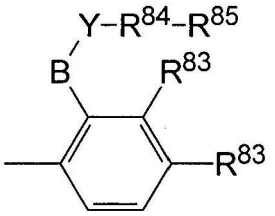
o enantiómeros, formas estereoisoméricas, mezclas de enantiómeros, diaestereómeros, mezclas de diaestereómeros, hidratos, solvatos, formas de sal ácidas, tautómeros, y racematos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

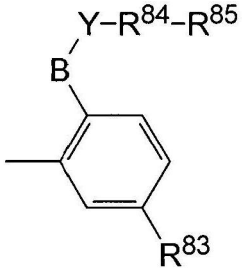
La expresión tautómero se definecomo un compuesto orgánico que es interconvertible por una reacción química llamada tautomerización. Una tautomerización puede ser catalizada preferiblemente por bases o ácidos u otros compuestos apropiados.

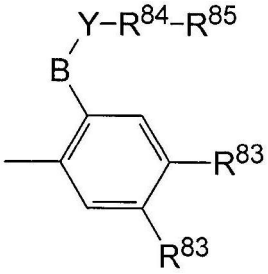
Se prefiere un compuesto de Fórmula (I), en el que
el sustituyente **$-L-R^3$** es $-CH_2SO_2NH_2$, $-CH_2CH_2SO_2NH_2$, $-CF_2SO_2NH_2$, $-CH_2NHSO_2NH_2$, $-SO(NH)CH_3$, $-CH_2SO(NH)CH_3$;
R^4 es -H; y
R^2 es 2-metoxifenil, 4-fluoro-2-metoxifenil, o 6-fluoro-2-metoxifenil.

Se prefieren los siguientes residuos de **R^2**:

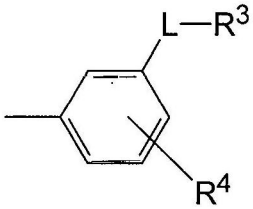


,


,


,


En una realización particularmente preferida la presente invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que **R¹** representa



en el que

el sustituyente -L-R^3 es $-CH_2SO_2NH_2$;
R^4 es -H;
R^2 representa 2-metoxifenil, 4-fluoro-2-metoxifenil o 2-benciloxifenil,

o sus sales, solvatos o sales de solvatos y especialmente la sal clorhídrica o la sal trifluoroacética.

En otra realización particularmente preferida la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula (I) seleccionados de
3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B1),
3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida (C1),
3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B2),
3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B13),
o sus sales, solvatos o sales de solvatos y especialmente la sal clorhídrica o la sal trifluoroacética.

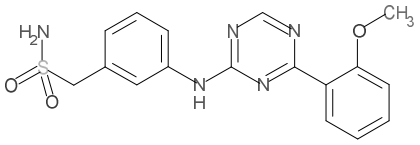
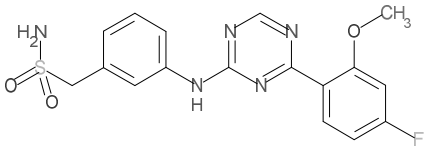
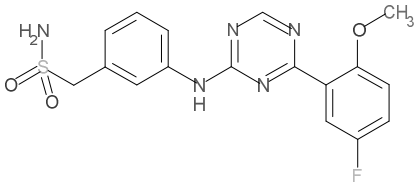
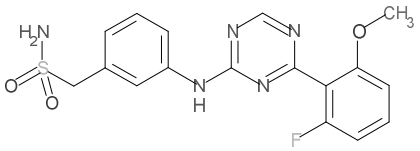
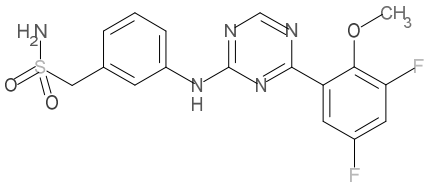
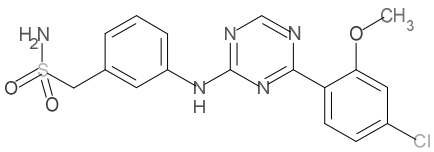
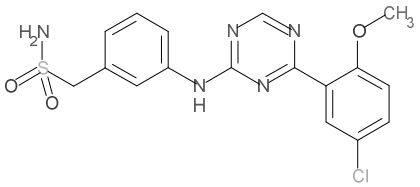
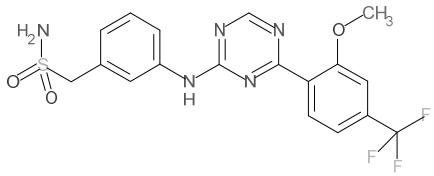
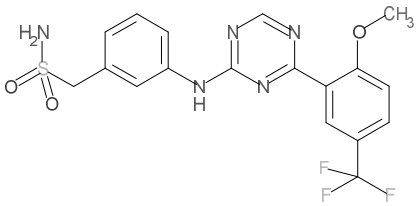
En otra realización particularmente preferida la presente invención se refiere a 3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-bencenometanosulfonamida, o sus sales, solvatos o sales de solvatos y especialmente la sal clorhídrica o la sal trifluoroacética.

En otra realización particularmente preferida la presente invención se refiere a clorhidrato de 1-(3-{[4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida.

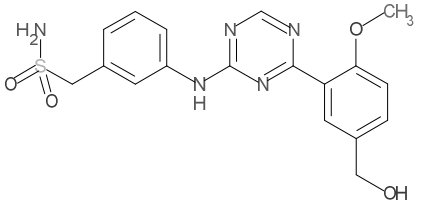
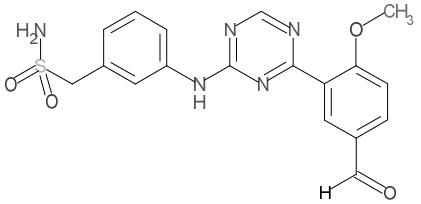
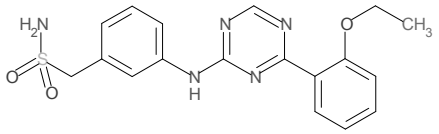
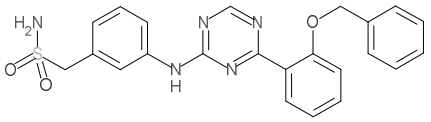
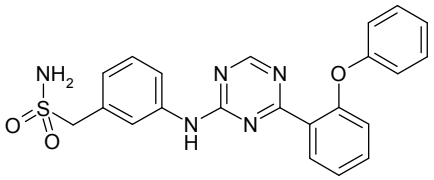
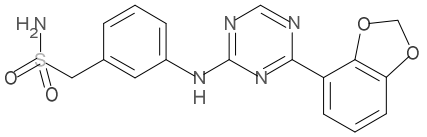
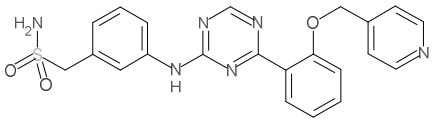
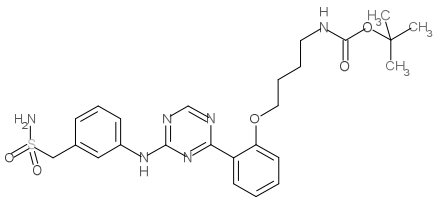
En un aspecto adicional de la presente invención, los compuestos nuevos de acuerdo con la fórmula general (I) representan compuestos quirales. Los compuestos nuevos de acuerdo con la fórmula general (I) representan un racemate , o un S o un enantiómero R o una mezcla de isómeros.

En otra realización preferida de la presente invención, el compuesto de acuerdo con la fórmula general (I) se selecciona del grupo de compuestos representados en la Tabla 1 siguiente:

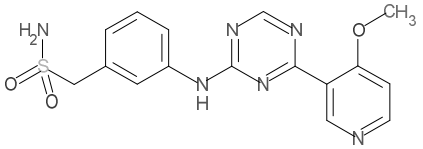
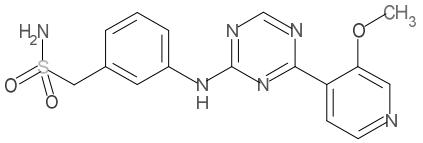
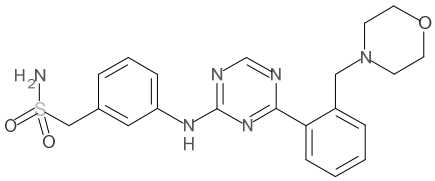
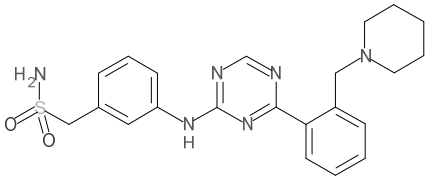
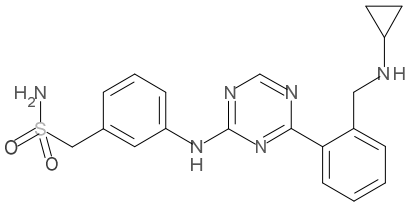
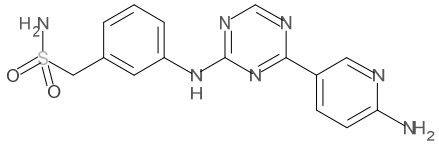
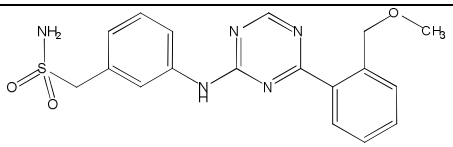
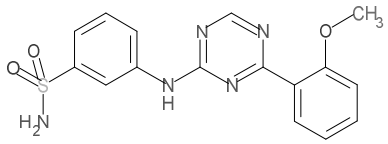
Tabla 1

compuesto No.	estructura	nomenclatura
B1		3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B2		3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B3		3-[(4-(5-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B4		3-[(4-(6-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B5		3-[(4-(3,5-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B6		3-[(4-(4-cloro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B7		3-[(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B8		3-[(4-(2-metoxi-4-trifluorometil-fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B9		3-[(4-(2-metoxi-5-trifluorometil-fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida

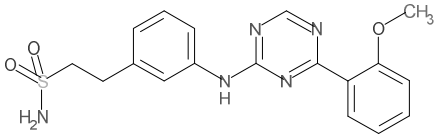
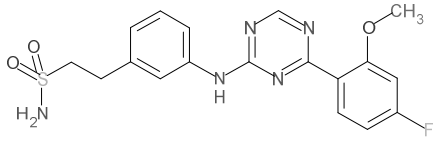
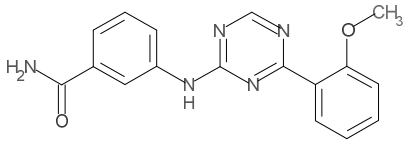
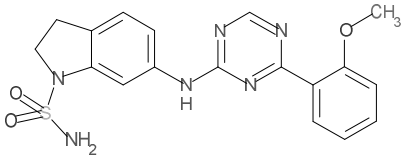
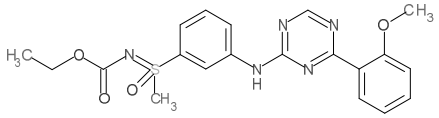
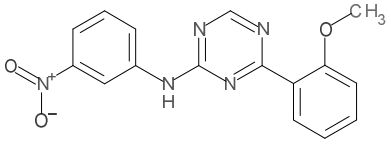
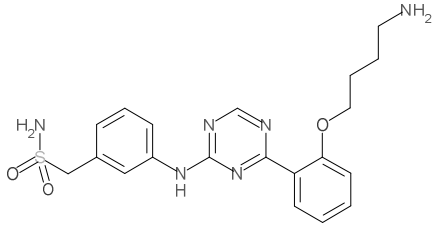
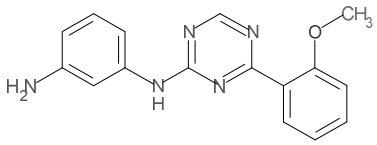
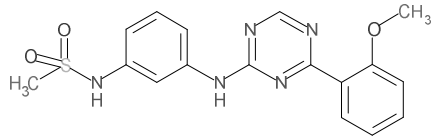
(continuación)

compuesto No.	estructura	nomenclatura
B10		3-[(4-(5-hidroximetil-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B11		3-[(4-(5-formil-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B12		3-[(4-(2-etoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B13		3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B14		1-(3-{[4-(2-fenoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida
B15		3-[(4-(1,3-benzodioxol-4-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B16		3-[(4-(2-((4-piridinil)metoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B17		3-[(4-(2-(4-(tert-butoxicarbonilamino)butoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida

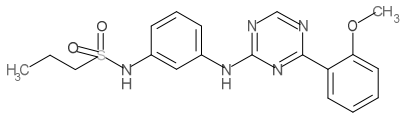
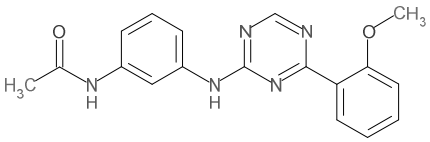
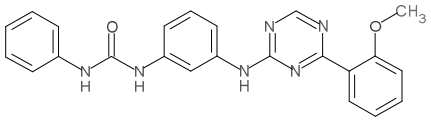
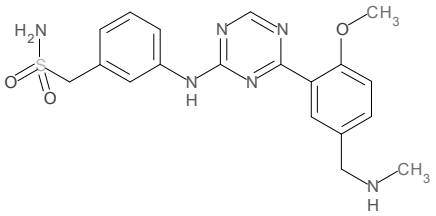
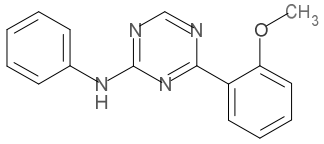
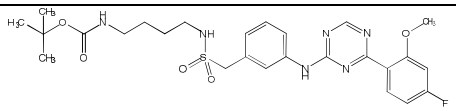
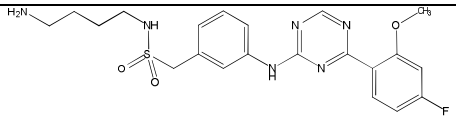
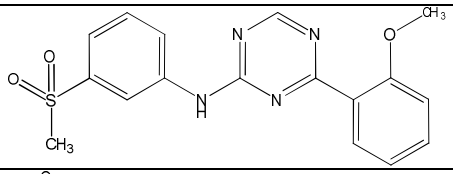
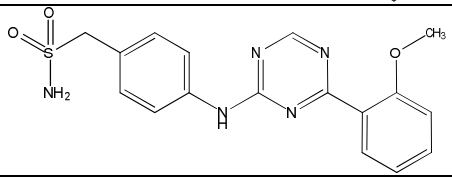
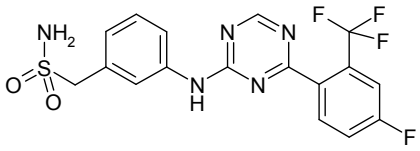
(continuación)

compuesto No.	estructura	nomenclatura
B18		3-[(4-(4-metoxipiridin-3-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B19		3-[(4-(3-metoxipiridin-4-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B20		3-[(4-(2-((morfolin-4-il)metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B21		3-[(4-(2-((piperidin-1-il)metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B22		3-[(4-(2-(ciclopropilamino-metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B23		3-[(4-(6-aminopiridin-3-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B24		3-[(4-(2-(metoximetil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
C1		3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida

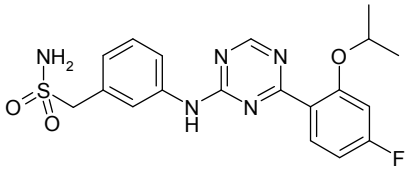
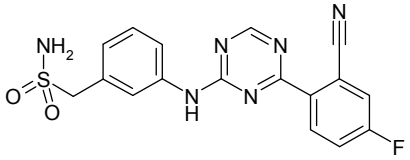
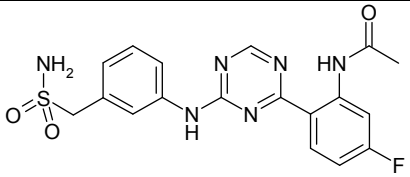
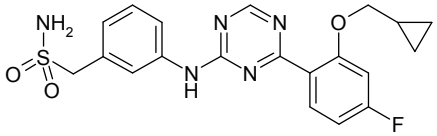
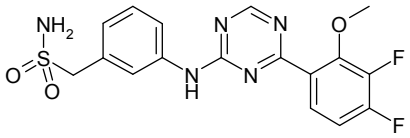
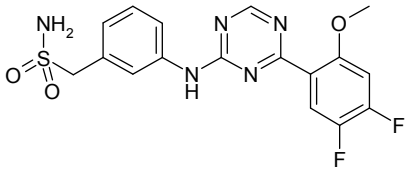
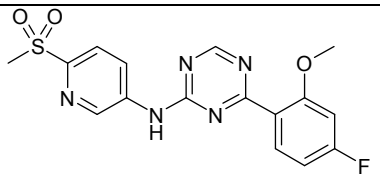
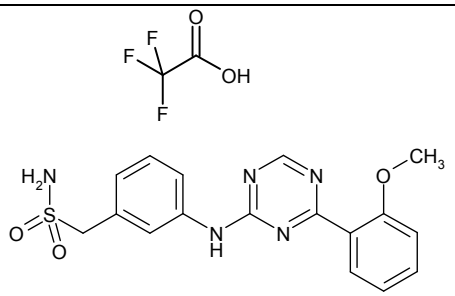
(continuación)

compuesto No.	estructura	nomenclatura
D1		2-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-etansulfonamida
D2		2-[3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-etansulfonamida
E1		3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benzamida
F1		6-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-2,3-dihidro-1H-indol-1-sulfonamida
G1		rac-S-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-N-etoxicarbonil-S-metil-sulfoximida
H1		4-(2-metoxifenil)-N-(3-nitrofenil)-1,3,5-triazin-2-amina
I1		3-[(4-(2-(4-aminobutoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
J1		N-(3-aminofenil)-4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-amina
K1		N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-metansulfonamida

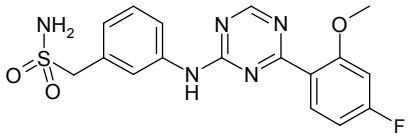
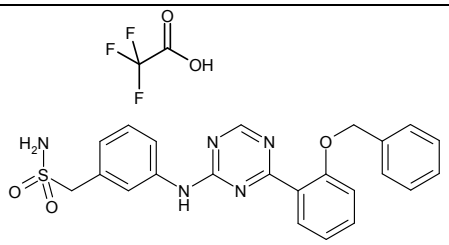
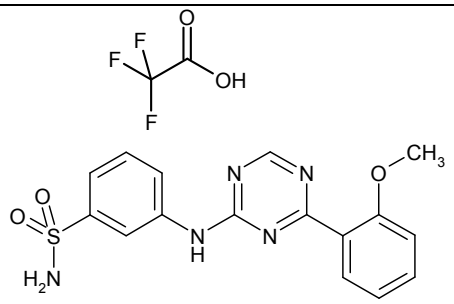
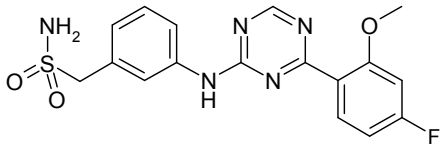
(continuación)

compuesto No.	estructura	nomenclatura
L1		N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-propansulfonamida
M1		N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-acetamida
N1		N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-N'-fenil-urea
O1		3-[(4-(2-metoxi-5-(metilamino-metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]- benceno-metansulfonamida
P1		4-(2-metoxifenil)-N-fenil-1,3,5-triazin-2-amina
Q1		tert-butil-[4-((3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil)metilsulfonamido) butil]-carbamato
R1		N-(4-aminobutil)-1-[3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-metansulfonamida
S1		4-(2-metoxifenil)-N-(3-(metilsulfonil)fenil)-1,3,5-triazin-2-amina
T1		4-[(4-(2-metoxifenyl)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
U1		1-[3-({4-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)fenil]-metansulfonamida

(continuación)

compuesto No.	estructura	nomenclatura
U2		1-[3-({4-[4-fluoro-2-(propan-2-iloxi)fenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)fenil]-metansulfonamida
U3		1-(3-{[4-(2-ciano-4-fluorofenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida
U4		N-[5-fluoro-2-(4-{[3-(sulfanoilmetil)fenil]amino}-1,3,5-triazin-2-il)fenil]-acetamida
U5		1-[3-({4-[2-(ciclopropilmetoxi)-4-fluorofenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)fenil]-metansulfonamida
U6		1-(3-{[4-(3,4-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida
U7		1-(3-{[4-(4,5-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida
U8		4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-N-[6-(metilsulfonil)piridin-3-il]-1,3,5-triazin-2-amina
B1'		trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida

(continuación)

compuesto No.	estructura	nomenclatura
B2'	HCl 	1-(3-{[4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida clorhidrato
B13'		trifluoroacetato de 3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]- benceno-metansulfonamida
C1'		trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida
B2''	CF_3COOH 	trifluoroacetato de 1-(3-{[4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida

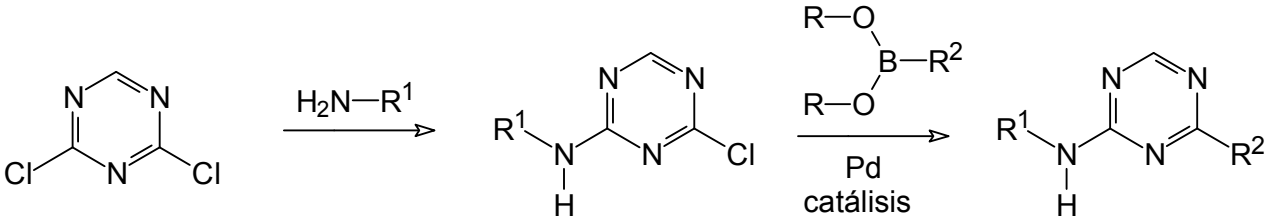
Los compuestos de la presente invención pueden formar sales con ácidos orgánicos y inorgánicos o bases. Ejemplos para ácidos apropiados para una tal formación de sal por adición ácida son ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido salicílico, ácido p-aminosalicílico, ácido málico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido ascórbico, ácido maléico, ácido sulfónico, ácido fosfónico, ácido perclórico, ácido nítrico, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido hidroximaléico, ácido pirúvico, ácido fenilacético, ácido benzoico, ácido p-aminobenzoico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido nitroso, ácido hidroxietansulfónico, ácido etilensulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido naftilsulfónico, ácido sulfanílico, ácido canforsulfónico, ácido quínico, ácido mandélico, ácido o-metilmandélico, hidrato de ácido bencenosulfónico, ácido pícrico, ácido adípico, ácido d-o-toliltartárico, ácido tartrónico, ácido (o, m, p)-tóluico, ácido naftilaminosulfónico, ácido trifluoroacético y otros ácidos minerales o carboxílicos bien conocidos a los expertos en la materia. Los sales se preparan al poner en contacto la forma de base libre con una cantidad suficiente del ácido deseado para producir un sal de manera convencional. Se prefieren los sales mesilatos, clorhídricos y trifluoroacéticos y especialmente se prefieren el sal trifluoroacético y el sal clorhídrico.

En el caso que los compuestos inventivos llevan grupos ácidos los sales pueden ser formados con bases inorgánicas u orgánicas. Ejemplos para bases inorgánicas u orgánicas apropiadas son por ejemplo NaOH, KOH, NH_4OH, hidróxido de tetraalquilamonio, lisina o argenina y similares. Los sales pueden ser preparados de manera convencional usando métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo por tratar una solución de un compuesto de la fórmula general (I) con una solución de un ácido seleccionado desde el grupo mencionado anteriormente.

Sintesis de compuestos

La sintesis de la triazina disustituida de la invención de acuerdo con la presente invención está realizada preferencialmente de acuerdo con las sequencias sintéticas generales, mostradas en los **esquemas 1** a **3**.

