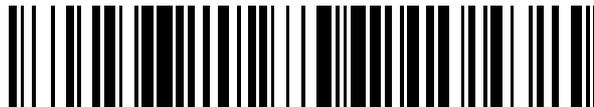


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 639 793**

51 Int. Cl.:

C07D 403/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.03.2014 PCT/US2014/021466**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14143601**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2014 E 14712966 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.06.2017 EP 2970221**

54 Título: **Inhibidores de CDC7**

30 Prioridad:

14.03.2013 US 201361782798 P
15.03.2013 US 201361789108 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.10.2017

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

DALLY, ROBERT DEAN y
WOODS, TIMOTHY ANDREW

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 639 793 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).

DESCRIPCION

Inhibidores de CDC7

La presente invención se refiere a compuestos de isoindolinona, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que inhiben CDC7 y pueden ser útiles para tratar cáncer.

5 CDC7 es una serina/treonina quinasa que desempeña un papel clave en el inicio de la replicación y regulación del ADN del punto de control del ciclo celular en fase S. La sobreexpresión de CDC7 se ha observado en numerosas líneas celulares tumorales. Además, la inhibición de CDC7 en dichas líneas celulares ha dado lugar a la detención del ciclo celular. Por lo tanto, la inhibición de CDC7 puede ser útil para la terapia del cáncer.

10 Los inhibidores de CDC7 son conocidos en la técnica. Los compuestos de isoindolinona también se conocen en la técnica. El documento WO 2005/100351 describe ciertos compuestos de isoindolinona como compuestos reactivos al receptor nicotínico de acetilcolina.

Sigue existiendo la necesidad de proporcionar inhibidores de CDC7 alternativos para el tratamiento del cáncer. Por consiguiente, la presente invención proporciona inhibidores de CDC7 que pueden ser útiles para tratar el cáncer.

15 La presente invención proporciona un compuesto que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

La presente invención proporciona un compuesto que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

La presente invención proporciona un compuesto que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

20 Como una realización particular, la presente invención proporciona el compuesto que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona. Como otra realización particular, la presente invención proporciona el compuesto que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2. Como una realización particular adicional, la presente invención proporciona el compuesto que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1.

25 La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 La presente invención proporciona un procedimiento para tratar cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. La presente invención proporciona un procedimiento para tratar cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona. La presente invención también proporciona un procedimiento para tratar cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. La presente invención proporciona adicionalmente un procedimiento para tratar cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2. La presente invención también proporciona un procedimiento para tratar cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. La presente invención proporciona adicionalmente un procedimiento para tratar cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1.

55 La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en terapia. La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma,

para su uso en el tratamiento de cáncer. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo la composición farmacéutica 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

5 La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona para su uso en terapia. La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona para su uso en el tratamiento del cáncer. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo la composición farmacéutica la 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona.

10 La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en terapia. La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento del cáncer. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo la composición farmacéutica 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

15 La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, para su uso en terapia. La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, para su uso en el tratamiento del cáncer. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo la composición farmacéutica 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2.

20 La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en terapia. La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento del cáncer. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo la composición farmacéutica 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

25 La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, para su uso en terapia. La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, para su uso en el tratamiento del cáncer. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo la composición farmacéutica 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1.

30 La presente invención proporciona el uso de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer. La presente invención también proporciona el uso de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.

35 La presente invención proporciona el uso de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer. La presente invención también proporciona el uso de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

40 La presente invención proporciona el uso de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer. La presente invención también proporciona el uso de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

45 La presente invención proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, hidrato en forma cristalina. La presente invención también proporciona 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, hidrato en una forma cristalina caracterizada por un patrón de difracción de rayos X de polvos que tiene picos característicos, en $20 \pm 0,2$, que se producen a 22,27 y uno o más de 13,46, 16,54, 16,66, 18,10 y 23,13.

50 La presente invención proporciona un compuesto que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, que se identifica alternativamente como (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

55 La presente invención proporciona un compuesto que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, que se identifica alternativamente como (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Como una realización particular, la presente invención proporciona el compuesto que es (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona. Como una realización particular adicional, la presente invención proporciona el compuesto que es (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona.

5 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención también proporciona una
10 composición farmacéutica que comprende (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La presente invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 La presente invención proporciona (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en terapia. La presente invención proporciona (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento del cáncer. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo la composición farmacéutica (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

20 La presente invención proporciona (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona para su uso en terapia. La presente invención proporciona (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona para su uso en el tratamiento del cáncer. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo la composición farmacéutica (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona.

25 La presente invención proporciona (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en terapia. La presente invención proporciona (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento del cáncer. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo la composición farmacéutica (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
30

La presente invención proporciona (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona para su uso en terapia. La presente invención proporciona (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona para su uso en el tratamiento del cáncer. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, comprendiendo la composición farmacéutica (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona.
35

La presente invención proporciona el uso de (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer. La presente invención también proporciona el uso de (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

40 La presente invención proporciona el uso de (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer. La presente invención también proporciona el uso de (3S)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

45 La presente invención proporciona (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, hidrato en forma cristalina. La presente invención también proporciona (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, hidrato en una forma cristalina caracterizada por un patrón de difracción de rayos X de polvos que tiene picos característicos, en $2\theta \pm 0,2$, que se producen a 22,27 y uno o más de 13,46, 16,54, 16,66, 18,10 y 23,13.

Además, la presente invención proporciona realizaciones preferidas de los procedimientos