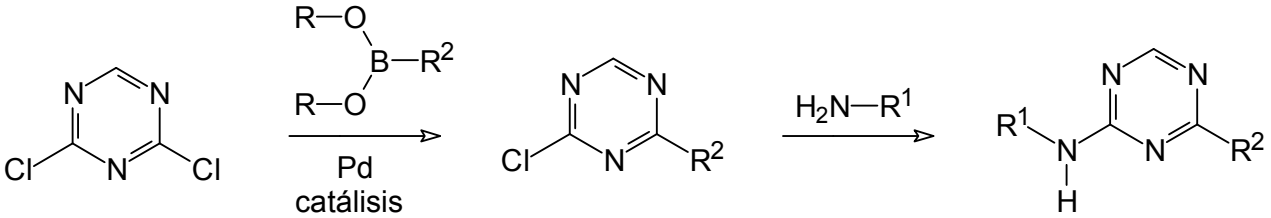
Esquema 1



En un primer paso 2,4-dicloro-1,3,5-triazina reacciona con anilinas R^1NH_2 para dar 2-arilamino-4-cloro-1,3,5-triazinas. La reacción está realizada con un equivalente de la anilina en un solvente inerte como DMF, THF, DME, dioxano o un alcohol como isopropanol, o mezclas de tales solventes. Preferibilmente la reacción se realiza en una temperatura debajo de la temperatura ambiental de tal manera que la mezcla reactiva está mantenida homogénica. Condiciones preferidas usan una base adicional como trietilamina o N,N-diisopropiletilamina.

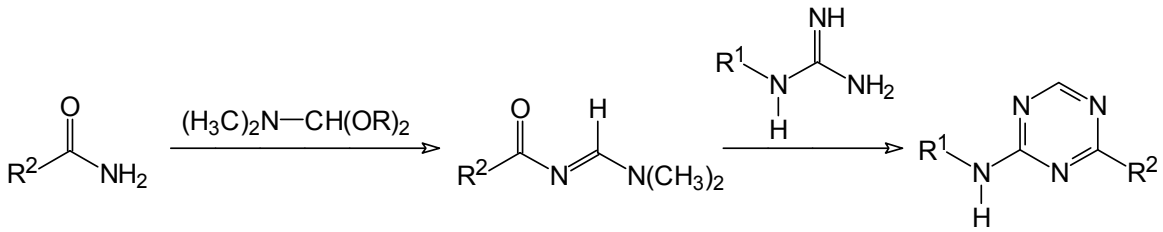
En un segundo paso el intermediario 2-arilamino-4-cloro-1,3,5-triazina reacciona con el derivado de ácido borónico R^2-$B(OR)_2$ para dar compuestos de la fórmula (I). El derivado de ácido borónico puede ser un ácido borónico (R = –H) o un éster del ácido borónico, p.ej. su éster isopropílico (R = $–CH(CH_3)_2$), preferencialmente un éster derivado de pinacol en el que el intermediario de ácido borónico forma un 2-aril-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (R-R = $–C(CH_3)_2$-$C(CH_3)_2$–). Los dos R representan independienemente uno del otro preferibilmente hidrógeno o una cadena alquílica de 1-10 átomos de carbono o una cadena cicloalquílica de 3 a 12 átomos de carbono o los dos residuos R representan juntos un residuo derivado de pinacol. La reacción de acoplamiento está catalizada por catalizadores Pd, p.ej. por catalizadores pd(0) como paladio de los tetrakis (trifenilfosfina) $[Pd(PPh_3)_4]$, tris(dibencilideno-acetona)dipaladio(0) $[Pd_2(dba)_3]$, o por catalizadores Pd(II) como paladio-dicloro-bis(trifenilfosfina) $[Pd(PPh_3)_2Cl_2]$, acetato del paladio(II) y trifenilfosfina o más preferidamente del [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocen] dilcloropaladio. La reacción es preferencialmente realizada en una mezcla de un solvente como dioxano, DMF, DME, THF o isopropanol con agua y en la presencia de una base como bicarbonato sódico acuoso o K_3PO_4.

Esquema 2



La síntesis de 1,3,5-triazinas de la fórmula (I) empezando con 2,4-dicloro-1,3,5-triazina puede ser realizada en orden inverso de los pasos de reacción del esquema 1, de tal manera que en un primer paso la reacción de la triazina con un derivado de ácido borónico está seguida en un segundo paso por la reacción del intermediario de triazina con un anilina. Condiciones preferidas para la reacción de acoplamiento del primer paso son calentar los agentes reactivos en tolueno con paladio-dicloro-bis(trifenilfosfina) $[Pd(PPh_3)_2Cl_2]$ como catalizador en la presencia de sodio o potasio carbonato como base.

Esquema 3



Compuestos de la formula (I) pueden ser preparados por la metodología descrita en J. Org. Chem. 60 (1995), 8428-8430. Amidas primarias R^2–$CONH_2$ son calentadas con acetales y preferibilmente acetales dialquílicos de N,N-dimetilformamida, preferidamente con su aceral dimetílico o dietílico, en particular con el acetal dimétilico (R = $–CH_3$). El intermediario N-acil-formamidina no es aislado y en seguida convertido en 1,3,5-triazinas de la fórmula (I) por calentar con una guanidina R^1–NH–C(NH)NH_2. Preferencialmente la reacción está realizada por calentar los agentes reactivos en dioxano en la presencia de una base como tert-butóxido de potasio.

Varios compuestos de la fórmula (I) pueden ser preparados por conversión de los sustituyentes que están ligados a los anillos aromáticos R^1 y/o R^2 a otros sustituyentes usando reacciones estándares conocidos a los expertos en la materia. Por ejemplo, un grupo nitro puede ser reducido a un grupo amino, tal grupo amino puede ser convertido en una sulfonamida por una reacción con un cloruro sulfonílico, a un carboxamida por reacción con un cloruro carbonílico u otro derivado activado de un ácido carboxílico, a un urea por reacción con un isocianato. Sustituyentes de carbamato pueden ser disociados a grupos amino, en particular carbamatos tert-butílicos por reacción con ácidos como ácido trifluoroacético o ácido clorhídrico. Grupos formílicos pueden ser convertidos en grupos aminometílicos por reacción con aminas primarias bajo condiciones de una aminación reductiva.

Métodos de Uso

En otro aspecto de la presente invención los compuestos novedosos de acuerdo con la fórmula general (I) son usados como agente farmacéuticamente activo.

En una realización, la presente invención está dirigida a los compuestos de fórmula general (I9 para su uso en la profilaxis y/o tratamiento de enfermedades infecciosas incluyendo enfermedades oportunistas, enfermedades inmunológicas, enfermedades autoinmunes, enfermedades cardiovasculares, enfermedades celulares proliferativas, inflamación, disfunción eréctil y apoplejía.

Los compuestos de la presente invención pueden ser usados para inhibir la actividad o la expresión de CDK9. Por ende, se espera que los compuestos de la fórmula (I) son valiosos como agentes terapéuticos. De acuerdo, la presente invención provisiona en otra realización un método de tratar enfermedades relacionadas a o mediatizadas por la actividad de CDK9 en un paciente que necesita un tal tratamiento, comprendiendo la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula (I) como definido anteriormente a un paciente. En ciertas realizaciones las enfermedades relacionadas a la actividad de CDK9 son enfermedades celulares proliferativas, en particular cáncer.

El término “tratar” o “tratamiento” como usado através de este documento es usado de manera convencional, p.ej. la gestión o la atención a un sujeto con el fin de combatir, mitigar, reducir, aliviar, mejorar la condición de una enfermedad o de un disturbio, tal como un carcinoma.

El término “sujeto” o “paciente” incluye organismos capaces de sufrir de una enfermedad celular proliferativa o de una enfermedad asociada con una muerte celular programada (apoptosis) reducida o insuficiente, o que puedan beneficiar de otra manera de la administración de un compuesto de la invención, tal como humanos o animales no humanos. Humanos preferidos incluyen pacientes humanos que sufren de o están destinados a sufrir de una enfermedad celular proliferativa o de un estado asociado, como descrito aquí. El término “animales no humanos” incluye vertebrados, p.ej. mamíferos tales como primates no humanos, oveja, vaca, perro, gato y rodentes, p.ej. ratones, y no mamíferos, tales como gallinas, anfibios, reptiles etc.

El término “enfermedades relacionadas a o mediatizadas por CDK9” debe incluir enfermedades asociadas con o envolviendo la actividad de CDK9, por ejemplo la hiperactividad de CDK9, y condiciones que acompañan estas enfermedades. Ejemplos de “enfermedades relacionadas con o mediatizadas por CDK9” incluyen enfermedades que resultan de una actividad aumentada de CDK9 a causa de mutaciones en genes que regulan la actividad de CDK9 tal como LARP7, HEXIM1/2 o 7sk snRNA, o enfermedades que resultan de una actividad aumentada de CDK9 a causa de una activación del complejo CDK9/ciclina T/ARN polimerasa II por proteínas virales tal como HIV-TAT o HTLV-TAX o enfermedades que resultan de una actividad aumentada de CDK9 a causa de una activación de una ruta de señales mitogénicas.

El término “hiperactividad de CDK9” se refiere a una actividad enzimática aumentada de CDK9 en comparación con células normales no enfermas, o se refiere a una actividad aumentada de CDK9 que lleva a una proliferación celular no deseada, o a una muerte celular programada (apoptosis) reducida o insuficiente, o a mutaciones que llevan a una activación constitutiva de CDK9.

El término “enfermedades celulares proliferativas” incluye enfermedades que envuelven la proliferación no deseada o incontrolada de una célula y incluye enfermedades que envuelven una muerte celular programada (apoptosis) reducida o insuficiente. Los compuestos de la presente invención pueden ser utilizadas para prevenir, inhibir, bloquear, reducir, diminuir, controlar etc. la proliferación celular y/o la división celular, y/o a producir apoptosis. Este método comprende la administración a un sujeto en necesidad de esto, incluyendo un mamífero, incluyendo un humano, de una cantidad de un compuesto de esta invención, o de un sal farmacéuticamente

aceptable, isómero, polimorfo, metabolita, hidrato o solvato de ello que es efectivo para tratar o prevenir esta enfermedad.

Enfermedades infecciosas incluyendo infecciones oportunistas

El término "enfermedades infecciosas" comprende infecciones causadas por virus, bacterias, priones, hongos y/o parásitos.

Especialmente se dirige a enfermedades infecciosas inducidas por virus, incluyendo enfermedades oportunistas. En una realización preferida de este aspecto las enfermedades infecciosas inducidas por virus, incluyendo enfermedades oportunistas, están causadas por retrovirus, retrovirus endógenos humanos (HERVs), hepadnavirus, herpesvirus, flaviviridae y/o adenovirus. Preferencialmente los retrovirus están seleccionados de lentivirus u oncoretrovirus, en que el lentivirus está seleccionado preferencialmente del grupo que comprende: VIH-1, VIH-2, virus de la inmunodeficiencia felina (FIV), virus de la inmunodeficiencia bovina (BIV), virus de la inmunodeficiencia simiana (SIV), quimeras de VIH y VSI (VSHI), virus de la artritis encéfalitis caprina (CAEV), virus Maedi Visna (VMV) o virus de la anemia infecciosa equina (EIAV), preferencialmente VIH-1 y VIH-2, y el oncoretrovirus está prefencialmente seleccionado de HTLV-I, HTLV-II o virus de la leucemia bovina (BLV), prefencialmente HTLV-I y HTLV-II.

El hepadnavirus está prefencialmente seleccionado de VHB, virus de la hepatitis de la ardilla (GSHV) o virus de la hepatitis de la marmota (WHV), prefencialmente VHB, el herpesvirus está seleccionado del grupo que comprende: virus del herpes simplex tipo I (HSV-1), virus del herpes simplex tipo II (HSV-II), virus de Epstein-Barr (VEB), virus varicela-zoster (VVZ), citomegalovirus humano (CMVH) o herpesvirus humano 8 (HVH-8), preferencialmente CMVH, y los flaviviridae están seleccionados de VHC, virus del Nilo occidental o virus de la fiebre amarilla.

Se entiende que todos los virus mencionados anteriormente comprenden también cepas víricas resistentes a los mecicamentos.

Ejemplos para enfermedades infecciosas son SIDA, enfermedad alveolar de la hidátide (AHD, echinococcosis), amibiasis (infección por Entamoeba histolytica), infección por Angiostrongylus, anisakiasis, ántrax, babesiosis (infección por Babesia), infección por Balantidium (balantidiasis), infección por Baylisascaris (nematelminto del mapache), bilharzia (esquistosomiasis), infección por Blastocystis hominis (blastomicosis), borreliosis, botulismo, diarrea de Brainerd, brucelosis, EEB (encefalopatía espongiforme bovina), candidiasis, capillariasis (infección por Capillaria), SFC (síndrome de fatiga crónica), enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana), varicela (virus varicela-zoster), infección por Chlamydia pneumoniae, cólera, ECJ (enfermedad de Creutzfeldt-Jakob), clonorquiasis (infección por Clonorchis), LMC (Larva migrans cutáneo (infección por anquilostoma), coccidioidomicosis, conjuntivitis, coxsackievirus A 16 (enfermedad de "la mano, el pie y la boca"), criptococosis, infección por Cryptosporidium (criptosporidiosis), Culex mosquito (vector del virus del Nilo occidental), ciclosporiasis (infección por Ciclospora), cisticercosis (neurocisticercosis), infección por Cytomegalovirus, dengue / fiebre del dengue, infección por Dipylidium (tenia de perro y gato), fiebre hemorrágica viral del Ébola, echinococcosis (enfermedad alveolar de la hidátide), encefalitis, infección por Entamoeba coli, infección por Entamoeba dispar, infección por Entamoeba hartmanni, infección por Entamoeba histolytica (amibiasis), infección por Entamoeba polecki, enterobiasis (infección de oxiuros), infección por Enterovirus (Non-Polio), infeccción por virus de Epstein-Barr, infeccción por Escherichia coli, infección de origen alimentario, glosopeda, dermatitis fungal, gastroenteritis, enfermedad estreptocócica del grupo A, enfermedad estreptocócica del grupo B, enfermedad de Hansen (lepra), síndrome pulmonar por hantavirus, infestación de piojos de la cabeza (pediculosis), infeccción por Helicobacter pylori, enfermedad hematológica, infección por el virus Hendra, hepatitis (VHC, VHB), Herpes Zoster (culebrilla), infección por VHI, ehrliquiosis humana, infección por virus parainfluenza humano, influenza, isosporiasis (infección por Isospora), fiebre de Lassa, leishmaniasis, kala azar (kala azar, infección por Leishmania), lepra, piojos (piojos del cuerpo, de la cabeza, púbicos), enfermedad de Lyme, malaria, fiebre hemorrágica de Marburgo, sarampión, meningitis, enfermedades de origen en mosquitos, infección por el complejo de Mycobacterium avium (MAC), infección por Naegleria, infecciones nosocomiales, infección intestinal no patógena por amebas, oncocercosis (ceguera del río), opistorquiasis (infección por Opisthorcis), infección por Parvovirus, peste, NNC (neumonía por Pneumocystis carinii), polio, fiebre Q, rabia, infección por Virus sincitial respiratorio (VSR), fiebre reumática, fiebre de Rift Valley, infección por Rotavirus, infección por nematodas, salmonelosis, Salmonella enteritidis, sarna, shigelosis, herpes, enfermedad del sueño, viruela, infección por estreptococo, infección por tenias (infección por Taenia), tétano, síndrome del shock tóxico, tuberculosis, úlceras (enfermedad de la úlcera péptica), fiebre del Valle, infección por Vibrio parahaemolyticus, infección por Vibrio vulnificus, fiebre hemorrágica viral, verrugas, enfermedades infecciosas transmitidas por el agua, infección por virus del Nilo occidental (encefalitis del Nilo occidental), tos ferina, fiebre amarilla.

Enfermedades inmunológicas

Enfermedades inmunológicas son, por ejemplo, asma y diabetes, enfermedades reumáticas y autoinmunes, SIDA, rechazo de órganos y tejidos trasplantados (vea abajo), rinitis, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, osteoporosis, colitis ulcerosa, sinusitis, lupus eritematoso, infeccciones recurrentes, dermatitis atópica / eccema, y alergias ocupacionales, alergias alimentarias, alergias a medicamentos, reacciones anafilácticas severas, anafilaxis y otras manifestaciones de enfermedades alérgicas, al igual de problemas no comunes tal como inmunodeficiencias primarias, incluyendo estados de deficiencia de anticuerpos, inmunodeficiencias mediadas por células (p.ej. inmunodeficiencia combinada severa, síndrome de DiGeorge, síndrome de hiper IgE, síndrome de Wiskott-Aldrich, ataxia-telangiectasia), cánceres inmunomediadas y defectos de glóbulos blancos.

En enfermedades autoinmunes, tal como lupus eritematoso, artritis reumatoide (AR), esclerosis múltiple (EM), diabetes mellitus inmunomediada o del tipo 1, glomerulonefritis inmunomediada, esclerodermia, anemia perniciosa, alopecia, pénfigo, pénfigo vulgar, miastenia gravis, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedad de Crohn, psoriasis, enfermedades autoinmunes de la tiroides y enfermedad de Hashimoto, dermatomiositis, síndrome de Goodpasture, miastenia gravis pseudoparalítica, oftalmia simpática, uveítis facógena, hepatitis crónica agresiva, cirrosis biliar primaria, anemia hemolítica autoinmune, enfermedad de Werlhof. Células específicas atacan de manera incontrolada los proprios tejidos y órganos del cuerpo (autoinmunidad), produciendo reacciones inflamatorias y otros síntomas serios y enfermedades.

La tiroiditis de Hashimoto es una de las enfermedades autoinmunes más frecuentes. “Enfermedades autoinmunes” se refiere a una categoría de más de 80 enfermedades crónicas, cada una de natura muy diferente, que pueden afectar todo desde las glándulas endocrinas (como la tiroides) a órganos como riñones, al igual que el sistema digestivo.

Hay muchas enfermedades autoinmunes diferentes, y cada una de ellas puede afectar el cuerpo de maneras diferentes. Por ejemplo la reacción autoimmune está dirigida contra el cerebro en la esclorosis múltiple y contra los intestinos en la enfermedad de Crohn. En otras enfermedades autoinmunes tal como el lupus eritematoso (lupus) los tejidos y órganos afectados pueden variar entre los individuos con la misma enfermedad. Una persona con lupus puede tener la piel y las articulaciones afectadas mientras otra puede tener el piel, la riñón y los pulmones afectados. Finalmente, el daño a ciertos tejidos puede ser permanente, como con la destrucción de las células pancreáticas que producen insulina en la diabetes mellitus del tipo 1.

Enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares son, por ejemplo, hipertrofia cardíaca, cardiopatía congénita en el adulto, aneurisma, angina estable, angina inestable, angina de pecho, edema angioneurótico, estenosis de la válvula aórtica, aneurisma aórtico, aritmia, displasia aritmogénica del ventrículo derecho, arteriosclerosis, malformaciones arteriovenosas, fibrilación atrial, síndrome de Behçet, bradicardía, tamponada cardíaca, cardiomegalía, cardiomiopatía congestiva, cardiomiopatía hipertrófica, cardiomiopatía restrictiva, prevención de enfermedades cardiovasculares, estenosis carotídea, hemorragia cerebral, síndrome de Churg-Strauss, diabetes, anomalía de Ebstein, complejo de Eisenmenger, embolismo por colesterol, endocarditis bacteriana, displasia fibromuscular, defectos cardíacos congénitas, enfermedades cardíacas, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedades de las válvulas cardíacas, ataque cardíaco, hematoma epidural, hematoma subdural, enfermedad de Hippel-Lindau, hiperemia, hipertensión, hipertensión pulmonar, crecimiento hipertrófico, hipertrofía del ventrículo izquierdo, hipertrofía del ventrículo derecho, síndrome del corazón derecho hipoplástico, hipotensión, claudicación intermitente, cardiopatía isquemática, síndrome de Klippel-Trenaunay-Weber, síndrome medular lateral, síndrome de QT largo, prolapso de la válvula mitral, enfermedad de Moya Moya, síndrome del nódulo linfático mucocutanéo, infarte miocardíaco, isquemia miocardíaca, myocarditis, pericarditis, enfermedades vasculares periféricas, phlebitis, poliarteritis nodosa, atresia pulmonar, enfermedad de Raynaud, restenosis, síndrome de Sneddon, estenosis, síndrome de la vena cava superior, síndrome X, taquicardia, arteritis de Takayasu, telangiectasia hemorrágica hereditaria, telangiectasia, arteritis temporal, tetralogía de Fallot, tromboangiitis obliterans, trombosis, tromboembolismo, atresia tricúspida, venas varicosas, enfermedades vasculares, vasculitis, vasospasmo, fibrilación ventricular, síndrome de Williams, enfermedad vascular periférica, úlceras de las piernas, trombosis venosa profunda, síndrome de Wolff-Parkinson-White.

Se prefieren hipertrofía cardíaca, cardiopatía congénita en el adulto, aneurismas, angina, angina de pecho, aritmias, prevención de enfermedades cardiovasculares, cardiomiopatías, insuficiencia cardíaca congestiva, infarte miocardíaco, hipertensión pulmonar, crecimiento hipertrófico, restenosis, estenosis, trombosis y arteriosclerosis.

Enfermedades proliferativas

En todavía otra realización la enfermedad celular proliferativa se selecciona del grupo que comprende:

adenocarcinoma, melanoma de coroides, leucemia aguda, neurinoma del acústico, carcinoma ampular, carcinoma anal, astrocitoma, carcinoma de células basales, cáncer de páncreas, tumor desmoide, cáncer de vejiga, carcinoma bronquial, cáncer de mama, linfoma de Burkitt, cáncer de cuerpo, síndrome CUP (carcinoma de origen primario desconocido), cáncer colorectal, cáncer intestinales pequeños, tumores

intestinales pequeños, cáncer del ovario, carcinoma de endometrio, ependimoma, tipos de cáncer epitelial, tumores de Ewing, tumores gastrointestinales, cáncer gástrico, carcinomas de la vesícula biliar, cáncer de útero, cancer de cervix, glioblastomas, tumores ginecológicos, tumores de los oídos, la nariz y la garganta, neoplasias hematológicas, leucemia hematológica de células pilosas, cáncer de uretra, cáncer de piel, cáncer de piel de los testículos, tumores cerebrales (gliomas), metastasis cerebrales, cáncer testicular, tumor de hipófisis, carcinoides, sarcoma de Kaposi, cáncer de laringe, tumor de células germinales, cáncer de hueso, carcinoma colorectal, tumores de cabeza y cuello (tumores del area del oído, de la nariz y de la garganta), carcinoma de colon, craniofaringiomas, cáncer oral (cáncer en el área de la boca y sobre los labios), cáncer del sistema nervioso central, cáncer de hígado, metastases de higado, leucemia, tumor de párpado, tumor de pulmón, cáncer de los nódulos linfáticos (linfomas de Hodgkin, no Hodgkin), linfomas, cáncer de estómago, melanoma maligno, neoplasia maligna, tumores malignos del tracto gastrointestinal, carcinoma de mama, cáncer rectal, meduloblastomas, melanoma, meningiomas, enfermedad de Hodgkin, micosis fungoide, cáncer de la nariz, neurinoma, neuroblastoma, cancer de riñón, carcinomas de células renales, oligodendroglioma, carcinoma de esófago, carcinomas osteolíticas y carcinomas osteoplásticas, osteosarcomas, carcinoma de ovario, carcinoma de páncreas, cáncer de pene, plasmocitoma, cáncer de próstata, cáncer de faringe, carcinoma rectal, retinoblastoma, cáncer de vagina, carcinoma de tiroides, enfermedad de Schneeberg, cáncer de esófago, espinaliomas, linfoma de células T (micosis fungoide), timoma, carcinoma de tubo, tumores del ojo, cáncer de úretra, tumores urológicos, carcinoma urotelial, cáncer de vulva, apariencia de verruga, tumores de tejido blando, sarcoma de tejido blando, tumor de Wilms, carcinoma de cervix, cáncer de lengua, carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, carcinoma ductal *in situ*, carcinoma lobular *in situ*, carcinoma pulmonar de células pequeñas, carcinoma pulmonar de células no pequeñas, adenoma bronquial, blastoma pleuropulmonar, mesotelioma, glioma de tronco del encéfalo, glioma hipotalámico, astrocitoma cerebelar, astrocitoma cerebral, tumores neuroectodermales, tumores pineales, sarcoma de útero, cánceres de las glándulas salivales, adenocarcinomas de las glándulas anales, tumores de mastocitos, tumores de pelvis, tumores de úretra, cánceres renales papilares hereditarios, cánceres renales papilares esporádicos, melanoma intraocular, carcinoma hepatocelular (carcinomas de células del higado con o sin la variante fibrolamelar), colangiocarcinoma (carcinoma de conducto biliar intrahepático), colangiocarcinoma hepatocelular mixto, carcinoma de células escamosas, melanoma maligno, cáncer de células de Merkel, cáncer de piel no melanoma, cáncer de hipofaringe, cáncer de nasofaringe, cáncer de orofaringe, cáncer de la cavidad bucal, cáncer de células escamosas, melanoma oral, linfoma relacionado con SIDA, linfoma cutáneo de células T, limfoma del sistema nervioso central, histiocitoma fibroso maligno, linfosarcoma, rabdomiosarcoma, histiocitosis maligna, fibrosarcoma, hemangiosarcoma, hemangiopericitoma, leiomiosarcoma, carcinoma de mama en caninos y carcinoma de mama en felinos.

Se prefieren los siguientes tipos de cáncer: leucemias incluyendo pero no limitado a leucemia linfocítica crónica, leucemia mielogénica crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia de linaje mixto, cáncer de vejiga, cáncer de mama, carcinoma de mama, cáncer del sistema nervioso central, carcinoma de colon, cáncer gástrico, cáncer de pulmón, cáncer de riñón, melanoma, tumores de cabeza y cuello (tumores del oído, la nariz y de la garganta), cáncer de ovario, carcinoma de ovario, cáncer de cervix, carcinoma de cervix, glioblastomas, cáncer de páncreas, carcinoma de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer de piel, cáncer de piel de los testículos, linfoma de Hogdkin, cáncer de higado, metastasis de hígado y carcinomas de células renales.

Inflamación

La inflamación está mediada preferencialmente por las citoquinas TNF-α, IL-1ß, GM-CSF, IL-6 y/o IL-8.

Como descrito anteriormente los compuestos de acuerdo con la formula general (I) son agentes farmaceuticamente activos por la profilaxis y/o el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Por ende se usan estos compuestos para la fabricación de una formulación farmacéutica para la profilaxis y/o el tratamiento de inflamaciones y enfermedades inflamatorias en mamíferos, incluyendo humanos.

Enfermedades inflamatorias pueden emanar de condiciones inflamatorias infecciosas y no infecciosas que pueden resultar de una infección por un organismo invasivo o de causas irritativas, traumáticas, metabológicas, alérgicas, autoinmunes o idiopáticas, como mostrado en la lista siguiente.

I. infecciones agudas

A. viral B. bacteriana

II. causas no infecciosas

III. enfermedades crónicas (granulomatosas)

A. bacteriana B. espiroquetal

C. micótico (fungal) D. idiopático

IV. enfermedades alérgicas, inmunes y idiopáticas

A. reacciones de hipersensitividad
B. enfermedades inmunes y idiopáticos

V. condiciones inflamatorias misceláneas

A. infecciones por parásita
B. causas de inhalación:

- lesion aguda (termal)
- polución y alergia inhalativa
- carcinógenos

C. lesion por radiación:

- radionecrosis

Las inflamaciones o enfermedades inflamatorias pueden ser provocadas por organismos invasivos tal como virus, bacterias, priones y parásitos y por causas irritativas, traumáticas, metabólicas, alérgicas, autoinmunes o idiopáticas.

Las siguientes bacterias están conocidas de causar enfermedades inflamatorias: mycoplasma pulmonis (causa p.ej. enfermedades pulmonares crónicas (EPC), enfermedad murina respiratoria crónica), ureaplasma urealyticum (causa neumonía en recién nacidos), mycoplasma pneumoniae y chlamydia pneumoniae (causa asma crónico), C. pneumoniae (causa arteriosclerosis, faringitis a neumonía con empiema, enfermedad cardíaca coronaria humana), helicobacter pylori (causa enfermedad cardíaca coronaria humana, úlceras de estómago).

Los siguientes virus son conocidos por causar enfermedades inflamatorias: herpesvirus, en particular cytomegalovirus (causa enfermedad cardíaca coronaria humana).
las enfermedades inflamatorias también incluyen el sistema nervioso central (SNC), enfermedades inflamatorias reumáticas, enfermedades inflamatorias vasculares, enfermedades inflamatorias del oído medio, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedades inflamatorias de la piel, enfermedades inflamatorias de uveítis, enfermedades inflamatorias de la laringe.

Ejemplos por enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central (SNC) son enfermedades álgicas, proteotecosis, enfermedades bacterianas, formación de abscesos, meningitis bacterial, enfermedades inflamatorias idiopáticas, meningoencefalitis eosinofílica, polioencefalomielitis en felinos, meningoencefalomielitis granulomatosa, meningitis, meningitis/arteritis responsiva a esteroides, meningitis / meningoencefalitis miscelánea, meningoencefalitis en galgos, encefalitis necrotizante, meningoencefalomielitis piogranulomatosa, cerebelitis idiopática en caninos, enfermedades micóticas del SNC, encefalomielitis parasítica, enfermedades inducidas por priones, encefalopatía espongiforme felina, encefalitis/encefalomielitis protozoal, toxoplasmosis, neosporosis, sarcocistosis, encefalitozoonosis, tripanosomiasis, acantamebiasis, babesiosis, leishmaniasis, enfermedades de rickettsias, fiebre de las Montañas Rocosas, ehrliquiosis canina, envenamiento por salmón, enfermedades virales, enfermedad de Aujeszky, enfermedad de Borna, encefalomielitis viral de herpes canino, encefalomielitis de moquillo, encefalomielitis de moquillo en animals inmaduros, encefalomielitis de recaída crónica, encefalitis de moquillo post-vaccinal, virus de inmunodeficiencia en felinos, peritonitis infecciosa felina, virus de leucemia felino, hepatitis infecciosa canina, encefalitis por virus La Crosse, encefalitis por parvovirus, rabia, rabia post-vaccinal.

Ejemplos para enfermedades inflamatorias reumáticas son artritis reumatoide, esclerodermia, lupus, polimiositis, dermatomiositis, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, síndrome de Reiter, artritis reumatoide juvenil, bursitis, tendinitis (tendonitis) y fibromiositis.

Ejemplos para enfermedades inflamatorias de vasos sanguíneos son vasculitis, autoanticuerpos en vasculitis, poliangiitis miscroscópica, arteritis de células gigantes, arteritis de Takayasu, vasculitis del sistema nervioso central, tromboangiitis obliterans (enfermedad de Buerger), vasculitis segundaria a infecciones bacteriales, fungales y parasíticas, vasculitis y artritis reumatoide, vasculitis en lupus eritematoso sistémico, vasculitis en miopatías inflamatorias idiopáticas, policondritis recidivante, vasculitis sistémica en sarcoidosis, vasculitis y neoplasias y vasculitis inducida por medicamentos.

Ejemplos para enfermedades inflamatorias del oído medio son otitis media supurativa aguda, miringitis bulosa, miringitis granular y otitis media supurativa crónica que pueden manifestarse como enfermedades de mucosa, colesteatoma, o los dos.

Ejemplos para enfermedades inflamatorias intestinales son colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn.

Ejemplos para enfermedades inflamatorias de la piel son dermatosis inflamatorias agudas, urticaria, dermatitis espongiótica, dermatitis por contacto alérgica, dermatitis por contacto irritante, dermatitis atópica, eritema multiforme (EM menor), síndrome de Stevens-Johnson (SSJ, EM mayor), necrolisis epidérmica tóxica (NET), dermatosis inflamatorias crónicas, psoriasis, liquen plano, lupus eritematoso discoide y acné vulgar.

Uveítis son inflamaciones localizadas en y/o sobre el ojo y pueden estar asociadas con inflamaciones en otra parte del cuerpo. En la mayoría de las circunstancias los pacientes que tienen uveítis como parte de una enfermedad en otra parte del cuerpo son conscientes de esa enfermedad. La mayoría de los pacientes con uveítis no tienen una enfermedad sistémica asociada que es evidente. Las causas de la uveitis pueden ser causas infecciosas, síndromes de enmascaramiento, enfermedades inmunomediadas presuntas y/o síndromes limitados en primer lugar al ojo.

Los siguientes virus están asociados con inflamaciones; virus de inmunodeficiencia humana - I, virus del Herpes simplex, virus del Herpes zoster y citomegalovirus.

Inflamaciones causadas, inducidas, iniciadas y/o aumentadas por bacterias o espiroquetas son tuberculosis, lepra, proprionobacterium, sífilis, enfermedad de Whipple, leptospirosis, brucelosis y enfermedad de Lyme.

Inflamaciones causadas, inducidas, iniciadas y/o aumentadas por parásitas (protozóicas o helmínticas) son toxoplasmosis, acanthamoeba, toxocariasis, cisticercosis, oncocercosis.

Inflamaciones causadas, inducidas, iniciadas y/o aumentadas por hongos son histoplasmosis, coccidioidomicosis, candidiasis, aspergilosis, esporotricosis, blastomicosis y criptococosis.

Síndromes de enmascaramiento son, por ejemplo, leucemia, linfoma, retinitis pigmentosa y retinoblastoma.

Enfermedades inmunomediadas presuntas pueden estar seleccionadas del grupo que comprende espondilitis anquilosante, enfermedad de Behçet, enfermedad de Crohn, reacción a medicamentos o de hipersenitividad, nefritis intersticial, artritis reumatoide juvenil, enfermedad de Kawasaki, esclerosis múltiple, artritis psoríaca, síndrome de Reiter, policondritis recidiva, sarcoidosis, síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico, colitis ulverativa, vasculitis, vitiligo, síndrome de Vogt Koyanagi Harada.

Síndromes limitados en primer lugar al ojo son, por ejemplo, epiteliopatía pigmentaria placoide multifocal aguda, necrosis retinal aguda, retinocoroidopatía en perdigonada, ciclitis heterocrómica de Fuchs, crisis glaucomatociclítica, uveítis inducida por lentes, coroiditis multifocal, pars planitis, coroiditis serpiginosa, oftalmia simpatética y trauma.

Ejemplos para enfermedades inflamatorias de laringe son enfermedad por reflujo gastroesofágico (laringofaringeal), laringitis pediátrica, infecciones de laringe agudas en adultos, enfermedades crónicas (granulomatosis), enfermedades alérgicas, inmunes y idiopáticas y condiciones inflamatorias misceláneas.

La laringitis pediátrica está conocida como una infección aguda (viral o bacterial) tal como laringotraqueítis (croup), supraglotitis (epiglotitis), difteria, y causas no infeccionales son por ejemplo croup espasmódico y laringitis traumática.

Infecciones de laringe agudas en adultos son, por ejemplo, laringitis viral, infección común de las vías respiratorias superiores, laringotraqueítis, herpes simplex, laringitis bacterial, supraglotitis, absceso laringeal y gonorrea.

Enfermedades crónicas (granulomatosis) pueden estar seleccionadas del grupo que comprende enfermedades bacterianas, tuberculosis, lepra, escleroma, actinomicosis, tularemia, muermo, enfermedades de espiroquetas (sífilis), enfermedades micóticas (fungales), candidiasis, blastomicosis, histoplasmosis, coccidiomicosis, aspergilosis, enfermedades idiopáticas, sarcoidosis y granulomatosis de Wegener.

Enfermedades alérgicas, inmunes y idiopáticas son, por ejemplo, reacciones de hipersensitividad, angioedema, síndrome de Stevens-Johnson, enfermedades inmunes y idiopáticas, infecciones en un huésped inmunocomprometido, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, penfigoide cicatricial, policondritis recidiva, síndrome de Sjögren y amiloidosis.

Condiciones inflamatprias misceláneas son, por ejemplo, infecciones de parásitas, triquinosis, leishmaniasis, esquistosomiasis, Syngamus laryngeus, laringitis por inhalación, lesión aguda (termal), polución y alergía inhalatoria, carcinógenos, lesión por radiación, laringitis por radiación, radionecrosis, abuso vocal, hemorragia en las cuerdas vocales, disfonías por tensión muscular y úlcera de contacto y granuloma.

Apoplejía

Los compuestos inventivos de acuerdo con la formula general (I) igual que los sales farmaceuticamente aceptables de ellos sirven también para el tratamiento de apoplejía.

Los compuestos de acuerdo con la fórmula general (I) igual que los sales farmaceuticamente aceptables de ellos están usados como inhibidores de una proteína quinasa, preferencialmente como un inhibidor de una proteína quinasa celular.

Preferentemente, dicha proteína quinasa celular consiste de proteína quinasas dependientes de ciclina (CDKs).

Las proteína quinasas dependientes de ciclina pueden ser seleccionadas del grupo que comprende: CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8, CDK9, CDK10, CDK11, CrkRS (Crk7, proteína quinasa 7 relacionada a CDC2), CDKL1 (similar a quinasa dependiente de ciclina 1), KKIALRE, CDKL2 (similar a quinasa dependiente de ciclina 2), KKIAMRE, CDKL3 (similar a quinasa dependiente de ciclina 3), NKIAMRE, CDKL4, similar a similar a quinasa dependiente de ciclina 1), CDC2L1 (similar a ciclo de division cellular 2 - 1), PITSLRE B, CDC2L1 (similar a ciclo de division cellular 2 - 1), PITSLRE A, CDC2L5 (similar a ciclo de division cellular 2 - 5), PCTK1 (PCTAIRE proteína quinasa 1), PCTK2 (PCTAIRE proteína quinasa 2), PCTK3 (PCTAIRE proteína quinasa 3) o PFTK1 (PFTAIRE proteína quinasa 1).

Particularmente preferido, dicha proteína quinasa dependiente de ciclina es CDK9. Así los compuestos de acuerdo con la fórmula general (I) igual que los sales fartmacéuticamente aceptables de ellos están usados como un inhibidor de CDK9.

Además, los compuestos de acuerdo con la invención muestran un potencial alto (demostrado por un valor IC_{50} bajo) para inhibir la actividad de CDK9. En el contexto de la presente invención el valor IC_{50} en respecto a CDK9 puede ser determimado por los métodos descritos en la sección de Métodos más abajo. Preferibilmente está determinado según el método descrito en la sección 3.6.

De manera sorprendente se mostró que los compuestos de acuerdo con la fórmula general (I) igual que los sales farmacéuticamente aceptables de ellos inhiben selectivamente CDK9 en comparación a otras proteína quinasas dependientes de ciclina. Por ende los compuestos de acuerdo con la fórmula general (I) igual que los sales farmacéuticamente aceptables de ellos están usados como inhibidores selectivos de CDK9.

Compuestos de la presente invención particularmente preferidos de acuerdo con la fórmula (I) demuestran una inhibición más fuerte de CDK9 que de CDK2. En el contexto de la presente invención el valor IC_{50} en respecto a CDK2 puede ser determimado por los métodos descritos en la sección de Métodos más abajo. Preferibilmente está determinado según el método descrito en la sección 3.5.

Además, los compuestos de la presente invención de acuerdo con la fórmula (I) median una actividad antiproliferativa en líneas de células tumorales tales como HeLa, MaTu/ADR, H460, DU145, CACO-2 o B16F10. En el contexto de la presente invención los valores IC_{50} de los compuestos con respecto a estas líneas celulares se determinan preferencialmente de acuerdo con los métodos descritos más abajo.

Compuestos preferidos de la presente invención median una actividad antiproliferativa particularmente fuerte en la línea celular tumoral HeLa.

Como se usa aquí, un “inhibidor” de quinasa se refiere a cualquier compuesto capaz de regular hacia abajo, diminuir, suprimir o regular de otra manera la cantidad y/o la actividad de una quinasa. Se puede alcanzar la inhibición de estas quinasas por cualquier de una variedad de mecanismos conocidos en la técnica, inclyuendo pero no limiado a ligar directamente al polipéptido de la quinasa, denaturalizar o inactivar de otra manera la quinasa, o inhibir la expression del gen (p.ej. transcripción a mARN, translación a un polipéptido naciente y/o modificaciones finales del polipéptido a una proteína madura) que codifica la quinasa. En general inhibidores de quinasa pueden ser proteínas, polipéptidos, ácidos nucleicos, moléculas pequeñas y otros residuos químicos.

Como se usa aquí el término “inhibitorio” o “inhibición” se refiere a la capacidad de un compuesto de regular hacia abajo, diminuir, reducir, suprimir, inactivar o inhibir al menos parcialmente la actividad de una enzima, o la expression de una enzima o proteína y/o la replicación viral.

Los compuestos mostradas explicítamente en tabla 1 están preferidos para el uso en estos métodos o indicaciones revelados aquí. Es otro aspecto de la presente invención que al menos un compuesto de acuerdo con la fórmula general (I) usado como agente farmacéuticamente activo puede ser administrado en combinación con otros compuestos terapéuticos.

Para la indicación VHI compuestos de acuerdo con la fórmula general (I), preferencialmente estos para CDK9 como mostrado en tabla 4 pueden ser administrados en combinación con agentes antiretrovirales seleccionados de las siguientes cinco clases:

1) inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa inversa (INTIs),
2) inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa (INNTIs),
3) inhibidores de la proteasa (IP),
4) inhibidores de fusión o
5) estímulos inmunológicos.

Composiciones farmacéuticas y combinaciones de fármacos

Otro aspecto de la presente invención se refiere a combinaciones de fármacos y composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la fórmula general (I) como ingrediente activo junto con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, excipiente y/o diluente y opcionalmente junto con uno o más agentes antitumorales o con uno o más fármacos antiretrovirales. Como se usa aquí el término “combinación de fármaco” se refiere a una combinación de al menos un agente farmacéuticamente activo o agentes terapéuticos con o sin más ingredientes, vehículo, diluentes y/o solventes. Como se usa aquí el término “composición farmacéutica” se refiere a una formulación galénica de al menos un agente farmacéuticamente activo junto con al menos otro ingrediente, vehículo, diluente y/o solvente.

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser administrados como único agente farmacéutico o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, en que la combinación de fármacos causa ningunos efectos adversos inaceptables. Esta terapia combinada incluye la administración de una sola formulación con una dosificación farmacéutica que contiene un compuesto de la fórmula (I) y uno o más agentes terapéuticos adicionales, agentes en forma de una sola composición farmacéutica, igual que la administración del compuesto de la fórmula (I) y de cada uno de los agentes terapéuticos adicionales en su propria formulación con una dosificación farmacéutica por vía separada, es de decir en su propria formulación farmacéutica distinta. Por ejemplo, un compuesto de la fórmula (I) y un agente terapéutico pueden ser administrados a un paciente juntos en una sola formulación con una dosificación farmacéutica oral tal como un comprimido o una cápsula, o cada agente puede ser administrado en composiciones farmacéuticas distintas.

Cuando se usan composiciones farmacéuticas distintas el compuesto de la fórmula (I) y uno o más agentes terapéuticos adicionales pueden ser administrados a prácticamente el mismo tiempo (p.ej. conjuntamente) o a tiempos escalonados separados (p.ej. sequencialmente).

En particular, los compuestos de la presente invención pueden ser usados en una composicion farmacéutica fija o separada con otro agente antitumoral tal como agentes alquilizantes, antimetabolitas, agentes antitumorales derivados de plantas, agentes de terapia hormonal, inhibidores de topoisomerasa, derivados de camptotecina, inhibidores de quinasa, fármacos dirigidos a moléculas específicas, anticuerpos, interferones, y/o modificadores de la respuesta biológica, compuestos antiangiogénicos y otros fármacos antitumorales. En este aspecto lo siguiente es una lista no limitante de agentes segundarios que pueden ser usados en combinación con los compuestos de la presente invención:

- Agentes alquilizantes incluyen, pero no están limitados a mostaza de nitrógeno N- óxido, ciclofosfamida, ifosfamida, tiotepa, ranimustina, nimustina, temozolomida, altretamina, apazicuona, brostalicina, bendamustina, carmustina, estramustina, fotemustina, glufosfamida, mafosfamida y mitolactol; compuestos alquilizantes coordinados por platino incluyen, pero no están limitados a cisplatina, carboplatina, eptaplatina, lobaplatina, nedaplatina, oxaliplatina y satraplatina;
- Antimetabolitas incluyen, pero no están limitados a metotrexato, 6-mercapto-purina-ribósido, mercapto-purina, 5-fluorouracilo solo o en combinación con leucovorina, tegafur, doxifluridina, carmofur, citarabina, ocfosfato de citarabina, enocitabina, gemcitabina, fludarabina, 5-azacitidina, capecitabina, cladribina, clofarabina, decitabina, eflornitina, etinilcitidina, arabinósido de citosina, hidroxiurea, melphalan, nelarabina, nolatrexed, ocfosfita, disodio de premetrexed, pentostatina, pelitrexol, raltitrexed, triapina, trimetrexato, vidarabina, vincristina y vinorelbina;
- Agentes de terapia hormonal incluyen, pero no están limitados a exemestan, Lupron, anastrozol, doxercalciferol, fadrozol, formestan, inhibidores de la 11-beta hidroxisteroide deshidrogenasa 1, inhibidores de 17-alfa hidroxilasa/17,20 liasa tal como acetato de abiraterona, inhibidores de 5-alfa-reductasa tal como finasteride y epristeride, antiestrógenos tal como tamoxifeno citrato y fulvestrant, Trelstar, toremifen, raloxifen, lasofoxifen, letrozol, antiandrógenos tal como bicalutamida, flutamida, mifepristona, nilutamida, Casodex y antiprogesteronas y combinaciones de ellos;
- Agentes antitumorales derivados de plantas incluyen, p.ej. estos seleccionados de inhibidores mitóticos, por ejemplo epotilonas tal como sagopilona, ixabepilona y epotilona B, vinblastina, vinflunina, docetaxel y paclitaxel;

- Agentes citotóxicos inhibidores de topoisomerasa incluyen, pero no están limitados a aclarubicina, doxorubicina, amonafida, belotecán, camtotecina, 10-hidroxi-camptotecina, 9-amino-camptotecina, diflomotecán, irinotecán, topotecán, edotecarina, epimbicina, etopósido, exatecán, gimatecán, lurtotecán, mitoxantrona, pirambicina, pixantrona, rubitecán, sobuzoxano, taflupósido y combinaciones de ellos;
- Inmunológicos incluyen interferones tal como interferón alfa, interferón alfa-2a, interferón alpha-2b, interferón beta, interferón gamma-1a y interferón gamma-n1, y otros agentes inmunoestimulantes tal como L19-IL2 y otros derivados de IL2, filgrastim, lentinan, sizofilan, TheraCys, ubenimex, aldesleukin, alemtuzumab, BAM-002, dacarbazina, daclizumab, denileukin, gemtuzumab, ozogamicina, ibritumomab, imiquimod, lenograstim, vacuno de melanoma (Corixa), molgramostim, sargramostim, tasonermin, tecleukin, timalasin, tositumomab, vimlicin, epratuzumab, mitumomab, oregovomab, pemtumomab y Provenge; Merial (vacuno de melanoma);
- Modificadores de la respuesta biológica son agentes que modifican los mecanismos de defensa de organismos vivos o respuestas biológicas tal como la supervivencia, crecimiento o diferenciación de células de tejido para dirigirlos a tener una actividad antitumoral; tales agentes incluyen, p.ej., krestin, lentinan, sizofiran, picibanil, ProMune y ubenimex;
- Compuestos antiangiogénicos incluyen, pero no están limitados a acitretin, aflibercept, angiostatina, aplidine, asentar, axitinib, recentin, bevacizumab, alaninato de brivanib, cilengtida, combretastatina, DAST, endostatina, fenretinida, halofuginona, pazopanib, ranibizumab, rebimastat, removab, revlimid, sorafenib, vatalanib, esqualamina, sunitinib, telatinib, talidomida, ukrain y vitaxin;
- Anticuerpos incluyen, pero no están limitados a trastuzumab, cetuximab, bevacizumab, rituximab, ticilimumab, ipilimumab, lumiliximab, catumaxomab, atacicept, oregovomab y alemtuzumab;
- Inhibidores de VEGF tal como, p.ej., sorafenib, DAST, bevacizumab, sunitinib, recentin, axitinib, aflibercept, telatinib, alaninato de brivanib, vatalanib, pazopanib y ranibizumab; Palladia
- Inhibidores de EGFR (HER1) tal como, p.ej., cetuximab, panitumumab, vectibix, gefitinib, erlotinib y Zactima;
- Inhibidores de HER2 tal como, p.ej., lapatinib, tratuzumab y pertuzumab;
- Inhibidores de mTOR tal como, p.ej., temsirolimus, sirolimus/rapamicina y everolimus;
- Inhibidores de c-Met;
- Inhibidores de PI3K y AKT;
- Inhibidores de CDK tal como roscovitina y flavopiridol;
- Inhibidores de puestos de control para la formación de huso y agentes antimitóticos dirigidos a una molécula tal como inhibidores de PLK, inhibidores de Aurora (p.ej. hesperadin), inhibidores de quinasas de puestos de control y inhibidores de KSP;
- Inhibidores de HDAC tal como, p.ej., panobinostat, vorinostat, MS275, belinostat y LBH589;
- Inhibidores de HSP90 y HSP70;
- Inhibidores de proteasoma tal como bortezomib y carfilzomib;
- Inhibidores de serina-treonina quinasas incluyendo inhibidores de MEK (tal como p.ej. RDEA 119) y inhibidores de Raf tal como sorafenib;
- Inhibidores de farnesiltransferasa inhibitors tal como, p.ej., tipifarnib;
- Inhibidores de tirosina quinasa tal como, p.ej., dasatinib, nilotibib, DAST, bosutinib, sorafenib, bevacizumab, sunitinib, AZD2171, axitinib, aflibercept, telatinib, mesilato de imatinib, alaninato de brivanib, pazopanib, ranibizumab, vatalanib, cetuximab, panitumumab, vectibix, gefitinib, erlotinib, lapatinib, tratuzumab, pertuzumab y inhibidores de c-Kit; Palladia, masitinib;
- Agonistas de receptores de vitamina D;
- Inhibidores de proteína Bcl-2 tal como obatoclax, sodio de oblimersen y gosipol;
- Cúmulo de diferenciación para 20 antagonistas de receptores tal como p.ej. rituximab;
- Inhibidores de ribonucleótido reductasa tal como p.ej. gemcitabina;
- Agonistas de receptor 1 de ligando induciendo apoptosis y necrosis tumoral tal como p.ej. mapatumumab;
- Antagonistas de receptores de 5-hidroxitriptamina tal como, p.ej., rEV598, xaliprode, clorhidrato de palonosetrón, granisetrón, Zindol y AB-1001;
- Inhibidores de integrina incluyendo inhibidores de integrina alfa5-beta1 tal como, p.ej., E7820, JSM 6425, volociximab y endostatina;
- Antagonistas de receptores andrógenos incluyendo p.ej. decanoato de nandrolona, fluoximesterona, Android, Prost-aid, andromustina, bicalutamida, flutamida, apo-ciproterona, apo-flutamida, acetato de clormadinona, Androcur, Tabi, acetato de ciproterona y nilutamida;
- Inhibidores de aromatasa tal como, p.ej., anastrozol, letrozol, testolactona, exemestan, aminoglutetimida y formestan;
- Inhibidores de metaloproteinasa de matriz;
- Otros agentes anticáncer incluyendo, p.ej., alitretinoína, ampligen, atrasentan bexaroten, bortezomib, bosentan, calcitriol, exisulind, fotemustina, ácido ibandrónico, miltefosina, mitoxantrona, L-asparaginasa, procarbazina, dacarbazina, hidroxicarbamida, pegaspargasa, pentostatina, tazaroteno, Velcade, nitrato de galio, canfosfamida, darinaparsin y tretinoína.

Se pueden usar también los compuestos de la presente invención en el tratamiento de cáncer en combinación con terapia de radiación y/o una intervención cirúrgica.

Además se pueden usar los compuestos de la fórmula (I) como tales o en composiciones en las investigaciones y la diagnóstica, o como estándares de referencia analíticos y similares, que están bien conocidos en la técnica.
al menos un compuesto inventivo de acuerdo con la fórmula general (I) y/o los sales farmacéuticamente aceptables de ellos junto con al menos un fármaco antiretroviral, en especial con al menos uno de los fármacos mencionados anteriormente.

Las composiciones farmacéuticas según la presente invención comprenden al menos un compuesto de acuerdo con la presente invención como ingrediente activo junto con al menos un vehículo, excipiente y/o diluente farmacéuticamente aceptable (es de decir, no tóxico). Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser preparadas en un vehículo convencional sólido o líquido o en un diluente y un adyuvante convencional producido farmacéuticamente en un nivel de dosificación conveniente en una manera conocida. Las preparaciones preferidas estána adaptadas a una aplicación oral. Estas formas de aplicación incluyen, por ejemplo, pastillas, comprimidos, comprimidos recubiertos con película, comprimidos recubiertos, cápsulas, polvos y depósitos.

Además la presente invención incluye también preparaciones farmacéuticas para una aplicación parenteral, incluyendo dermal, intradermal, intragastral, intracutánea, intravasal, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intranasal, intravaginal, intrabucal, percutánea, rectal, subcutánea, sublingual, tópica o transdermal, en que las preparaciones contienen en adición a vehículos y/o diluentes típicos al menos un compuesto de acuerdo con la presente invención y/o un sal farmacéuticamente aceptable de él como ingrediente activo.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención que contienen al menos un compuesto de acuerdo con la presente invención y/o un sal farmacéuticamente aceptable de él como ingrediente activo típicamente serán administradas junto con materiales convenientes de vehículo seleccionados en respecto a la forma intencionada de aplicación, o sea para una aplicación oral en forma de comprimidos, cápsulas (llenadas o de forma sólida o semisólida o líquida), polvos para reconstitución, geles, elixires, gránulos dispersables, jarabes, suspensiones y similares, y consistentes con las prácticas farmacéuticas convencionales. Por ejemplo, para la administración oral en forma de comprimidos o cápsulas el componente activo del fármaco puede ser combinado con cualquier vehículo oral no tóxico farmacéuticamente aceptable, preferencialmente con un vehículo inerte como lactosa, almidón, sucrosa, celulosa, estearato de magnesio, fosfato dicalcio, sulfato de calcio, talco, manitol, alcohol etílico (cápsulas llenadas de líquido) y similares. Además ligantes, lubricantes, agentes desintegrantes y agentes colorizantes convenientes pueden ser incorporados también en el comprimido o la cápsula. Polvos y comprimidos pueden contener de ca. 5 a ca. 95 % de peso del derivado de pirimidina 4,6 disustituida de acuerdo con la fórmula general (I) o compuestos análogos de ella o del respectivo sal farmacéuticamente activo como ingrediente activo.

Ligantes convenientes incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tal como acacia, alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y ceras. Entre los lubricantes convenientes se pueden mencionar ácido bórico, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Desintegrantes convenientes incluyen almidón, metilcelulosa, goma guar y similares. Agentes edulcorantes y saborizantes al igual que conservantes pueden ser incluídos, si preciso. Los desintegrantes, diluentes, lubricantes, ligantes etc, serán discutidos más detalladamente en lo seguido.

Además composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser formuladas en una forma de liberación sostenida para proveer la liberación de tasa controlada de una o más de los componentes o ingredientes activos para optimizar el (los) efecto(s) terapéutico(s), p.ej. la actividad antihistamínica y similares. Formas de dosificación convenientes para una liberación sostenida incluyen comprimidos con capas de diferentes tasas de desintegración o matrices poliméricas de liberación controlada impregnadas con los componentes activos y están preparadas en forma de comprimidos o cápsulas que contienen las matrices poliméricas porosas impregnadas o encapsuladas de tal manera.

Preparaciones en forma líquida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Por ejemplo se pueden mencionar agua o soluciones de agua/propilenglicol para inyecciones parenterales o la adición de edulcorantes y opacicantes para soluciones, suspensiones y emulsiones orales. Prepaciones líquidas pueden incluir también soluciones para una administración intranasal.

Preparaciones de aerosol convenientes para la inhalación pueden incluir soluciones y sólidos en forma de polvo que pueden estar presente en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como un gas inerte comprimido, p.ej. nitrógeno.

Para la preparación de supositorios una cera con temperatura de fusión baja tal como mezclas de glicéridos de ácidos grasos como manteca de cacao está fundida antes, y después el ingrediente activo está dispersado de manera homogénea en ella, p.ej. por agitación. La mezcla fundida homogénea es vertida entonces en moldes de tamaño conveniente, permitida de enfriar y solidificada de este modo.
E

están incluidas también formas sólidas intencionadas de ser convertidas, poco antes del uso, en preparaciones de forma líquida para una administración o oral o parenteral. Tales formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones.

Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden ser aplicados también de forma transdérmica. Las composiciones transdérmicas pueden tener la forma de una crema, una loción, un aerosol y/o una emulsión y pueden estar incluídas en un parche transdermal del tipo matriz o depósito como conocido en la técnica para este propósito.

El término cápsula como recitado aquí se refiere a un envase o un contenedor hecho p.ej. de metilcelulosa, alcoholes polivinílicos o gelatinas denaturalizadas o almidón para mantener o contener composiciones que comprenden el/los ingrediente(s) activo(s). Cápsulas de capa dura están hechas típicamente de gelatinas de capacidad de gelificación relativamente alta de huesos o piel porcina. La cápsula misma puede contener pequeñas cantidades de colorantes, agentes opacicantes, plastificantes y/o conservantes.

Bajo el término comprimido se entiende una forma de dosificación sólida moldeada que comprende los ingredientes activos con diluentes convenientes. El comprimido puede ser preparado por compresión de mezclas o granulaciones obtenidas por granulación húmeda, granulación seca o por compactación bien conocidas a un experto promedio en la materia.

Geles orales se refieren a unos ingredientes activos dispersados o solubilizados en una matriz hidrofílica semisólida.

Polvos para reconstitución se refieren a mezclas de polvo que contienen los ingredientes activos y diluentes convenientes que pueden ser suspendidas p.ej. en agua o jugo.

Diluentes convenientes son substancias que usualmente forman la porción mayor de la composición o forma de dosificación. Diluentes convenientes incluyen azúcares tal como lactosa, sucrosa, manitol y sorbitol, almidones derivados de trigo, maíz, arroz y papa, y celulosas tal como celulosa microcristalina. La cantidad del diluente en la composición puede variar de ca. 5 a ca. 95 % de peso de la composición total, preferencialmente entre ca. 25 a ca. 75 % de peso, y más preferencialmente entre ca. 30 a ca. 60 % de peso.

El término desintegrantes se refiere a materiales adicionados a la composición para apoyar el quebramiento (la desintegración) y la liberación de los ingredientes farmacéuticamente activos de un medicamento. Desintegrantes convenientes incluyen almidones, almidones modificados de ser solubles en agua fría tal como sodio carboximetil del almidón, gomas naturales y sintéticas tal como algarroba, karaya, guar, tragacanto y agar, derivados de celulosa tal como metilcelulosa y carboximetil celulosa de sodio, celulosas microcristalinas y celulosas microcristalinas reticuladas tal como croscaramelosa sódica, alginatos tal como ácido algínico y alginato de sodio, arcillas tal como bentonitas y mezclas efervescentes. La cantidad del desintegrante en la composición puede variar entre ca. 2 a ca. 20 % de peso de la composición, más preferencialmente entre ca. 5 a ca. 10 % de peso.

Ligantes son substancias que ligan o “aglutinan” partículos de polvo y los hacen cohesivos por la formación de gránulos, sirviendo así como “adhesivo” en la formulación. Ligantes adicionan capacidad adhesiva ya presente en el diluente o en el espesante. Ligantes convenientes incluyen azúcares tal como sucrosa, almidones derivados de trigo, maíz, arroz y papa, gomas naturales tal como acacia, gelatina y tragacanto, derivados de algas tal como ácido algínico, alginato de sodio y alginato de amonio y calcio, materiales de celulosa tal como metilcelulosa, carboximetil celulosa de sodio y hidroxipropilmetil celulosa, polivinilpirrolidona y compuestos inorgánicos tal como silicato de magnesio y aluminio. La cantidad del ligante en la composición puede variar de ca. 2 a ca. 20 % de peso de la composición total, preferencialmente entre ca. 3 a ca. 10 % de peso, y más preferencialmente entre ca. 3 a ca. 6 % de peso.

Lubricantes se refieren a una clase de substancias que son adicionadas a la forma de dosificación para habilitar el comprimido, los gránulos etc. de ser liberados desde el molde o cubilete después de la compresión por reducción de fricción o desgaste. Lubricantes convenientes incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de potasio, ácido esteárico, ceras de temperatura de fusión alta, y otros lubricantes solubles en agua tal como cloruro de sodio, benzoato de sodio, acetato de sodio, oleato de sodio, polietilenglicoles y D,L-leucina. Los lubricantes se añaden usualmente en el último paso antes de la compresión ya que tienen que estar presentes en la superficie de los gránulos La cantidad del lubricante en la composición puede variar de ca. 0,2 a ca. 5 % de peso de la composición total, preferencialmente entre ca. 0,5 a ca. 2 % de peso, y más preferencialmente entre ca. 0,3 a ca. 1,5 % de peso de la composición.

Deslizantes son materiales que previenen la aglomeración de los componentes de la composición farmacéutica y mejoran las características de flujo del granulado de manera que el flujo es suave y uniforme. Deslizantes convenientes incluyen dioxido de silicio y talco. La cantidad del deslizante en la composición puede variar entre ca. 0,1 a ca. 5 % de peso de la composición, más preferencialmente entre ca. 0,5 a ca. 2 % de peso.

Colorizantes son excipientes que proveen una colorización a la composición o la forma de dosificación. Tales excipientes pueden incluir tinturas de grado alimentario adsorbidas sobre un adsorbente conveniente tal como arcilla u óxido de aluminio. La cantidad del colorizante puede variar entre ca. 0,1 a ca. 5 % de peso de la composición, más preferencialmente entre ca. 0,5 a ca. 1 % de peso.

Los compuestos de la invención son especialmente útiles para prevenir la formación de metástasis, Además los compuestos de la invención son especialmente útiles para tratar cánceres y tumores resistentes a fármacos y resistentes a multi fármacos.

Ejemplos

Preparación de los compuestos:

Abreviaciones usadas en la descripción de la química y en los Ejemplos siguientes son:

$CDCl_3$ (cloroformo deuterizado); cHex (ciclohexano); DCM (diclorometano); DIPEA (diisopropiletilamina); DMF (dimetilformamida); DMSO (dimetil sulfóxido); eq (equivalente); ESI (electrospray); EtOAc (acetato de etilo); EtOH (etanol); iPrOH (isopropanol); MeOH (metanol); MS (espectrometría de masa); RMN (resonancia magnética nuclear); $Pd(dppf)Cl_2$ (complejo de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloro paladio(II) con diclorometano); iPrOH (isopropanol); TA (temperatura ambiental); sat. aq. (acuoso saturado); SiO_2 (gel de sílice); ATF (ácido trifluoroacético); THF (tetrahidrofurano).

Ejemplos de Preparación

Intermediarios

Intermediario 1: 3-[(4-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (A1)

A una solución de 2,4-dicloro-1,3,5-triazina (1,0 eq) en DMF seco (0,7 M) en 0°C bajo atmósfera de N_2 se añadió una solución de (3-aminofenil)-metansulfonamida (1,0 eq) en DMF seco (0,7 M). La mezcla reactiva fue agitada por 2,5 h en 0°C. Después se añadió agua y la solución acuática fue neutralizada con una solución sat. aq. de $NaHCO_3$. La capa acuática fue extraída con EtOAc y las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre Na_2SO_4. Evaporación del solvente dio **A1**, un sólido blanco que fue usado en el paso siguiente sin otra purificación. ^1H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 4.26 (s, 2H), 6,89 (s, 2H), 7,15 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 8,64 (s, 1H), 9,75 (br. s, 1H), 10,83 (s, 1H). MS (ESI) $C_{10}H_{10}ClN_5O_2S$ requiere: 299, encontrado: 300 $(M+H)^+$.

Intermediario 2: 3-[(4-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida (A2)

A2 fue preparado según el procedimiento general reportado para **A1** usando 2,4-dicloro-1,3,5-triazina y 3-aminobenceno-sulfonamida como agentes reactivos. El producto crudo fue purificado por cromatografía Flash sobre gel de sílice (cHex/EtOAc = 20:1 a 1:20) para rendir el producto deseado **A2** como un sólido blanco (35%). ^1H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 7,41 (s, 2H), 7,59 (m, 2H), 7,85 (d, J = 6,9Hz, 1H), 8,21 (br.s, 1H), 8,69 (s, 1H), 11,02 (s, 1H). MS (ESI) $C_9H_8ClN_5O_2S$ requiere: 285, encontrado: 286 $(M+H)^+$.

Intermediario 3: 4-cloro-N-(3-nitrofenil)-1,3,5-triazin-2-amina (A3)

A3 fue preparado según el procedimiento general reportado para **A1** usando 2,4-dicloro-1,3,5-triazina y 3-nitroanilina como agentes reactivos. ^1H-RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 7,67 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,98 (dd, J = 8,1 Hz, J = 2,2 Hz, 1H), 8,04 (dd, J = 8,1 Hz, J = 2,2 Hz, 1H), 8,69 (m, 1H), 8,77 (m, 1H), 11,17 (s, 1H). MS (ESI) $C_9H_6ClN_5O_2$ requiere: 251, encontrado: 252 $(M+H)^+$.

Intermediario 4: 2-(3-aminofenil)-etansulfonamida (A4)

El compuesto **A4** fue obtenido por reducción de 2-(3-nitrofenil)-etansulfonamida de acuerdo con el procedimiento descrito en WO2009/076140, y el compuesto nitro de 2-(3-nitrofenil)etanol de acuerdo con J.Med.Chem. 45 (2002), 567-583.

Intermediario 5: 2-[3-((4-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-etansulfonamida (A5)

A5 fue preparado según el procedimiento general reportado para **A1** usando 2,4-dicloro-1,3,5-triazina y 2-(3-aminofenil)etansulfonamida **A4** como agentes reactivos. El producto crudo fue purificado por cromatografía Flash sobre gel de sílice (DCM/MeOH = 100:0 a 4:1) para rendir el producto deseado **A5** (54%, 65% de puridad) como sólido marrón. MS (ESI) $C_{11}H_{12}ClN_5O_2S$ requiere: 313, encontrado: 314 $(M+H)^+$.

Intermediario 6: 3-[(4-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benzamida (A6)

A6 fue preparado según el procedimiento general reportado para **A1** usando 2,4-dicloro-1,3,5-triazina y 3-aminobenzamida como agentes reactivos. MS (ESI) $C_{10}H_8ClN_5O$ requiere: 249, encontrado: 250 $(M+H)^+$.

Intermediario 7: rac-S-[3-((4-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-N-etoxi-carbonil-S-metil-sulfoximida (A7)

Una solución del sulfoximida **A11** (500 mg, 2,064 mmol) en una mezcla de iPrOH (12 ml) y THF (12 ml) fue enfriada a -20°C. Otra solución preenfriada de 2,4-dicloro-1,3,5-triazina (309,5 mg, 2,064 mmol) en la misma mezcla de solventes (6 ml cada una) fue añadida con esta temperatura. Después de agitar por 1 hora otra carga de triazina (100 mg, 0,67 mmol) fue añadida y la agitación a -20°C fue continuada por 1,5 horas. La mezcla fue ajustada a pH7 con una solución sat. aq. de $NaHCO_3$ y extraída con EtOAc. La capa orgánica fue secada sobre Na_2SO_4 y concentrada bajo presión reducida para dar el producto **A7** como sólido amarillo. Rendimiento: 561,1 mg (76 %); MS (ESI) $C_{13}H_{14}ClN_5O_3S$ requiere: 355, encontrado: 356 $(M+H)^+$.

Intermediario 8: 6-[(4-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino]-2,3-dihidro-1H-indol-1-sulfonamida (A8)

Hidrocloruro de 6-amino-2,3-dihidro-1H-indol-1-sulfonamida fue adquirido de UkrOrgSynthesis, y usado para preparar el compuesto titular por reacción con 2,4-dicloro-1,3,5-triazina como descrito para **A7**. El producto **A8** fue obtenido como sólido marrón. MS (ESI) $C_{11}H_{11}ClN_6O_2S$ requiere: 326, encontrado: 327 $(M+H)^+$.

Intermediario 9: 2-[2-((4-piridil)metoxi)fenil]-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (A9)

A una solución de 2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenol (400 mg, 1,82 mmol) en DMF (6 ml) fueron añadidos hidrocloruro de 4-picolil cloruro (446 mg, 2,72 mmol) y K_2CO_3 (1,0 g, 7,24 mmol). La mezcla fue calentada a 150 °C por 1 hora en un horno microonda. Después de añadir agua y EtOAc la capa orgánica fue separada, secada sobre Na_2SO_4, y el solvente fue removido bajo presión reducida. Después de purificación cromatográfica (gel de sílice, DCM/MeOH gradiente 100:0 a 90:10) el compuesto titular **A9** fue aislado como sólido blanco (15%). MS (ESI) $C_{18}H_{22}BNO_3$ requiere: 311, encontrado: 312 $(M+H)^+$.

Intermediario 10: 2-[2-(4-(tert-butoxicarbonilamino)butoxi)fenil]-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (A10)

El compuesto titular **A10** fue preparado de 2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenol y tert-butil N-(4-bromobutil)carbamato esencialmente de la misma manera como descrita por **A9**. MS (ESI) $C_{21}H_{34}BNO_5$ requiere: 391, encontrado: 392 $(M+H)^+$ y 292 $(M-COOC(CH_3)_3+H)^+$.

Intermediario 11: rac-S-(3-aminofenil)-N-etoxicarbonil-S-metil-sulfoximida (A11)

El compuesto titular **A11** fue preparado de 3-nitro-tioanisol de acuerdo con el procedimiento descrito en WO2008/006560.

Intermediario 12: tert-butil-[4-((3-((4-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil) metilsulfonamido)butil]carbamato (A12)

Paso 1: A una solución helada de (3-nitrobencil)sulfonil cloruro (7,00 g, 29,7 mmol) en DCM seco (60 mL) fueron añadidos sucesivamente piridina (4 mL, 3,91 g, 49,4 mmol) y N-Boc-1,4-diaminobutano (5,60 g, 29,7 mmol). La mezcla fue agitada por 5,5 hours a TA, diluída con DCM, lavada con agua, secada sobre $MgSO_4$ y concentrada bajo presión reducida. Fue tratada con tolueno y el solvente removido de nuevo. La sulfonamida solidificó al ser agitada con éter (200 mL). Fue recogida por filtración y secada *in vacuo*; rendimiento: 5,90 g (51%).

Paso 2: Raney-Ni (2 g) fue añadido a la solución del compuesto nitro de paso 1 (5,90 g, 15,2 mmol) en metanol (250 mL). La mezcla fue hidrogenada en un reactor Parr por 36 horas a 50°C y 5 bar de hidrógeno. El catalizador fue removido por filtración através de tierra de diatomeas y el filtrato concentrado hasta sequedad bajo presión reducida para dejar la anilina cruda que fue usada para el siguiente paso sin otra purificación; rendimiento: 5,0 g (92 %).

Paso 3: Una solución de la anilina del paso anterior (2,75 g, 7,7 mmol) en una mezcla de THF / iPrOH 1:1 (5 mL) fue enfriada a -20°C. Después de añadir DIPEA (2.6 mL) una solución de 2,4-dicloro-1,3,5-triazina (1,15 g, 7,7 mmol) en THF / iPrOH (10 mL) fue añadida gota a gota durante 30 minutos. La mezcla fue agitada por otra hora a -20°C, el solvente removido *in vacuo,* y la cloro-triazina cruda **A12** fue usada para el siguiente paso sin otra purificación.

Intermediario 13: 4-cloro-N-(3-(metilsulfonil)fenil)-1,3,5-triazin-2-amina (A13)

Una solución de hidrocloruro de 3-(metilsulfonil)anilina (277 mg, 1,3 mmol) en THF / iPrOH 1:1 (3 mL) fue enfriada a -30°C y tratada con DIPEA (517 mg, 665 µL, 4 mmol). La mezcla fue añadida gota a gota a -30°C a una solución enfriada de 2,4-dicloro-1,3,5-triazina (200 mg, 1,33 mmol) en THF / iPrOH 1:1 (3 mL). Fue agitada por otra hora a

-30°C, concentrada hasta sequedad *in vacuo,* y el intermediario crudo **A13** fue usado para el siguiente paso sin otra purificación.

Intermediario 14: 4-[(4-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (A14)

A14 fue preparado de (4-aminofenil)metansulfonil cloruro (250 mg, 1,3 mmol) y 2,4-dicloro-1,3,5-triazina (200 mg, 1,3 mmol) en la presencia de DIPEA (345 mg, 440 µL, 2,7 mmol) según el procedimiento reportado para **A13**.

Compuestos ejemplares

Ejemplo 1: 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B1)

Una mezcla de **A1** (1,0 eq), ácido 2-metoxifenilborónico (1,5 eq) y K_3PO_4 (2,0 eq) en dioxano/agua (50/1, 0,1M) fue degasada con una corriente de N_2 para 15min. Pd(dppf)Cl_2 (0,1 eq) fue añadido y la mezcla reactiva fue calentada a 140°C por 1 h en el horno de microonda. La mezcla fue concentrada bajo presión reducida y el residuo fue purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_2O (0,1% ATF) y MeOH (0,1% ATF) como eluentes. Las fracciones deseadas fueron liofilizadas para dar el compuesto titular (**B1**) (2%) como polvo blanco. ^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,87 (s, 3H), 4,25 (s, 2H), 6,87 (s, 2H), 7,10 (m, 2H), 7,21 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,37 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,71 (s, 1H), 7,84 (m, 1H), 8,82 (s, 1H), 10,52 (s, 1H). MS (ESI) $C_{17}H_{17}N_5O_3S$ requiere: 371, encontrado: 372 $(M+H)^+$.

Los ejemplos siguientes 2 - 23 fueron preparados por esencialmente el mismo método como descrito por **B1**.

Ejemplo 2: 3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B2)

B2 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 4-fluoro-2-metoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{17}H_{16}FN_5O_3S$ requiere: 389, encontrado: 390 $(M+H)^+$.

Ejemplo 3: 3-[(4-(5-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B3)

B3 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 5-fluoro-2-metoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{17}H_{16}FN_5O_3S$ requiere: 389, encontrado: 390 $(M+H)^+$.

Ejemplo 4: 3-[(4-(6-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B4)

B4 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 6-fluoro-2-metoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{17}H_{16}FN_5O_3S$ requiere: 389, encontrado: 390 $(M+H)^+$.

Ejemplo 5: 3-[(4-(3,5-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno- metansulfonamida (B5)

B5 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 3,5-difluoro-2-metoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{17}H_{15}F_2N_5O_3S$ requiere: 407, encontrado: 408 $(M+H)^+$.

Ejemplo 6: 3-[(4-(4-cloro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno- metansulfonamida (B6)

B6 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 4-cloro-2-metoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{17}H_{15}ClN_5O_3S$ requiere: 405, encontrado: 406 $(M+H)^+$.

Ejemplo 7: 3-[(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno- metansulfonamida (B7)

B7 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 5-cloro-2-metoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{17}H_{15}ClN_5O_3S$ requiere: 405, encontrado: 406 $(M+H)^+$.

Ejemplo 8: 3-[(4-(2-metoxi-4-trifluorometil-fenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino]-benceno- metansulfonamida (B8)

B8 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 2-metoxi-4-trifluorometilfenilborónico. MS (ESI) $C_{18}H_{16}F_3N_5O_3S$ requiere: 439, encontrado: 440 $(M+H)^+$.

Ejemplo 9: 3-[(4-(2-metoxi-5-trifluorometil-fenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino]-benceno- metansulfonamida (B9)

B9 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 2- metoxi-5-trifluorometilfenilborónico. MS (ESI) $C_{18}H_{16}F_3N_5O_3S$ requiere: 439, encontrado: 440 $(M+H)^+$.

Ejemplo 10: 3-[(4-(5-hidroxymetil-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino]-benceno- metansulfonamida (B10)

B10 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 5-hidroximetil-2-metoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{18}H_{19}N_5O_4S$ requiere: 401, encontrado: 402 $(M+H)^+$.

Ejemplo 11: 3-[(4-(5-formil-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno- metansulfonamida (B11)

B11 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 5-formil-2-metoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{18}H_{17}N_5O_4S$ requiere: 399, encontrado: 400 $(M+H)^+$.

Ejemplo 12: 3-[(4-(2-etoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B12)

B12 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 2-etoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{18}H_{19}N_5O_3S$ requiere: 385, encontrado: 386 $(M+H)^+$.

Ejemplo 13: 3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B13)

B13 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 2-benciloxifenilborónico. MS (ESI) $C_{23}H_{21}N_5O_3S$ requiere: 447, encontrado: 448 $(M+H)^+$.

Ejemplo 14: 1-(3-{[4-(2-fenoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)metansulfonamida (B14)

B14 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 2-fenoxifenilborónico.
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 4.17 (s, 2H), 6,83 (m, 2H), 6,91 (m, 2H), 7,03 (m, 4H), 7,29 (m, 3H), 7,52 (m, 2H), 7,93 (br, 2H), 8,72 (s, 1H), 10,31 (s, 1H).

Ejemplo 15: 3-[(4-(1,3-benzodioxol-4-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B15)

B15 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido (1,3-benzodioxol-4-il)borónico. MS (ESI) $C_{17}H_{15}N_5O_4S$ requiere: 385, encontrado: 386 $(M+H)^+$.

Ejemplo 16: 3-[(4-(2-((4-piridinil)metoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B16)

B16 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y **A9**. MS (ES) $C_{22}H_{20}N_6O_3S$ requiere: 448, encontrado: 449 $(M+H)^+$.

Ejemplo 17: 3-[(4-(2-(4-(tert-butoxicarbonilamino)butoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B17)

B17 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y **A10**. MS (ESI) $C_{25}H_{32}N_6O_5S$ requiere: 528, encontrado: 529 $(M+H)^+$.

Ejemplo 18: 3-[(4-(4-metoxipiridin-3-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B18)

B18 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 4-metoxi-3-piridinil-borónico. MS (ESI) $C_{16}H_{16}N_6O_3S$ requiere: 372, encontrado: 373 $(M+H)^+$.

Ejemplo 19: 3-[(4-(3-metoxipiridin-4-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B19)

B19 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 3-metoxi-4-piridinil-borónico. MS (ESI) $C_{16}H_{16}N_6O_3S$ requiere: 372, encontrado: 373 $(M+H)^+$.

Ejemplo 20: 3-[(4-(2-((morfolin-4-il)metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B20)

B20 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido (2-((morfolin-4-il)metil)fenil)borónico. MS (ES) $C_{21}H_{24}N_6O_3S$ requiere: 440, encontrado: 441 $(M+H)^+$.

Ejemplo 21: 3-[(4-(2-((piperidin-1-il)metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B21)

B21 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido (2-((piperidin-1-il)metil)fenil)borónico. MS (ESI) $C_{22}H_{26}N_6O_2S$ requiere: 438, encontrado: 439 $(M+H)^+$.

Ejemplo 22: 3-[(4-(2-(ciclopropilamino-metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino]-benceno-metansulfonamida (B22)

B22 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido (2-(ciclopropilamino-metil)fenil)borónico. MS (ESI) $C_{20}H_{22}N_6O_2S$ requiere: 410, encontrado: 411 $(M+H)^+$.

Ejemplo 23: 3-[(4-(6-aminopiridin-3-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B23)

B23 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y 5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-amina. MS (ESI) $C_{20}H_{22}N_6O_2S$ requiere: 357, encontrado: 358 $(M+H)^+$.

Ejemplo 24: 3-[(4-(2-(metoximetil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B24)

B24 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** (400 mg, 1,33 mmol) y ácido (2-(metoximetil)fenil)borónico (221 mg, 1,33 mmol); rendimiento: 6 mg, 1,2%). MS (ESI) $C_{18}H_{19}N_5O_3S$ requiere: 385, encontrado: 386 $(M+H)^+$.

Ejemplo 25: 3-[(4-(2-metoxifenyl)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida (C1)

Una mezcla de **A2** (1,0 eq), ácido 2-metoxifenilborónico (1,5 eq) y K_3PO_4 (2,0 eq) en dioxano-agua (50:1, 0,1M) fue degasada con una corriente de N_2 por 15min. $Pd(dppf)Cl_2$ (0,1 eq) fue añadido y la mezcla reactiva fue calentada a 140°C por 1 h en el horno microonda. La mezcla fue concentrada bajo presión reducida y el residuo fue purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_2O (0.1% ATF) y MeOH (0,1% ATF) como eluentes. Las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular **C1** (45%) como polvo blanco. ^1H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,86 (s, 3H), 7,08 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,21 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,37 (s, 2H), 7,55 (m, 4H), 7,80 (m, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 10,70 (s, 1H). MS (ES) $C_{16}H_{15}N_5O_3S$ requiere: 357, encontrado: 358 $(M+H)^+$.

Ejemplo 26: 2-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-etansulfonamida (D1)

Una mezcla de **A5** (1,0 eq, 65% puridad), ácido 2-metoxifenilborónico (1,5 eq) y K_3PO_4 (2,0 eq) en dioxano-agua (50:1, 0,1M) fue degasada con una corriente de N_2 por 15 min. $Pd(dppf)Cl_2$ (0,1 eq) fue añadido y la mezcla reactiva fue calentada a 140°C por 1 h en el horno microonda. La mezcla fue concentrada bajo presión reducida y el residuo fue purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_2O (0,1% ATF) y MeOH (0,1% ATF) como eluentes. Las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular **D1** (6%) como polvo blanco. ^1H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,02 (m, 2H), 3,26 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 6,90 (br. s, 2H), 7,04 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,12 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,22 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,32 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,58 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,68 (m, 2H), 7,85 (br.s, 1H), 8,86 (s, 1H), 10,70 (s, 1H). MS (ESI) $C_{18}H_{19}N_5O_3S$ requiere: 385, encontrado: 386 $(M+H)^+$.

Ejemplo 27: 2-[3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)-fenil]-etansulfonamida (D2)

D2 fue preparado según el procedimiento general reportado para **D1** usando **A5** y ácido 4-fluoro-2-metoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{18}H_{18}FN_5O_3S$ requiere: 403, encontrado: 404 $(M+H)^+$.

Ejemplo 28: 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benzamida (E1)

E1 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A6** y ácido 2-metoxifenilborónico. Después de RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_2O y MeOH como eluentes las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular **E1** (35%) como polvo blanco. ^1H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3.85 (s, 3H) 6,91 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,07 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 7,19 (d, J =8,3 Hz, 1H), 7,36 (m, 1H), 7,42 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,91 (br. s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 10,61 (s, 1H). MS (ESI) $C_{17}H_{15}N_5O_2$ requiere: 321, encontrado: 322 $(M+H)^+$.

Ejemplo 29: 6-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-2,3-dihidro-1H-indol-1-sulfonamida (F1)

F1 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A8** y ácido 2-metoxifenilborónico. MS (ESI) $C_{18}H_{18}N_6O_3S$ requiere: 398, encontrado: 399 $(M+H)^+$.

Ejemplo 30: rac-S-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-N-etoxicarbonil-S-metil-sulfoximida (G1)

El compuesto titular **G1** fue preparado de **A7** y ácido 2-metoxifenilborónico según el procedimiento general reportado para **B1**. MS (ESI) $C_{20}H_{21}N_5O_3S$ requiere: 427, encontrado: 428 $(M+H)^+$.

Ejemplo 31: 4-(2-metoxifenil)-N-(3-nitrofenil)-1,3,5-triazin-2-amina (H1)

H1 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A3** y ácido 2-metoxifenilborónico. ^1H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,84 (s, 3H), 7,08 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,21 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,53 (t, J = 8,7 Hz, 1H), 7,63 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 7,79 (br. s, 1H), 7,90 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 8,24 (br.s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 10,75 (s, 1H). MS (ESI) $C_{16}H_{13}N_5O_3$ requiere: 323, encontrado: 324 $(M+H)^+$.

Ejemplo 32: 3-[(4-(2-(4-aminobutoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (I1)

La triazina **B17** (25 mg, 0,047 mmol) fue disuelta en una mezcla de ATF (2 ml) y DCM (2 ml). La deprotección fue completa después de agitar por 1 hora a TA, como determinado por LC/MS. El solvente fue removido bajo presión reducida, y el residuo purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_2O (0,1% ATF) y MeOH (0,1% ATF) como eluentes. Las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular **I1** como sólido amarillo. MS (ESI) $C_{20}H_{24}N_6O_3S$ requiere: 428, encontrado: 429 $(M+H)^+$.

Ejemplo 33: N-(3-aminofenil)-4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-amina (J1)

Una mezcla de **H1** (1,0 eq) y Pd/C (10% p/p) en MeOH (0,1M) fue agitada por 16h a TA bajo atmósfera de H_2 (1 atm). La mezcla fue filtrada através de Celite® y el solvente fue evaporado bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por cromatografía Flash sobre gel de sílice (cHex/EtOAc = 100:0 a 0:100) para rendir el producto deseado **J1** (18%) como sólido amarillo. MS (ESI) $C_{16}H_{15}N_5O$ requiere: 293, encontrado: 294 $(M+H)^+$.

Ejemplo 34: N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-metansulfonamida (K1)

A una mezcla de **J1** (1.0 eq) y piridina seca (3,0 eq) en DCM (0,1 M) a 0°C fue añadido lentamente cloruro de metansulfonilo (2,0 eq). La mezcla fue agitada por 16h, templada por adición de MeOH, y concentrada bajo presión reducida. El residuo fue purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_2O (0,1% ATF) y MeOH (0,1% ATF) como eluentes. Las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular **K1** (44%) como polvo blanco. ^1H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 2,96 (s, 3H), 3,83 (s, 3H), 6,90 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,06 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 7,17 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,28 (t, J =8,1 Hz, 1H), 7,51 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 7,63 (m, 2H), 7,76 (br. s, 1H), 8,80 (s, 1H), 9,75 (s, 1H), 10,50 (s, 1H). MS (ESI) $C_{17}H_{17}N_5O_3S$ requiere: 371, encontrado: 372 $(M+H)^+$.

Ejemplo 35: N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-propansulfonamida (L1)

L1 fue preparado según el procedimiento general reportado para **K1** usando **J1** y cloruro de propan-1-sulfonilo. MS (ESI) $C_{19}H_{21}N_5O_3S$ requiere: 399, encontrado: 400 $(M+H)^+$.

Ejemplo 36: N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-acetamida (M1)

M1 fue preparado según el procedimiento general reportado para **K1** usando **J1** y cloruro de acetilo. ^1H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 2,02 (s, 3H), 3,83 (s, 3H), 7,06 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 7,24 (t, J =8,1 Hz, 1H), 7,29 (m, 1H), 7,52 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,91 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 9,92 (s, 1H), 10,40 (s, 1H). MS (ESI) $C_{18}H_{17}N_5O_2$ requiere: 335, encontrado: 336 $(M+H)^+$.

Ejemplo 37: N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-N'-fenil-urea (N1)

Una mezcla de **J1** (1,0 eq), isocianato de fenilo (2,0 eq) y piridina (3,0 eq) en DCM seca (0,01M) fue agitada por 12 h a TA. La mezcla fue concentrada bajo presión reducida y disuelta con un mínimo de DMSO. Se añadió agua y el precipitado fue eliminado por filtración. El sólido blanco fue lavado con agua y secado *in vacuo*, así rindiendo el producto deseado **N1** (62%). ^1H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,83 (s, 3H), 6,97 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 7,06 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,28 (m, 4H), 7,46 (m, 3H), 7,51 (m, 2H), 7,80 (s, 1H), 8,60 (m, 2H), 8,80 (s, 1H), 10,26 (s, 1H). MS (ESI) $C_{23}H_{20}N_6O_2$ requiere: 412, encontrado: 413 $(M+H)^+$.

Ejemplo 38: 3-[(4-(2-metoxi-5-(metilamino-metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino]-benceno-metansulfonamida (O1)

Borohidrato de sodio (1,5 eq) fue añadido a la mezcla de **B11** y una solución de metilamina (MeOH, 2M, 2,0 eq.) en MeOH (0,1M) a 0°C. Después de 2 h la mezcla reactiva fue agitada por otras 12 h a TA. La solución fue diluida con EtOAc, y la capa orgánica fue lavada sucesivamente con una solución sat. aq. de $NaHCO_3$ y con salmuera. Después de secar sobre Na_2SO_4 el solvente fue removido *in vacuo*. El residuo fue purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_2O (0,1% ATF) y MeOH (0,1% ATF) como eluentes. Las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular **O1** (3%) como polvo blanco. MS (ESI) $C_{19}H_{22}N_6O_3S$ requiere: 414, encontrado: 415 $(M+H)^+$.

Ejemplo 39: 4-(2-metoxifenil)-N-fenil-1,3,5-triazin-2-amina (P1)

Una mezcla de 2-metoxibenzamida (1,0 eq) y acetal dimetílico de la N,N-dimetilformamida (1,4 eq) fue calentada a 80°C por 1h. El exceso del reactivo fue removido bajo presión reducida. El producto crudo fue disuelto en 1,4-dioxano (0,2M) seguido de una adición de carbonato de fenilguanidina (0,43 eq) y tert-butóxido de potasio (0,41 eq). La mezcla reactiva fue agitada bajo reflujo y atmósfera de N_2 por 12 h. Después de remover el solvente el residuo fue purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_2O (0,1% ATF) y MeOH (0,1% ATF) como eluentes. Las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular **P1** (20%) como polvo

blanco. ^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,87 (s, 3H), 7,08 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 7,20 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,35 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 7,54 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,81 (m, 3H), 8,81 (s, 1H), 10,50 (s, 1H). MS (ESI) $C_{16}H_{14}N_4O$ requiere: 278, encontrado: 279 $(M+H)^+$.

Ejemplo 40: tert-butil-[4-((3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino)fenil)metilsulfonamido)butil]-carbamato (Q1)

A una solución del intermediario crudo **A12** (3,62 g, 7,7 mmol) en dioxano / agua 50:1 (75 mL) fueron añadidos ácido 4-fluoro-2-metoxibencenoborónico (1,96 g, 11,5 mmol) y K_3PO_4 (3,26 g, 15,4 mmol). Una corriente de nitrógeno fue guiada através de la mezcla por 15 minutos, seguido de una adición de $Pd(dppf)Cl_2$ (0,63 g, 0,77 mmol). Después de otros 15 minutos de nitrógeno la mezcla fue agitada toda la noche a 140°C, enfriada a TA, y derramada en agua helada. Fue extraída con EtOAc y la capa orgánica fue secada sobre $MgSO_4$. El solvente fue removido bajo presión reducida y el compuesto titular **Q1** fue obtenido como sólido amorfo (1,1 g, 25%) después de cromatografía en columna (gel de sílice, gradiente de $CHCl_3$ / MeOH 100:0 a 90:10). ^{1}H RMN (300MHz, $CDCl_3$, 300K) δ 1,10-1,23 (m, 2H), 1,35 (s, 9H), 1,40-1,48 (m, 2H), 1,53 (s, 1H), 2,90-3,11 (m, 4H), 3,85 (s, 3H), 4,20 (s, 2H), 4,48 (bs, 1H), 6,61-6,72 (m, 2H), 6,92 (bs, 1H), 7,10-7,21 (m, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,70-7,97 (m, 3H), 8,56 (bs, 1H). MS (ESI) $C_{26}H_{33}FN_6O_5S$ requiere: 560, encontrado: 561 $(M+H)^+$, 461 $(M+H-COOC(CH_3)_3)^+$.

Ejemplo 41: N-(4-aminobutil)-1-[3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-metansulfonamida (R1)

Una solución de **Q1** (1,10 g, 1,96 mmol) en DCM (20 mL) fue enfriada con hielo mientras ATF (2,24 g, 19,6 mmol) fue añadido gota por gota durante 15 minutos. Después de agitar a TA por 2 horas el solvente fue removido bajo presión reducida. El residuo fue disuelto en EtOAc y la solución orgánica fue lavada con sat. aq. $NaHCO_3$, secada sobre $MgSO_4$ y concentrada *in vacuo*. El compuesto titular **R1** fue obtenido como polvo blanco (66 mg, 7%) después de purificación por cromatografía en columna (gel de sílice, gradiente de $CHCl_3$ / MeOH 9:1 a 5:1 conteniendo 1% trietilamina). ^{1}H RMN (300MHz, MeOD, 300K) δ 1,28-1,50 (m, 2H), 1,50-1,68 (m, 2H), 2,71-2,82 (m, 2H), 2,82-2,97 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 4,21 (s, 2H), 6,66-6,78 (m, 1H), 6,81-6,92 (m, 1H), 7,02-7,12 (m, 1H), 7,20-7,36 (m, 1H), 7,60-7,90 (m, 3H), 8,58 (s, 1H). MS (ESI) $C_{21}H_{25}FN_6O_3S$ requiere: 460, encontrado: 461 $(M+H)^+$.

Ejemplo 42: 4-(2-metoxifenil)-N-(3-(metilsulfonil)fenil)-1,3,5-triazin-2-amina (S1)

S1 fue preparado del crudo **A13** (370 mg, 1,3 mmol) y ácido 2-metoxibencenoborónico (303 mg, 2 mmol) según el procedimiento descrito para **Q1**. El compuesto titular **S1** fue purificado por cromatografía de capa gruesa (gel de sílice, cloroformo / MeOH 9:1) para dar una carga de 54 mg que fue purificada de nuevo en RP-HPLC de fase inversa (columna: C18; gradiente de H_2O / MeOH conteniendo 0,1% ATF); rendimiento: 1,8 mg, sólido amorfo blanco. ^{1}H RMN (400MHz, $CDCl_3$, 300K) δ 3,08 (s, 3H), 3,94 (s, 3H), 7,04-7,11 (m, 2H), 7,50 (dt, J = 7,4Hz, J = 1,8 Hz, 1H), 7,56 (t, J = 8,0Hz, 1H), 7,61 (bs, 1H), 7,68 (bd, J = 7,8Hz, 1H), 7,90-8,01 (bm, 2H), 8,41 (s, 1H), 8,89 (s, 1H). MS (ESI) $C_{17}H_{16}N_4O_3S$ requiere: 356, encontrado: 357 $(M+H)^+$.

Ejemplo 43: 4-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (T1)

T1 fue preparado del crudo **A14** (390 mg, 1,3 mmol) y ácido 2- metoxibencenoborónico (303 mg, 2 mmol) según el procedimiento descrito para **Q1**. El compuesto titular **T1** fue purificado por cromatografía de capa gruesa (gel de sílice, cloroformo / MeOH 9:1) y obtenido como sólido amorfo blanco; rendimiento: 20 mg (4%). ^{1}H RMN (300MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,87 (bs, 3H), 4,21 (s, 2H), 6,82 (s, 2H), 7,07 (t, J = 7Hz, 1H), 7,13-7,25 (m, 1H), 7,34 (d, J = 9Hz, 2H), 7,47-7,59 (m, 1H), 7,70-7,97 (bm, 3H), 8,82 (s, 1H), 10,38 (s, 1H). MS (ESI) $C_{17}H_{17}N_5O_3S$ requiere: 371, encontrado: 372 $(M+H)^+$.

Los ejemplos siguientes 44 - 53 fueron preparados por esencialmente el mismo método como descrito para **B1**.

Ejemplo 44: 1-[3-({4-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)-fenil]-metansulfonamida (U1)

U1 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido [4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]borónico.
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 4,23 (s, 2H), 6,85 (s, 2H), 7,10 (m, 1H), 7,34 (m, 1H), 7,70 (m, 3H), 7,81 (m, 1H), 7,91 (m, 1H), 8,85 (s, 1H), 10,52 (s, 1H).

Ejemplo 45: 1-[3-({4-[4-fluoro-2-(propan-2-iloxi)fenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)-fenil]-metansulfonamida (U2)

U2 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido [4-fluoro-2-(propan-2-iloxi)fenil]borónico.
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 1,22 (d, 6H), 4,19 (s, 2H), 4,65 (m, 1H), 6,83 (m, 3H), 7,04 (m, 2H), 7,29 (m, 1H), 7,70 (br, 3H), 8,76 (s, 1H), 10,29 (s, 1H).

Ejemplo 46: 1-(3-{[4-(2-ciano-4-fluorofenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida (U3)

U3 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido (2-ciano-4-fluorofenil)borónico.
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 4,25 (s, 2H), 6,85 (s, 2H), 7,10 (m, 1H), 7,34 (m, 1H), 7,73 (br, 3H), 8,01 (m, 1H), 8,40 (br, 1H), 8,88 (s, 1H), 10,54 (s, 1H).

Ejemplo 47: N-[5-fluoro-2-(4-{[3-(sulfamoilmetil)fenil]amino}-1,3,5-triazin-2-il)fenil]-acetamida (U4)

U4 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido [2-(acetilamino)-4-fluorofenil]borónico.
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 2,10 (br, 3H), 4,26 (s, 2H), 6,88 (s, 2H), 7,05 (m, 1H), 7,15 (m, 1H), 7,39 (m, 1H), 7,70 (br, 2H), 8,39 (m, 1H), 8,56 (m, 1H), 8,88 (s, 1H), 10,52 (s, 1H), 12,40 (br, 1H).

Ejemplo 48: 1-[3-({4-[2-(ciclopropilmetoxi)-4-fluorofenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)fenil]-metansulfonamida (U5)

U5 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y 2-[2-(ciclopropilmetoxi)-4-fluorofenil]-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano.
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 0,29 (m, 2H), 0,46 (m, 2H), 1,15 (m, 1H), 3,95 (m, 2H), 4,22 (s, 2H), 6,84 (m, 3H), 7,06 (m, 2H), 7,33 (m, 1H), 7,74 (br, 3H), 8,79 (s, 1H), 10,31 (s, 1H).

Ejemplo 49: 1-(3-{[4-(3,4-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}-fenil)-metansulfonamida (U6)

U6 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido (3,4-difluoro-2-metoxifenil)borónico.
^{1}H NMR (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,91 (br, 3H), 4,24 (s, 2H), 6,85 (s, 2H), 7,07 (m, 1H), 7,35 (m, 2H), 7,73 (m, 3H), 8,84 (s, 1H), 10,39 (s, 1H).

Ejemplo 50: 1-(3-{[4-(4,5-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}-fenil)-metansulfonamida (U7)

U7 fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido (4,5-difluoro-2-metoxifenil)borónico.
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,87 (s, 3H), 4,23 (s, 2H), 6,84 (s, 2H), 7,08 (m, 1H), 7,36 (m, 2H), 7,80 (br, 3H), 8,80 (s, 1H), 10,39 (s, 1H).

Ejemplo 51: 4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-N-[6-(metilsulfonil)piridin-3-il]-1,3,5-triazin-2-amina (U8)

DIPEA (0,23 ml; 1,33 mmol) fue añadido a una solución de 2,4-dicloro-1,3,5-triazina en THF/iPrOH (1,30 ml; 1/1) a -40°C. Una suspensión de 5-amino-2-metilsulfonilpiridina (115 mg; 0,67 mmol; preparada de acuerdo a H.S. Forrest y J. Walker, J. Chem. Soc., 1948, 1939-1945) en THF/iPrOH (0.7 ml; 1/1) fue añadida. La mezcla reactiva fue agitada a -40°C por 3,5 horas antes de ser agitada a 0°C por 3,5 horas. Los solventes fueron removidos suavemente usando un rotovab mientras la temperatura del baño de agua permanecía bajo 30°C, para dar el crudo 4-cloro-N-[6-(metilsulfonil)piridin-3-il]-1,3,5-triazin-2-amina (420 mg) que fue usado sin otra purificación.

Una mezcla de 86 mg del producto crudo, ácido (4-fluoro-2-metoxifenil)borónico (76 mg; 0,45 mmol) y K_3PO_4 (127 mg; 0,60 mmol) en dioxano/agua (3 ml; 20/1) fue degasada con una corriente de N_2 por 15min. $Pd(dppf)Cl_2$ (123 mg; 0,15 mmol) fue añadido y la mezcla reactiva calentada a 140°C por 1 h en el horno microonda. La mezcla fue concentrada bajo presión reducida y el residuo fue purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_2O (0,1% HCOOH) y acetonitrilo como eluentes. Las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular como sólido blanco.
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,21 (s, 3H), 3,91 (s, 3H), 6,90 (m, 1H), 7,11 (m, 1H), 8,03 (m, 2H), 8,57 (m, 1H), 8,91 (s, 1H), 9,17 (br, 1H), 10,94 (s, 1H).

Ejemplo 52: 1-(3-{[4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida clorhidrato (B2')

1-(3-{[4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida (914 mg; 2,35 mmol) fue suspendido en una solución acuática de clorhidrato (1N; 2.35 ml) y agitado por 4 horas a temperatura ambiental. La mezcla fue concentrada bajo presión reducida para dar el producto deseado (980 mg; 2,30 mmol).
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,90 (s, 3H), 4,23 (s, 2H), 6,91 (m, 3H), 7,13 (m, 2H), 7,37 (m, 1H), 7,81 (m, 3H), 8,82 (s, 1H), 10,83 (s, 1H).

Ejemplo 53: trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B1')

Una mezcla de 3-[(4-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (1,0 eq), ácido 2-metoxibencenoborónico (1,5 eq) y K_3PO_4 (2.0 eq) en dioxano/agua (50/1, 0,1M) fue degasada con una corriente de

N_2 por 15 min. Pd(dppf)Cl_2 (0,1 eq) fue añadido y la mezcla reactiva fue calentada a 140°C por 1 h en la microonda. La mezcla fue concentrada bajo presión reducida y el residuo fue purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_20 (0,1% ATF) y MeOH (0,1% ATF) como eluentes, las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular (**B1'**) (2%) como polvo blanco. ^{1}H RMN (400MHz, DMSO, 300K) δ 3,87 (s, 3H), 4,25 (s, 2H), 6,87 (s, 2H), 7,10 (m, 2H), 7,21 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7,37 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,55 (m, 2H), 7,84 (br. s, 1H), 8,82 (s, 1H), 10,52 (s, 1H). MS (ESI) $C_{17}H_{17}N_5O_3S$ requiere: 371, encontrado: 372 $(M+H)^+$.

Ejemplo 54: trifluoroacetato de 3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B13')

B13' fue preparado según el procedimiento general reportado para **B1** usando **A1** y ácido 2-benciloxifenilborónico como descrito en ejemplo 53.
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 4,22 (s, 2H), 5,24 (s, 2H), 6,85 (br. s, 2H), 7,08 (m, 2H), 7,19-7,34 (m, 5H), 7,41-7,61 (m, 3H), 7,69 (s, 1H), 7,80 (m, 2H), 8,86 (s, 1H), 10,53 (s, 1H). MS (ESI) $C_{23}H_{21}N_5O_3S$ requiere: 447, encontrado: 448 $(M+H)^+$.

Ejemplo 55: trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida (C1')

Una mezcla de **A2** (1,0 eq), ácido 2-metoxibencenoborónico (1,5 eq) y K_3PO_4 (2,0 eq) en dioxano-agua (50:1, 0,1M) fue degasada con una corriente de N_2 por 15min. Pd(dppf) (0,1 eq) fue añadido y la mezcla reactiva fue calentada a 140^{0}C por 1 h en el horno microonda. La mezcla fue concentrada bajo presión reducida y el residuo fue purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_20 (0,1% ATF) y MeOH (0,1% ATF) como eluentes, las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular **C1'** (45%) como polvo blanco.
^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,86 (s, 3H), 7,08 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,21 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,37 (s, 2H), 7,55 (m, 4H), 7,80 (m, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 10,70 (s, 1H). MS (ESI) $C_{16}H_{15}N_5O_3S$ requiere: 357, encontrado: 358 $(M+H)^+$.

Ejemplo 56: trifluoroacetato de 3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B2'')

Una mezcla de **A2** (1,0 eq), ácido 4-fluoro-2-metoxibencenoborónico (1,5 eq) y K_3PO_4 (2,0 eq) en dioxano-agua (50:1, 0,1M) fue degasada con una corriente de N_2 por 15 min. Pd(dppf) (0,1 eq) fue añadido y la mezcla reactiva fue calentada a 140°C por 1 h en el horno microonda. La mezcla fue concentrada bajo presión reducida y el residuo fue purificado por RP-HPLC de fase inversa (columna: C18), usando H_20 (0,1% ATF) y MeOH (0,1% ATF) como eluentes, las fracciones deseadas fueron liofilizadas para rendir el compuesto titular **B2''** (23%) como polvo blanco. ^{1}H RMN (400MHz, d_6-DMSO, 300K) δ 3,89 (s, 3H), 4,24 (s, 2H), 6,90 (m, 3H), 7,11 (m, 2H), 7,36 (t, J = 7.,9Hz, 1H), 7,72 (m, 1H), 7,90 (m, 2H), 8,81 (s, 1H), 10,63 (s, 1H). MS (ESI) $C_{17}H_{16}FN_5O_3S$ requiere: 389, encontrado: 390 $(M+H)^+$.

Materiales y métodos:

1. Medición de la afinidad de unión a CDKs

Este protocolo describe como el ensayo de unión de quinasa LanthaScreen Eu fue realizado para determinar las constantes de disociación (K_d) para compuestos de la fórmula general (I) y complejos CDK/ciclina. El principio de este ensayo está basado en la unión y el desplazamiento de un marcador etiquetado fluoro 647 Alexa que se une con el sitio activo de quinasas. La unión del marcador se detecta usando un anticuerpo EU etiquetado. La unión simultánea del marcador y del anticuerpo a la quinasa induce una señal FRET. La unión de un inhibidor con la quinasa compite con la unión con el marcador, lo que resulta en una perdida de FRET.

Tabla 2: Reactivos, concentraciones stock y concentraciones finales del ensayo

quinasa	proveedor	conc. quinasa [nM]	marcador	proveedor	conc marc. [nM]	anticuerpo	proveedor	conc. antic.
CDK2/ciclina A (135 kDa)	Proqinase	5	236	Invitrogen	20	Eu-Anti-GST	Cisbio	1:750
CDK7/ ciclina H/Mat1 (126 kDa)	Carna Biosciences	5	236	Invitrogen	60	Eu-Anti-GST	Invitrogen	2nM
CDK8/ ciclina C (97kDa)	Invitrogen	5	236	Invitrogen	20	Eu-Anti-GST	Invitrogen	2nM
CDK9/ ciclina T1 (132 kDa)	Invitrogen	5	236	Invitrogen	30	Eu-Anti-GST	Cisbio	1:250
CDK9/ ciclina K (92 kDa)	Invitrogen	10	236	Invitrogen	35	Eu-Anti-GST	Invitrogen	4nM

Los compuestos de la fórmula general (I) resumidos en Tabla 1 fueron diluidos desde una solución stock de 10 mM DMSO 1:10 en un volumen total de15 µL DMSO. Entonces esta predilución del compuesto fue diluida en serie 1:3 sobre 8 pasos en DMSO y brevemente centrifugado. Cada solución de componente fue diluida entonces 1:33,33 en tampón de quinasa (HEPES: 20 mM, pH: 8,0; $MgCl_2$: 10 mM; DTT: 1 mM; Brij-35: 0,01%), mezclada completamente y centrifugada. Para cada muestra, 5 µL del compuesto diluido fueron mezclados con 5 µL de la solución de trabajo del marcador (p.ej. 60 nM marcador 236 en tampón quinasa para CDK2/ciclina A) y 5 µL CDK/ciclina /solución de trabajo anti-GST-AB (p.ej. 15 nM CDK2/ciclina A, dilución 1:250 de anti-GST-AB en tampón quinasa) en un pocillo de volumen pequeño en una placa de 384 pocillos (Corning Incorporated, Corning, NY, EEUU; no. de pedido 3673). La concentración del marcador fue ajustada a su constante de disociación (K_d) para CDK/ciclina, que fue 30 nM para CDK2/ciclina A, CDK7/ciclina H y CDK9/ciclina T1, 20 nM para CDK8/ciclina C, y 35 nM para CDK9 / ciclina K. Para controles negativos, en cada pocillo 5 µL de solución de trabajo de DMSO (3% DMSO diluido en tampón quinasa) fueron mezclados con 5 µL de solución de trabajo anti-GST-AB (p.ej. dilución 1:250 de anti-GST-AB en tampón quinasa para CDK2/ciclina A) y 5 µL de solución de trabajo del marcador (p.ej. 60 nM marcador 236 en tampón quinasa para CDK2/ciclina A). Para controles positivos, en cada pocillo 5 µL de solución de trabajo de DMSO (3% DMSO diluido en tampón quinasa) fueron mezclados con 5 µL de solución de trabajo de CDK/ciclina/anti-GST-AB: (p.ej. 15 nM CDK2/ciclina A, dilución 1:250 de anti-GST-AB en tampón quinasa) y 5 µL de solución de trabajo del marcador (p.ej. 60 nM marcador 236 en tampón quinasa para CDK2/ciclina A). Controles positivos y negativos fueron calculados de al menos 8 pocillos de muestra diferentes. Las placas de 384 pocillos fueron mezcladas en un agitador de placa Teleshaker (Beckman Coulter, Brea, CA, EEUU) a 2000 rpm para 40 sec, y incubadas para 1h a temperatura ambiental antes de leer. La señal FRET fue medida a 340 nm de excitación, 665 nm y 615 nm de emisión (para el marcador de quinasa y LanthaScreen Eu-AB, respectivamente) con un espectrofotometro Envision (Perkin Elmer, Waltham, MA, EEUU) con 50 µs de dilación y 300 µs de tiempo de integración. Los valores K_d fueron determinados desde la curva dosis-respuesta sigmoidal con el software Quattro Workflow (Quattro GmbH, Munich, Alemania). Resultados están presentados en Tabla 4.

2. Medición de la concentración inhibitoria medio máxima con CDKs

Este protocolo describe como el ensayo Lance Ultra KinaSelect fue realizado para determinar la concentración inhibitoria medio máxima (IC_{50}) de compuestos de la fórmula general (I) y de complejos CDK/ciclina. El principio de este ensayo está basado en la fosforilación del sustrato péptido U*light*. Está detectada por uso de un anticuerpo de antifosfo péptido EU etiquetado. La unión de este anticuerpo de antifosfo péptido EU etiquetado con el peptido U*light* etiquetado fosforilado induce una señal FRET. La unión de un inhibidor con la quinasa previene la fosforilación del sustrato U*Light*-MBP lo que resulta en una perdida de FRET.

Tabla 3: Reactivos, concentraciones stock y concentraciones finales de ensayo

quinasa	proveedor	conc. quinasa [nM]	conc. ATP [µM]	sustrato	proveedor	conc. sustrato [nM]	anticuerpo	proveedor	conc. antic. [nM]
CDK1/ ciclina B1 (91 kDa)	Carna	2	20	Ulight MBP	Perkin Elmer	50	Eu-anti-P-MBP	Perkin Elmer	0,25
CDK2/ ciclina A (135 kDa)	Proqinase	5	3	Ulight MBP	Perkin Elmer	50	Eu-anti-P-MBP	Perkin Elmer	0,25
CDK4/ ciclina D1 (123 kDa)	Invirtogen	10	90	Ulight MBP	Perkin Elmer	50	Eu-anti-P-MBP	Perkin Elmer	0,25
CDK6/ ciclina D3 (123 kDa)	Carna	5	55	Ulight MBP	Perkin Elmer	50	Eu-anti-P-MBP	Perkin Elmer	0,025
CDK7/ ciclina H/MAT1 (126 kDa)	Invitrogen	10	25	Ulight MBP	Perkin Elmer	50	Eu-anti-P-MBP	Perkin Elmer	0,25
CDK9/ ciclina T1 (132 kDa)	Invitrogen	10	25	Ulight MBP	Perkin Elmer	50	Eu-anti-P-MBP	Perkin Elmer	0,25
CDK9/ ciclina K (92 kDa)	Invitrogen	10	125	Ulight MBP	Perkin Elmer	50	Eu-anti-P-MBP	Perkin Elmer	0,25

Los compuestos de la fórmula general (I) resumidas en Tabla 5 fueron diluidos desde una solución stock de DMSO 1:10 en un volumen total de 15 µL DMSO. Entonces esta predilución del compuesto fue diluida en serie 1:3 sobre 8 pasos en DMSO y brevemente centrifugada. Cada solución de componente fue diluida entonces 1:20 en tampón enzimático (HEPES: 50 mM, pH: 7,5; $MgCl_2$: 10 mM; EGTA: 1 mM; DTT: 2mM; Tween-20: 0,01%), mezclada enteramente y centrifugada. Para cada muestra 2 µL del compuesto diluido fueron mezclados con 6 µL de solución CDK/ciclina/solución de substrato y 2 µL de solución de ATP en un pocillo de una placa de 384 pocillos de volumen pequeño (Corning Incorporated, Corning, NY, EEUU; no. de pedido 3673). La CDK/ciclina fue diluida a la concentración apropiada (vea Tabla 3) y la concentración de ATP fue ajustada a su concentración IC_{50} para la CDK/ciclina, que fue 3 µM para CDK2/ciclina A, 20 µM para CDK1/ciclina B1, 25 µM para CDK7/ciclina H y CDK9/ciclina T1, 55 µM para CDK6/ciclina D3, 90 µM para CDK4/ciclina D1 y 125 µM para CDK9/ciclina K. Para controles negativos en cada pocillo 2 µL de la solución de DMSO (1% concentración final de DMSO en el ensayo) fueron mezclados con 6 µL de solución de sustrato (50 nM U*Light* MBP concentración final en el ensayo) y 2 µL de solución de ATP (concentración final apropiada vea Tabla 3). Para controles positivos en cada pocillo 2 µL de solución de DMSO (1% concentración final de DMSO en el ensayo) fueron mezclados con 6 µL de CDK/ciclina/substrato (concentración final apropiada vea Tabla 3) y 2 µL de solución de marcador ATP (concentración final apropiada vea Tabla 3). Controles positivos y negativos fueron calculados desde al menos 8 pocillos de muestra diferentes. Las placas de 384 pocillos fueron mezcladas en un agitador de placa Teleshaker (Beckman Coulter, Brea, CA, EEUU) a 2000 rpm para 40 sec, y incubadas para 1h a temperatura ambiental. Antes de leer 10 µL del tampón de detección (Lance Detection Buffer 1X; EDTA: 20nM; Eu-Anti-P-MBP: vea Tabla 3) fueron añadidos. La señal FRET fue medida a 340 nm de excitación, 665 nm y 615 nm de emisión (para el marcador de quinasa y LanthaScreen Eu-AB, respectivamente) con un espectrofotometro Envision (Perkin Elmer, Waltham, MA, EEUU) con 50 µs de dilación y 300 µs de tiempo de integración. Los valores IC_{50} fueron determinados desde curvas dosis-respuesta sigmoidales con el software Quattro Workflow (Quattro GmbH, Munich, Alemania). Los resultados están presentados en Tabla 5.

3. Ensayos celulares

3.1 Ensayo celular de fosforilación ARN polymerasa II Ser2:

Células HCT-116 (DSMZ, Braunschweig, Alemania) fueron mantenidas en el medio de cultura celular de Mc Coy y glutamina (PAN Biotech GmbH, Aidenbach, Alemania) suplementada con 10% suero fetal bovino (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria) y criadas a 37°C, 5% CO_2. Para el ensayo celular de fosforilación las células fueron sembradas con 2x105 células/pocillo/1ml en placas de 24 pocillos (Greiner Bio – One, Frickenhausen, Alemania; no. de catalogo 662160). Los compuestos de la fórmula general (I) resumidos en Tabla 6 fueron diluidos desde una solución stock de 10 mM de DMSO 1:10 en un volumen total de 15 µL DMSO. Después de una incubación de toda la noche a 37°C/5% CO_2 1,5 µL de un compuesto diluido en DMSO fueron añadidos a cada pocillo de muestra. Pocillos con células y 0,15 % DMSO en medio de cultura fueron usados como controles

positivos, pocillos sin células y 0,15 % DMSO en medio de cultura fueron usados como controles negativos. Las células fueron incubadas con los compuestos para 72h a 37°C/5% CO_2. Antes de lisis las células fueron lavadas con una salina de tampón de fosfato. La fosforilación de ARN polimerasa II Ser 2 y los niveles de tubulina para normalización fueron analizados en seguida con la tecnología Multi-Array (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, Maryland, EEUU), una combinación de detección de electroquimioluminescencia acoplada a anticuerpo y arreglos de matriz. Las instrucciones del productor fueron seguidas y todas las soluciones fueron adquiridas de Meso Scale Discovery. En breve, las células fueron lisadas por incubación de 30 min en tampón de lisis CLB1 (Zeptosens, Witterswil, Suiza 60 µL por pocillo), y sobrenadantes fueron eliminados por centrifugación. Para el análisis de fosforilación de ARN polimerasa II Ser2 los lisados fueron diluidos 1:50 con tampón de lisis de Meso Scale suplementado con inhibidores de fosfatasa y proteasa, y 25 µL de cada muestra fueron pipetados en un pocillo de una placa MSD Multi-Array 96-Well Plate Sector® Imager High Bind (Meso Scale Discovery; no. de catálogo L15XB-3/L11XB-3), y incubados por 2h a temperatura ambiental. 150 µL de tampón Meso Scale Tris Wash suplementados con 3% p/v bloqueador A Meso Scale fueron añadidos a cada pocillo, en seguida las placas fueron selladas y incubadas por 1h bajo agitación vigorosa. Las placas fueron lavadas con tampón 1x Tris Wash (tampón 10x Wash Meso Scale diluido 1:10 en agua destilada), 25 µL de solución de anticuerpos fueron añadidos (anticuerpo CTD7 3E10 del Centro Helmholtz, Munich, Alemania, diluido 1:100 en tampón Tris Wash Meso Scale con 1% w/v bloqueador A Meso Scale), y las placas fueron lavadas tres veces en tampón 1x Tris Wash. 25 µL de anticuerpo MSD® SULFO-TAG™ cabra - anti rata (Meso Scale Discovery, no. de catálogo R32AH-1, diluido 1:125 en tampón Tris Wash con 1% (w/v) bloqueador A) fueron añadidos a cada pocillo, las placas fueron selladas y incubadas bajo agitación vigorosa por 1h a temperatura ambiental. Finalmente las placas fueron lavadas tres veces con tampón Tris Wash, 150 µl tampón 2x Read (Meso Scale Discovery) fueron añadidos a cada pocillo y las placas fueron analizadas inmediatamente en un Sector Imager de Meso Scale Discovery. Para la determinación de niveles de proteína de tubulina las muestras fueron analizadas según en protocol para la fosforilación de ARN polimerasa II Ser2, con un anticuerpo anti-tubulina (conejo; BIODESIGN International, no. de catálogo T59840R, diluido 1:100) y un anticuerpo MSD® SULFO-TAG™ cabra - anti rata (Meso Scale Discovery, no. de catálogo R32AH-1, diluido 1:125). La fosforilación de ARN polimerasa II Ser2 fue normalizada con los niveles de proteína de tubulina, y los valores EC_{50} fueron calculadas con el software XLFit (IDBS, Guildford, Reino Unido) desde series de dilución doble comprendiendo 6 concentraciones en duplicados. Los resultados están presentados en Tabla 6.

3.2 Ensayo de reporteros NF-kappaB

Las células fueron mantenidas en un medio de cultura celular RPMI y glutamina (PAN Biotech GmbH, Aidenbach, Alemania) suplementado con 10% suero fetal bovino (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria) y criadas a 37°C, 5% CO_2. Células HEK293 criadas a 50% de confluencia fueron transfectadas con Amaxa® Cell Line Nucleofector® Kit V (Lonza, Basilea, Suiza, no. de catálogo VCA-1003). Las transfecciones fueron realizadas de acuerdo con el protocolo optimizado del productor para la transfección de células HEK293. En breve, $2x10^5$ células fueron transfectadas con 5 µg de ADN plasmídica altamente purificada. Las células fueron transfectadas con un plasmido de reportero de NF-kappa B (pNFkBluc), pTALluc para control, o pMAXGFP para el control de la transfección. Después de la transfección las células fueron transferidas a 500 µL de medio de cultura celular RPMI1640, incubadas por 1h a 37°C, y 4,5 ml DMEM sin rojo de fenol fueron añadidos por transfección. Las células transfectadas fueron sembradas en placas de 96 pocillos (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Alemania, no. de catálogo 655098) con 100 µL de suspensión celular por pocillo y incubadas por 48h. A cada pocillo 100 µL DMEM con el compuesto 2x concentrado diluido de soluciones stock de 10 mM DMSO, o 100 µL DMEM con 0,4% DMSO para pocillos de control, fueron añadidos. Los compuestos de la fórmula general (I) resumidos en Tabla 6 fueron usados en este ensayo. Las células fueron estimuladas con 20ng/ml TNF alfa, y las placas fueron incubadas por 5h a 37°C/5% CO_2. Los supernadantes de la cultura celular fueron removidos para dejar 100 µl de medio por porcillo, seguido de una adición de 100 µl reactivo de ensayo de luciferasa Bright Glo (Promega, Madison, WI, EEUU, no. de catálogo E2620), y agitación por 5 minutos en oscuridad. La luminescencia fue medida con un fotoespectrometro Victor (Perkin Elmer, Waltham, MA, EEUU). Los valores EC_{50} fueron calculados con el software Excel Fit (IDBS, Guildford, Reino Unido) desde series de dilución doble comprendiendo al menos 10 concentraciones en duplicados. Los resultados están presentados en Tabla 6.

3.3 Ensayo de liberación de TNF alfa

Células mononucleares de sangre periférica recién aisladas (PBMCs) fueron sembradas en placas de cultura celular de 96 pocillos con 200.000 células en 100 µl de medio de cultura celular (DMEM medio de cultura celular y glutamina de PAN Biotech GmbH, Aidenbach, Alemania) suplementado con 10% suero fetal bovino (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria) por pocillo y incubadas toda la noche a 37°C, 5% CO_2. A cada pocillo 100 µL medio de cultura celular con compuestos de prueba 2x concentrados diluidos desde soluciones stock de 10 mM DMSO, o 100 µL DMEM con 0,4% DMSO para pocillos de control, fueron añadidos. Los compuestos de la fórmula general (I) resumidos en Tabla 6 fueron usados en este ensayo. Después de una incubación por 1h a 37°C, 5% CO_2, las células fueron estimuladas con 1µg/mL LPS (lipopolisacarides, Sigma, no. de catálogo L4391-1MG; 1mg/ml de solución stock), o dejadas sin tratamiento para controles negativos, y las placas fueron incubadas por 6h a 37°C/5% CO_2. Las placas de cultura celular fueron centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos, y los supernadantes fueron transferidos a placas de polipropileno frescas con 96 pocillos. 25µL de los supernadantes fueron transferidos a placas de 96 pocillos del kit de cultura de tejido de TNF alfa humano (Meso Scale Discovery, Gaithersburg,

Maryland, EEUU), y las instrucciones del productor fueron seguidos por análisis de los niveles de TNF alfa. La quimioluminescencia fue medida en el Mesoscale Sector Imager, y los valores EC_{50} fueron calculados con el software Excel Fit (IDBS, Guildford, UK) desde series de dilución doble comprendiendo al menos 6 concentraciones en duplicados. Los resultados están presentados en Tabla 6.

3.4 Ensayos de viabilidad celular

Células HeLa o MDAMB468 o células MATU_ADR, H460, DU145, CACO-2 o B16F10 fueron mantenidas en medio de cultura celular RPMI 1640 o McCoy´s 5A y glutamina (PAN Biotech GmbH, Aidenbach, Alemania; no. de pedido P04-22100; P04-05500) suplementado con 10% suero fetal bovino "Gold" (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria; no. de pedido A15-151) y criadas a 37°C, 5% CO_2. Para el ensayo de viabilidad celular las células fueron sembradas con una densidad de 400 (células Hela, DSMZ Braunschweig no. de pedido ACC57) o 800 (células MDAMB468, ATCC no. de pedido HTB-132) por pocillo en 25 µL en placas de 384 pocillos (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Alemania; no. de pedido 781080). Después de una incubación de toda la noche a 37°C/5% CO_2, 25nL o 75nL del compuesto fueron añadidos a cada pocillo de muestra usando BIOMEK FXP Laboratory Automation Workstation (Beckman Coulter, USA). Pocillos con células y 0,1 % o 0,3% DMSO en medio de cultura fueron usados como controles positivos, pocillos con células y 10µM de estaurosporina en medio de cultura fueron usados como controles negativos. Las células fueron incubadas con los compuestos por 72h a 37°C/5% CO_2. Para medir la viabilidad celular 25 µL de reactivo Cell Titer Glo (Promega, Madison, EEUU; no. de pedido G7573), diluido 1:2 con el medio de cultura celular fueron añadidos a cada pocillo. Las placas de 384 pocillos fueron puestas por 2 min sobre un agitador de microplaca Orbital y incubadas por otros 10 min a temperatura ambiental para estabilizar la señal de luminescencia. La luminescencia fue medida con Envision Plate Reader (Perkin Elmer, EEUU). Los valores EC_{50} fueron calculados con el software Excel Fit (IDBS, Guildford, Reino Unido) desde series de dilución triple comprendiendo al menos 8 concentraciones en duplicados. Los resultados están presentados en Tablas 6 y 7.

3.5. Ensayo de quinasa CDK2/CycE

La actividad inhibitoria en CDK2/CycE de los compuestos de la presente invención fue cuantificada usando el ensayo CDK2/CycE TR-FRET como descrito en los siguientes párafos.

Proteínas de fusión recombinantes de glutatión S-transferasa (GST) y CDK2 humano y de GST y CycE humano, expresados en células de insecto (Sf-9) y purificados por cromatografía de afinidad glutatión-sefarosa, fueron adquiridas de ProQinase GmbH (Freiburg, Alemania). Un péptido biotinilado biotin-Ttds-YISPLKSPYKISEG (C-término en forma de amida), que puede ser adquirido p.ej. de la compañía JERINI Peptide Technologies (Berlin, Alemania), fue usado como sustrato para la reacción de quinasa.

Para el ensayo 50 nl de una solución concentrada 100 veces del compuesto de prueba en DMSO fueron pipetados en un pocillo de una placa de microtíter negra de 384 pocillos de pequeño volumen (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Alemania), 2 µl de una solución de CDK2/CycE en tampón acuático de ensayo [50 mM Tris/HCl, pH 8.0], 10 mM $MgCl_2$, 1.0 mM ditiotreitol, 0,1 mM ortho-vanadato de sodio, 0,01% (v/v) Nonidet-P40 (Sigma)] fueron añadidos. La mezcla fue incubada a 22 °C por 15 min para permitir una preunión de los compuestos de prueba a la enzima antes del inicio de la reacción de quinasa. Entonces la la reacción de quinasa fue iniciada por adición de 3 µl de una solución de adenosín trifosfato (ATP, 16,7 µM, resultando en una concentración final de 10 µM para un volumen de ensayo de 5 µl) y sustrato (1,25 µM, resultando en una concentración final de 0,75 µM para un volumen de ensayo de 5 µl) en tampón de ensayo. La mezcla obtenida fue incubada a 22 °C por 25 minutes. La concentración de CDK2/CycE fue ajustada en dependiencia de la activitidad del lote de enzima y fue escogida apropiadamente para mediciones en el margen linear del ensayo. Concentraciones típicas estuvieron alrededor de 130 ng/ml. La reacción fue detenida por la adición de 5 µl de una solución de reactivos de detección TR-FRET (0,2 µM estreptavidina-XL y 1 nM anticuerpo anti-RB(pSer807/pSer811) de BD Pharmingen [# 558389] y 1,2 nM anticuerpo IgG etiquetado de LANCE EU-W1024 anti ratón [Perkin-Elmer, no. de producto AD0077]) en una solución EDTA acuática (100 mM EDTA, 0,2 % (p/v) albúmina de suero bovino en 100 mM HEPES/NaOH, pH 7.0).

La mezcla obtenida fue incubada a 22 °C por una hora para permitir la formación de un complejo entre el péptido biotinilado fosforilado y los reactivos de detección. En seguida la cantidad del sustrato fosforilado fue evaluado midiendo la transferencia de energía de resonancia desde el Eu quelato a la estreptavidina-XL. Por esto las emisiones de fluorescencia a 620 nm y 665 nm después de una excitación a 350 nm fueron medidas en un lector de fluorometría de resolución temporal alta (HTRF), p.ej. un Rubystar (BMG Labtechnologies, Offenburg, Alemania) o un Viewlux (Perkin-Elmer). La ratio de las emisiones a 665 nm y a 622 nm fue tomada como medida para las cantidades del sustrato fosforilado. Los datos fueron normalizados, es de decir una reacción enzimática sin inhibidor corresponde a 0 % de inhibición, y todos los otros componentes del ensayo en ausencia de la enzima corresponden a 100 % de inhibición. Los valores IC_{50} fueron calculados por un fit de 4 parámetros usando software interno.

3.6 Ensayo de quinasa CDK9/CycT1

La actividad inhibitoria en CDK9/CycT1 de los compuestos de la presente invención fue cuantificada usando el ensayo CDK9/CycT1 TR-FRET como descrito en los siguientes párafos.

CDK9 humano recombinante His-etiquetado por completo y CycT1, expresados en células de insecto y purificados por cromatografía de afinidad Ni-NTA, fueron adquiridos de Invitrogen (no. de catálogo PV4131). Un péptido biotinilado biotin-Ttds-YISPLKSPYKISEG (C-término en forma de amida), que puede ser adquirido p.ej. de la compañía JERINI Peptide Technologies (Berlin, Alemania) fue usado como sustrato para la reacción de quinasa.

Para el ensayo 50 nl de una solución concentrada 100 veces del compuesto de prueba en DMSO fueron pipetados en un pocillo de una placa de microtíter negra de 384 pocillos de pequeño volumen (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Alemania), 2 µl de una solución de CDK9/CycT1 en tampón acuático de ensayo [50 mM Tris/HCl, pH 8.0], 10 mM $MgCl_2$, 1,0 mM ditiotreitol, 0,1 mM orto-vanadato de sodio, 0,01% (v/v) Nonidet-P40 (Sigma)] fueron añadidos. La mezcla fue incubada a 22 °C por 15 min para permitir una preunión de los compuestos de prueba con la enzima antes del inicio de la reacción de quinasa. En seguida la reacción de quinasa fue iniciada por la adición de 3 µl de una solución de adenosín trifosfato (ATP, 16,7 µM, resultando en una concentración final de 10 µM para un volumen de ensayo de 5 µl) y sustrato (1,25 µM, resultando en una concentración final de 0,75 µM para un volumen de ensayo de 5 µl) en tampón de ensayo. La mezcla obtenida fue incubada a 22 °C para un tiempo de reacción de 25 minutos. La concentración de CDK9/CycT1 fue ajustada en dependiencia de la actividad del lote de enzima y fue escogida apropiadamente para las mediciones en el margen linear del ensayo. Concentraciones típicas estuvieron alrededor de 1 µg/ml. La reacción fue detenida por la adición de 5 µL de una solución de reactivos de detección TR-FRET (0,2 µM estreptavidina-XL y 1 nM anticuerpo anti-RB(pSer807/pSer811) de BD Pharmingen [No. 558389] y 1,2 nM anticuerpo IgG etiquetado LANCE EU-W1024 anti ratón [Perkin-Elmer, no. de producto AD0077]) en una solución EDTA acuática (100 mM EDTA, 0,2 % (p/v) albúmina sérica bovina en 100 mM HEPES/NaOH, pH 7,0).

La mezcla obtenida fue incubada a 22°C para una hora para permitir la formación de un complejo entre el péptido biotinilado fosforilado y los reactivos de detección. En seguida la cantidad del sustrato fosforilado fue evaluada por medición de la transferencia de energía de resonancia desde el Eu quelato a estreptavidina-XL. Para esto las emisiones de fluorescencia a 620 nm y 665 nm después de una excitación a 350 nm fueron medidas en un lector HTRF, p.ej. un Rubystar (BMG Labtechnologies, Offenburg, Alemania) o un Viewlux (Perkin-Elmer). Los ratios de las emisiones a 665 nm y a 622 nm fueron tomados como medida para la cantidad del sustrato fosforilado. Los datos fueron were normalizados, es de decir la reacción enzimática sin inhibidor corresponde a 0 % de inhibición, y todos los otros componentes del ensayo en ausencia de la enzima corresponden a 100 % de inhibición. Los valores IC_{50} fueron calculados por un fit de 4 parámetros usando software interno.

4. Ensayo biológico: Ensayo de proliferación

Células tumorales cultivadas (NCI-H460, células humanas de carcinoma pulmonar no pequeñas, ATCC HTB-177; DU 145, células humanas de carcinoma de próstata independiente de hormona, ATCC HTB-81; HeLa-MaTu, células humanas de carcinoma cervical, EPO-GmbH, Berlín; HeLa-MaTu-ADR, células humanas de carcinoma cervical multirresistentes, EPO-GmbH, Berlín; células humanas de tumor cervical, ATCC CCL-2; carcinoma humano colorectal Caco-2, ATCC HTB-37; células murinas de melanoma B16F10, ATCC CRL-6475) fueron plaqueadas con una densidad de 5.000 células/pocillo (DU145, HeLa-MaTu-ADR), 3.000 células/pocillo (NCI-H460, HeLa-MaTu, HeLa), 1.500 células/pocillo (Caco-2) o 1.000 células/pocillo (B16F10) en una placa multitíter de 96 pocillos en 200 µL de su respectivo medio de cultivo suplementado con 10% de suero fetal bovino. Después de 24 horas las células de una placa (placa punto cero) fueron tratadas con una tinción de violeta cristal (vea abajo), mientras el medio de las otras placas fue sustituido por medio de cultivo fresco (200 µl), al que las substancias de ensayo fueron añadidas en varias concentraciones (0 µM al igual que en el margen de 0,001 a 10 µM; la concentración final del solvente de dimetilsulfoxido fue 0,5%). Las células fueron incubadas en la presencia de las substancias de ensayo por 4 días. La proliferación celular fue determinada por tinción de las células con violeta cristal: las células fueron fijadas por adición de 20 µl/punto de medición de una solución (11%) de glutaraldehído a temperatura ambiental por 15 minutos. Después de tres ciclos de lavado de las células fijadas con agua las placas fueron secadas a temperatura ambiental. Las células fueron tratadas con tinción por adición de 100 µl/punto de medición en una solución (0,1%) de violeta cristal (pH 3,0). Después de tres ciclos de lavado de las células fijadas con agua las placas fueron secadas a temperatura ambiental. La tinción fue disuelta por adición de 100 µl/punto de medición de una solución (10%) de ácido acético. La extinción fue determinada por fotometría a una longitud de onda de 595 nm. El cambio en el número de células, en perciento, fue calculado por normalización de los valores medidos a los valores de extinción de la placa punto cero (equivalente a 0%) y la extinción de las células (0 µm) no tratadas (equivalente a 100%). Los valores IC_{50} fueron determinadas por medio de un fit de 4 parámetros usando software interno.

Resultados:

1. Medición de la afinidad de unión a CDKs

Las constantes de disociación K_d de los compuestos de acuerdo con la presente invención para la unión con CDK9, CDK8, CDK7, y CDK2, respectivamente, están resumidas en Tabla 4. La comparición de las constantes de unión de un compuesto particular de la fórmula (I) para un número de CDKs diferentes demuestra que la unión de

un compuesto a CKD9 es siempre más fuerte que la unión a otras CDKs. Por ende, un compuesto de la fórmula (I) se une o interactúa específicamente con CKD9 y al menos selectivamente con CDK9.

Tabla 4: Afinidad por CDK9, CDK8, CDK7 y CDK2 de los compuestos de acuerdo con la presente invención

Todos los valores fueron medidos en nM usando el ensayo como descrito bajo 2. de Materiales y métodos; "n.p." significa que los compuestos no fueron probados en este ensayo

①	**nomenclatura**	②	③	④	⑤	⑥
B1	3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	5	n.p.	n.p.	> 10000	n.p.
B1'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B1')	7,6	48,7	n.p.	> 10000	798
B10	3-[(4-(5-hidroxymetil-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino]-benceno-metansulfonamida	309	110	n.p.	> 10000	n.p.
B11	3-[(4-(5-formil-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
B12	3-[(4-(2-etoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	10	11,1	> 10000	> 10000	2347
B13	3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	5	n.p.	n.p.	> 10000	687
B13'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	5,5	5	4857	> 10000	88
B14	3-[(4-(2-fenoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	25,5	26,4	5704	> 10000	3453c
B15	3-[(4-(1,3-benzodioxol-4-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	141	2456	> 10000	> 10000	6464
B16	3-[(4-(2-((4-piridinil)metoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	< 5	5,7	> 10000	> 10000	1693
B17	3-[(4-(2-(4-(tert-butoxicarbonilamino)butoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	15	6,4	n.p.	12820	2850
B18	3-[(4-(4-metoxipiridin-3-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	104	302	1761	> 10000	n.p.
B19	3-[(4-(3-metoxipiridin-4-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	7	11,5	n.p.	> 10000	n.p.
B2	3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	5	n.p.	n.p.	> 10000	n.p.
B2'	3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida clorhidrato	5,6	n.p.	n.p.	> 10000	207
B2''	trifluoroacetato de 3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	6,6	5	> 10000	> 10000	n.p.
B22	3-[(4-(2-(ciclopropilamino-metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino]-benceno-metansulfonamida	425	373	n.p.	n.p.	n.p.
B23	3-[(4-(6-aminopiridin-3-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	99	26,2	n.p.	> 10000	n.p.
B24	3-[(4-(2-(metoximetil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	907	1106	n.p.	> 10000	n.p.
B3	3-[(4-(5-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	16	5	n.p.	> 10000	375
B4	3-[(4-(6-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	54	20,9	> 10000	> 10000	704
B5	3-[(4-(3,5-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	835	286	n.p.	> 10000	n.p.
B6	3-[(4-(4-cloro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	11	12,5	6784	> 10000	n.p.
B7	3-[(4-(5-cloro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	55	101	> 10000	> 10000	n.p.

(continuación)

①	**nomenclatura**	②	③	④	⑤	⑥
B8	3-[(4-(2-metoxi-4-trifluorometil-fenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino]-benceno-metansulfonamida	1225	709	n.p.	> 10000	n.p.
B9	3-[(4-(2-metoxi-5-trifluorometil-fenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino]-benceno-metansulfonamida	398	1593	n.p.	> 10000	n.p.
C1	3-[(4-(2-metoxifenyl)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
C1'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida	< 5	5	n.p.	> 10000	220
D1	2-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-etansulfonamida	32,8	99,5	n.p.	> 10000	310
D2	2-[3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)-fenil]-etansulfonamida	9,5	5,0	n.p.	> 10000	< 5
E1	3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benzamida	136	301	n.p.	> 10000	2164
F1	6-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-2,3-dihidro-1H-indol-1-sulfonamida	131	39,7	n.p.	13372	1098
G1	rac-S-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-N-etoxicarbonil-S-metil-sulfoximida	105	87,2	n.p.	> 10000	> 10000
H1	4-(2-metoxifenil)-N-(3-nitrofenil)-1,3,5-triazin-2-amina	17,8	15,8	n.p.	> 30000	68
I1	3-[(4-(2-(4-aminobutoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	101	52	n.p.	> 30000	n.p.
K1	N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-metansulfonamida	38,5	35,9	n.p.	> 30000	283
L1	N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-propansulfonamida	45,5	n.p.	n.p.	> 30000	n.p.
M1	N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-acetamida	146	71,2	n.p.	> 30000	1454
N1	N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-N'-fenil-urea	478	159	> 10000	> 30000	2359
O1	3-[(4-(2-metoxi-5-(metilamino-metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino]-benceno-metansulfonamida	5407	5978	n.p.	> 30000	n.p.
P1	4-(2-metoxifenil)-N-fenil-1,3,5-triazin-2-amina	126	n.p.	n.p.	> 30000	709
Q1	tert-butil -4-((3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)-amino)fenil)metilsulfonamido)butil]-carbamato	12,9	5	n.p.	> 10000	2086
R1	N-(4-aminobutil)-1-[3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-metansulfonamida	5	5	n.p.	> 10000	2925
S1	4-(2-metoxifenil)-N-(3-(metilsulfonil)fenil)-1,3,5-triazin-2-amina	6,9	n.p.	n.p.	> 10000	851
T1	4-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	43,7	n.p.	n.p.	> 10000	237

①: Número del compuesto ②: CDK9 / ciclina T1 ③: CDK9 / ciclina K
④: CDK8 ⑤: CDK7 ⑥: CDK2

2. Medición de la concentración inhibitoria medio máxima a CDKs en ensayos enzimáticos

Las actividades inhibitorias de los compuestos de acuerdo con la presente invención están mostradas en Tabla 5 como valores de constante inhibitoria medio máxima (IC_{50}) de CDK9, CDK1, CDK2, CDK4, CDK6 y CDK7, respectivamente.

Tabla 5: Inhibición de CDK9, CDK1, CDK2, CDK4, CDK6 y CDK7 de compuestos de acuerdo con la presente invención

Todos los valores fueron medidos en nM usando el ensayo LANCE como descrito bajo 2. de Materiales y Métodos. "n.p." significa que los compuestos no fueron probados en este ensayo.

①	**nomenclatura**	②	③	④	⑤	⑥	⑦
B1'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida (B1')	96,5	12050	3083	> 10000	> 10000	> 10000
B12	3-[(4-(2-etoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	102	11550	2930	> 10000	> 10000	> 10000
B13'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	5,7	3398	1771	681	> 10000	> 10000
B14	3-[(4-(2-fenoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino}-benceno-metansulfonamida	9	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
B16	3-[(4-(2-((4-piridinil)-metoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	9	6772	1067	> 10000	> 10000	> 10000
B2	3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	10,6	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
B2'	3-{[4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida clorhidrato	10,4	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
B2''	trifluoroacetato de 3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	11,6	899	568	3205	> 10000	> 10000
B4	3-[(4-(6-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	201	5682	1445	> 10000	> 10000	> 10000
B6	3-[(4-(4-cloro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	16,2	> 10000	> 10000	> 10000	> 10000	> 10000
C1'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida	20,7	1349	781	1505	> 10000	> 10000
D1	2-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-etansulfonamida	139	2572	515	9322	> 10000	> 10000
D2	2-[3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)-fenil]-etansulfonamida	12,8	> 10000	423	> 10000	> 10000	> 10000
E1	3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benzamida	837	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
H1	4-(2-metoxifenil)-N-(3-nitrofenil)-1,3,5-triazin-2-amina	194	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
K1	N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-metansulfonamida	72	> 10000	826	> 10000	> 10000	> 10000
L1	N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-propansulfonamida	111	> 10000	> 10000	> 10000	> 10000	> 10000
P1	4-(2-metoxifenil)-N-fenil-1,3,5-triazin-2-amina	937	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
S1	4-(2-metoxifenil)-N-(3-(metilsulfonil)fenil)-1,3,5-triazin-2-amina	24,7	n.p.	1767	n.p.	n.p.	> 10000
T1	4-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	190	n.p.	259	n.p.	n.p.	> 10000

①: Número del compuesto ②: CDK9 ③: CDK1
④: CDK2 ⑤: CDK4 ⑥: CDK6 ⑦: CDK7

Tabla 5a: Inhibición de CDK9 y CDK2 de compuestos de acuerdo con la presente invención

Los valores IC_{50} (concentración inhibitoria a 50% del efecto máximo) están indicados en nM o µM, "n.p." significa que los compuestos no fueron probados en este ensayo.			
①	**nomenclatura**	②	③
U1	1-[3-({4-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)-fenil]-metansulfonamida	15 µM	15 µM
U2	1-[3-({4-[4-fluoro-2-(propan-2-iloxi)fenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)-fenil]-metansulfonamida	28 nM	880 nM
U3	1-(3-{[4-(2-ciano-4-fluorofenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida	3,3 µM	14 µM
U4	N-[5-fluoro-2-(4-{[3-(sulfamoilmetil)fenil]amino}-1,3,5-triazin-2-il)fenil]-acetamida	3,6 µM	3,0 µM
U5	1-[3-({4-[2-(ciclopropilmetoxi)-4-fluorofenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)fenil]-metansulfonamida	34 nM	1,6 µM
U6	1-(3-{[4-(3,4-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}-fenil)-metansulfonamida	370 nM	12 µM
U7	1-(3-{[4-(4,5-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}-fenil)-metansulfonamida	14 nM	930 nM
U8	4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-N-[6-(metilsulfonil)piridin-3-il]-1,3,5-triazin-2-amina	320 nM	170 nM
B14	3-[(4-(2-fenoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	62 nM	4,0 µM
B13	3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	0,32 nM	380 nM
B1	3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]benceno-metansulfonamida	21 nM	1,8 µM
B2	1-(3-{[4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino}-fenil)-metansulfonamida	8,1 nM	930 nM
B2'	1-(3-{[4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida clorhidrato	14 nM	670 nM
C1	3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida	10 nM	450 nM
Ref1	C-{3-[6-(2-metoxifenil)-pirimidin-4-ilamino]-fenil}-metansulfonamida	43 nM	2,1 µM
Ref2	C-{3-[6-(2-metoxifenil)-pirimidin-4-ilamino]-fenil}-N-metilmetansulfonamida	40 nM	1,6 µM
Ref3	[6-(5-cloro-2-metil-fenil)-[1,3,5]triazin-4-il]-(4-cloro-fenil)-amina	>20 µM	>20 µM
Ref4	C-{3-[6-(2-metoxifenil)-pirimidin-4-ilamino]-fenil}-N,N-dimetilmetansulfonamida	49 nM	2,7µM
Ref5	4-[4-(2-benzoilaminofenil)-[1,3,5]triazin-2-ilamino]-benzamida	8,4 µM	14 µM
①: número del compuesto ②: ensayo de quinasa CDK9 CDK9/CycT1 como descrito bajo 3.6 de Materiales y métodos ③: ensayo de quinasa CDK2 CDK2/CycE como descrito bajo 3.5 de Materiales y métodos			

Procedencia de los ejemplos de referencia Ref1 a Ref5:

Ref1: Ejemplo 85 en página 45 de WO2008129080A1
Ref2: Ejemplo 49 en página 38 de WO2008129080A1
Ref3: Ejemplo 33 en página 32 de WO2003/037346A1
Ref4: Ejemplo 20 en página 32 de WO2008129080A1
Ref5: Ejemplo 152 en página 32 de US20040116388

3. Ensayos celulares

La actividad celular de compuestos de acuerdo con la presente invención está mostrada en Tabla 6 como valores de constante inhibitoria medio máxima (IC_{50}) sobre la liberación de TNF alfa inducida por LPS en PBMCs, activación del gen reportero de NF-kappaB, actividad celular de CDK9 (fosforilación de ARN polimerasa II Ser2) y viabilidad celular en células Hela- or MDAMB468, respectivamente. Las actividades celulares de los compuestos de acuerdo con la presente invención están mostradas en Tabla 7 como valores de constante inhibitoria medio máxima (IC_{50}) de la viabilidad celular en células MaTu/ADR, H460, DU145, CACO-2 o B16F10.

Tabla 6: Inhibición de la liberación de TNF alfa inducida por LPS en PBMCs, activación del gen reportero de NF-kappaB, actividad celular de CDK9 (fosforilación de ARN polimerasa II Ser2) y viabilidad celular en células Hela o MDAMB468 por compuestos de acuerdo con la presente invención. Todos los valores IC_{50} (concentración inhibitoria a 50% del efecto máximo) están indicados en nM; "n.p." significa que los compuestos no fueron probados en este ensayo.

①	**nomenclatura**	②	③	④	⑤
B1	3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	n.p.	n.p.	n.p.	2,20
B1'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	2,71	3,56	10,86	2,99
B2	3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	1,03	n.p.	n.p.	0,42
B2''	trifluoroacetato de 3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	0,64	1,6	3,64	0,66
B3	3-[(4-(5-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	3,24	2,47	9,62	n.p.
B4	3-[(4-(6-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	6,53	9,71	49,82	n.p.
B6	3-[(4-(4-cloro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	n.p.	2,49	15,3	n.p.
B12	3-[(4-(2-etoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	n.p.	3,67	17,48d	n.p.
B13'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	0,12	0,36	n.p.	0,16
B13	3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
B14	3-[(4-(2-fenoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	n.p.	3,96	14,49	n.p.
B16	3-[(4-(2-((4-piridinil)-metoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	n.p.	0,96	11,92	n.p.
B19	3-[(4-(3-metoxipiridin-4-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	10,57	19,86	15,51	n.p.
B23	3-[(4-(6-aminopiridin-3-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	n.p.	> 30	> 30	n.p.
C1	3-[(4-(2-metoxifenyl)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
C1'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida	0,50	1,47	2,87	0,80
D1	2-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-etansulfonamida	5,37	4,98	n.p.	4,61
D2	2-[3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)-fenil]-etansulfonamida	n.p.	1,63	10,76	n.p.
E1	3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benzamida	n.p.	n.p.	n.p.	23,03

(continuación)

①	nomenclatura	②	③	④	⑤
H1	4-(2-metoxifenil)-N-(3-nitrofenil)-1,3,5-triazin-2-amina	2,92	2,67	n.p.	0,83
K1	N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-metansulfonamida	4,42	5,52	n.p.	n.p.
L1	N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-propansulfonamida	2,41	6,53	> 30	4,50
N1	N-[3-((4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]-N'-fenil-urea	6,71	18,4	n.p.	n.p.
P1	4-(2-metoxifenil)-N-fenil-1,3,5-triazin-2-amina	13,9	18,77	n.p.	13,33

①: número del compuesto
②: liberación de TNF alfa
③: activación de NF-kappaB
④: fosforilación de ARN polimerasa II Ser2
⑤: viabilidad celular – células MDAMB468

Tabla 7: Inhibición de la viabilidad celular en células HeLa, MaTu/ADR, H460, DU145, CACO-2 y B16F10 por compuestos de acuerdo con la presente invención.

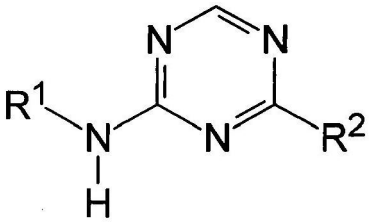
Todos los valores IC_{50} (concentración inhibitoria a 50% del efecto máximo) están indicadas en μM, "n.p." significa que los compuestos no fueron probados en este ensayo.

①	nomenclatura	②	③	④	⑤	⑥	⑦
B1'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	3,2	3,2	3,5	3,8	4,3	4,4
B2'	1-(3-{[4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida clorhidrato	1	1	1,5	1	1,5	1,1
B2	3-[(4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	1	1	1,3	1,5	1,6	1,6
B13'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-benciloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-metansulfonamida	0,31	0,29	0,32	0,33	0,37	0,32
C1'	trifluoroacetato de 3-[(4-(2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-benceno-sulfonamida	1	0,76	1,1.	1	1,1	1
U2	1-[3-({4-[4-fluoro-2-(propan-2-iloxi)fenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)-fenil]-metansulfonamida	2,7	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
U3	1-(3-{[4-(2-ciano-4-fluorofenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)-metansulfonamida	10	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
U7	1-(3-{[4-(4,5-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}-fenil)-metansulfonamida	1,2	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
U8	4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-N-[6-(metilsulfonil)piridin-3-il]-1,3,5-triazin-2-amina	4,2	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
Ref1	C-{3-[6-(2-metoxifenil)-pirimidin-4-ilamino]-fenil}-metansulfonamida	3,4	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
Ref2	C-{3-[6-(2-metoxifenil)-pirimidin-4-ilamino]-fenil}-N-metilmetansulfonamida	4,6	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
Ref4	C-{3-[6-(2-metoxifenil)-pirimidin-4-ilamino]-fenil}-N,N-dimetilmetansulfonamida	6,1	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.

①: número del compuesto
②: viabilidad celular – células HeLa
③: viabilidad celular – células MaTu/ADR
④: viabilidad celular – células H460
⑤: viabilidad celular – células DU145
⑥: viabilidad celular – células CACO-2
⑦: viabilidad celular – células B16F10

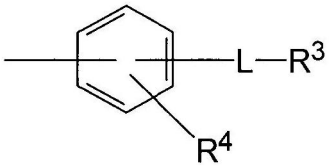
Reivindicaciones

1. Compuesto de fórmula general (I)



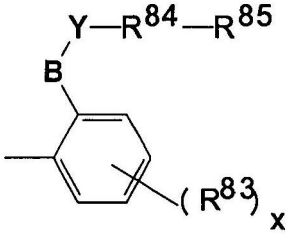
(I)

en la que
R^1 representa



en donde

L es $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, o $-CF_2-$;
R^2 es $-SO_2NH_2$, $-SO_2NH(CH_3)$, $-SO_2N(CH_3)_2$, $-SO_2NH(CH_2CH_2OCH_3)$, $-NHSO_2CH_3$, $-NHSO_2CH_2CH_3$, $-NHSO_2CH_2CH_2CH_3$, $-NHSO_2CF_3$, $-SO_2CH_3$, $-NHSO_2NH_2$, $-SO(NH)CH_3$;
R^4 es -H, $-CH_3$, -F, -Cl, o $-CF_3$;
R^2 representa



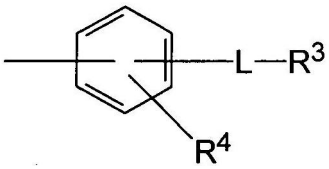
;

en donde el grupo **$-B-Y-R^{84}-R^{85}$** es $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-OCH_2CH_2CH_3$, $-OCH_2CH_2CH_2CH_3$, $-OCH(CH_3)_2$, -OPh,$-OCH_2Ph$, $-OCH_2$(4-piridilo) ;
R^{83} es -H, -F, o -Cl;
x es 0, 1 ó 2;

o enantiómeros, formas estereoisoméricas, mezclas de enantiómeros, diaestereómeros, mezclas de diaestereómeros, hidratos, solvatos, formas de sal ácidas, tautómeros, y racematos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que

R^1 representa

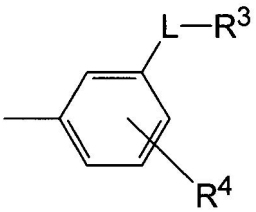


en el que

el sustituyente **-L-R^3** es $-CH_2SO_2NH_2$, $-CH_2CH_2SO_2NH_2$, $-CF_2SO_2NH_2$, $-CH_2NHSO_2NH_2$, $-SO(NH)CH_3$, $-CH_2SO(NH)CH_3$;
R^4 es -H; y
R^2 es 2-metoxifenil, 4-fluoro-2-metoxifenil, o 6-fluoro-2-metoxifenil.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que

R^1 representa



en el que

el sustituyente -L-R^3 es $-CH_2SO_2NH_2$;
R^4 es -H;
R^2 representa 2-metoxifenil, 4-fluoro-2-metoxifenil o 2-benciloxifenil,

o sus sales, solvatos o sales de solvatos y especialmente la sal clorhídrica o la sal trifluoroacética.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona del grupo consistente de:

3-[(4-(2-Metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(4-Fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(5-Fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(6-Fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(3,5-Difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(4-Chloro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(5-Chloro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(2-Metoxi-4-trifluorometil-fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(2-Metoxi-5-trifluorometil-fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(5-Hidroximetil-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(5-Formil-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(2-Etoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(2-Benziloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
1-(3-{[4-(2-fenoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)metanosulfonamida,
3-[(4-(1,3-Benzodioxol-4-il)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(2-((4-Piridinil)metoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(2-(4-(terc-Butoxicarbonilamino)butoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(2-((Morfolin-4-il)metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]benceno-metanosulfonamida,
3-[(4-(2-((Piperidin-1-il)metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]benceno-metanosulfonamida,
3-[(4-(2-(Ciclopropilam ino-metil)fenil)-1, 3, 5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
3-[(4-(2-(Metoximetil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida,
2-[3-((4-(2-Metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]etanosulfonamida,
2-[3-((4-(4-Fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil]etano-sulfonamida,
3-[(4-(2-(4-Aminobutoxi)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometano-sulfonamida,
3-[(4-(2-Metoxi-5-(metilamino-metil)fenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]-bencenometanosulfonamida,
terc-Butil-[4-((3-((4-(4-Fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)fenil)-metilsulfonamido) butil]carbamato,
N-(4-Aminobutil)-1-[3-((4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino)-fenil]metanosulfonamida,
4-[(4-(2-Metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometano-sulfonamida,
1-[3-({4-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)fenil]-metanosulfonamida,
1-[3-({4-[4-fluoro-2-(propan-2-iloxi)fenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)fenil]-metanosulfonamida,
1-(3-{[4-(2-ciano-4-fluorofenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)metanosulfonamida,
1-[3-({4-[2-(ciclopropilmetoxi)-4-fluorofenil]-1,3,5-triazin-2-il}amino)fenil]-metanosulfonamida,
1-(3-{[4-(3,4-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)metanosulfonamida,
1-(3-{[4-(4,5-difluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)metanosulfonamida,
Sal de ácido 3-[(4-(2-Metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida trifluoroacético,
Clorhidrato de 1-(3-{[4-(4-fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il]amino}fenil)metanosulfonamida,

Sal de ácido 3-[(4-(4-Fluoro-2-metoxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino]bencenometanosulfonamida trifluoroacético
Sal de ácido 3-[(4-(2-Benziloxifenil)-1,3,5-triazin-2-il)amino] bencenometanosulfon-amida trifluoroacético.

5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso como un agente farmacéuticamente activo.

6. El compuesto de fórmula general (I) como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en la profilaxis y/o tratamiento de enfermedades infecciosas, incluyendo enfermedades oportunistas, enfermedades inmunológicas, enfermedades autoinmunológicas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades celulares proliferativas, inflamaciones, disfunción eréctil y apoplejía.

7. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la enfermedad proliferativa se selecciona del grupo que comprende:

adenocarcinoma, melanoma de coroides, leucemia aguda, neurinoma del acústico, carcinoma ampular, carcinoma anal, astrocitoma, carcinoma de células basales, cáncer de páncreas, tumor desmoide, cáncer de vejiga, carcinoma bronquial, cáncer de mama, linfoma de Burkitt, cáncer de cuerpo, síndrome CUP (carcinoma de origen primario desconocido), cáncer colorectal, cáncer de los intestinos pequeños, tumores intestinales pequeños, cáncer del ovario, carcinoma de endometrio, ependimoma, tipos de cáncer epitelial, tumores de Ewing, tumores gastrointestinales, cáncer gástrico, cáncer de la vesícula biliar, carcinomas de la vesícula biliar, cáncer de útero, cancer de cervix, glioblastomas, tumores ginecológicos, tumores de los oídos, la nariz y la garganta, neoplasias hematológicas, leucemia hematológica de células pilosas, cáncer de uretra, cáncer de piel, cáncer de piel de los testículos, tumores cerebrales (gliomas), metastasis cerebrales, cáncer testicular, tumor de hipófisis, carcinoides, sarcoma de Kaposi, cáncer de laringe, tumor de células germinales, cáncer de hueso, carcinoma colorectal, tumores de cabeza y cuello (tumores del area del oído, de la nariz y de la garganta), carcinoma de colon, craniofaringiomas, cáncer oral (cáncer en el área de la boca y sobre los labios), cáncer del sistema nervioso central, cáncer de hígado, metastasis de higado, leucemia, tumor de párpado, tumor de pulmón, cáncer de los nódulos linfáticos (linfomas de Hodgkin, no Hodgkin), linfomas, cáncer de estómago, melanoma maligno, neoplasia maligna, tumores malignos del tracto gastrointestinal, carcinoma de mama, cáncer rectal, meduloblastomas, melanoma, meningiomas, enfermedad de Hodgkin, micosis fungoide, cáncer de la nariz, neurinoma, neuroblastoma, cancer de riñón, carcinomas de células renales, oligodendroglioma, carcinoma de esófago, carcinomas osteolíticas y carcinomas osteoplásticas, osteosarcomas, carcinoma de ovario, carcinoma de páncreas, cáncer de pene, plasmocitoma, cáncer de próstata, cáncer de faringe, carcinoma rectal, retinoblastoma, cáncer de vagina, carcinoma de tiroides, enfermedad de Schneeberg, cáncer de esófago, espinaliomas, linfoma de células T (micosis fungoide), timoma, carcinoma de tubo, tumores del ojo, cáncer de úretra, tumores urológicos, carcinoma urotelial, cáncer de vulva, apariencia de verruga, tumores de tejido blando, sarcoma de tejido blando, tumor de Wilms, carcinoma de cervix, cáncer de lengua, carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, carcinoma ductal *in situ*, carcinoma lobular *in situ*, carcinoma pulmonar de células pequeñas, carcinoma pulmonar de células no pequeñas, adenoma bronquial, blastoma pleuropulmonar, mesotelioma, glioma de tronco del encéfalo, glioma hipotalámico, astrocitoma cerebelar, astrocitoma cerebral, tumores neuroectodermales, tumores pineales, sarcoma de útero, cánceres de las glándulas salivales, adenocarcinomas de las glándulas anales, tumores de mastocitos, tumores de pelvis, tumores de úretra, cánceres renales papilares hereditarios, cánceres renales papilares esporádicos, melanoma intraocular, carcinoma hepatocelular (carcinomas de células del higado con o sin la variante fibrolamelar), colangiocarcinoma (carcinoma de conducto biliar intrahepático), colangiocarcinoma hepatocelular mixto, carcinoma de células escamosas, melanoma maligno, cáncer de células de Merkel, cáncer de piel no melanoma, cáncer de hipofaringe, cáncer de nasofaringe, cáncer de orofaringe, cáncer de la cavidad bucal, cáncer de células escamosas, melanoma oral, linfoma relacionado con SIDA, linfoma cutáneo de células T, limfoma del sistema nervioso central, histiocitoma fibroso maligno, linfosarcoma, rabdomiosarcoma, histiocitosis maligna, fibrosarcoma, hemangiosarcoma, hemangiopericitoma, leiomiosarcoma, carcinoma de mama en caninos y carcinoma de mama en felinos.

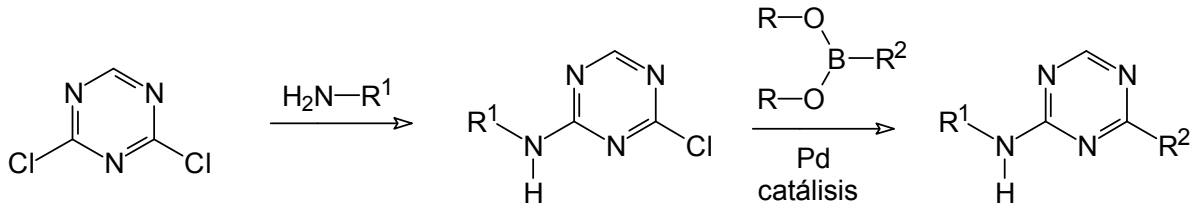
8. La composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como un ingrediente activo, junto con al menos un vehículo, excipiente y/o diluente farmacéuticamente aceptable.

9. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8 que comprende además uno o más agentes antitumorales.

10. Un método para sintetizar el compuesto de fórmula general (I) como se define en la reivindicación 1 de acuerdo con los siguientes procedimientos:

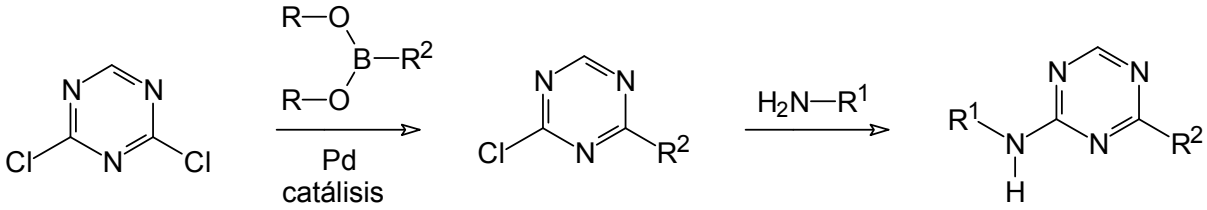
Reaccionar 2,4-dicloro-1,3,5-triazins con una anilina de la fórmula general R^1NH_2, en la que R^1 tiene los significados como se definen en la reivindicación 1, para dar 2-arilamino-4-cloro-1,3,5-triazina que se hace reaccionar después con un derivado de ácido borónico de la fórmula general R^2-$B(OR)_2$, en la que R^2 tiene los significados como se define en la reivindicación 1 y ambos residuos de R representan

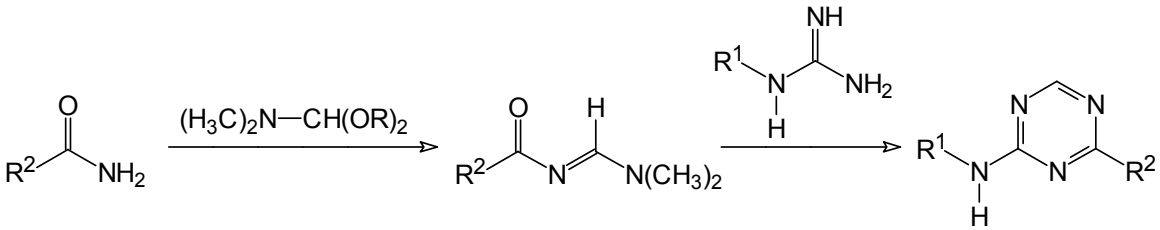
independientemente uno del otro hidrógeno o una cadena de alquilo con 1-10 átomos de carbono o una cadena de cicloalquilo con 3-12 átomos de carbono o ambos residuos de R representan epresentan juntos un residuo derivado de pinacol para obtener los compuestos de la fórmula general (I) de acuerdo con el siguiente esquema de reacción:



o

reaccionar 2,4-dicloro-1,3,5-triazina con un derivado de ácido borónico de la fórmula general R^2-$B(OR)_2$, en la que R^2 tiene los significados como se definen en la reivindicación 1 y ambos residuos de R representan independientemente uno del otro hidrógeno o una cadena de alquilo con 1-10 átomos de carbono o una cadena de cicloalquilo de 3-12 átomos de carbono o ambos residuos de R representan juntos un residuo derivado de pinacol para dar la R^2 sustituida por cloro-1,3,5-triazina que ese hace reaccionar después con la anilina de la fórmula general R^1NH_2, en la que R^1 tiene los significados como se definen en la reivindicación 1, para obtener los compuestos de la fórmula general (I) de acuerdo con el siguiente esquema de reacción:



o

reaccionar una amida de la fórmula general R^2–$CONH_2$, en la que R^2 tiene los significados como se definen en la reivindicación 1, con un acetal de N,N-dimetilformamida para dar el intermediario N-acilformamidina que se hace reaccionar posteriormente con la guanidina de la fórmula general R^1-NH-C(NH)NH_2, en la que R^1 tiene los significados como se defienen en reivindicación 1, para obtener los compuestos de la fórmula general (I) de acuerdo con el siguiente esquema de reacción: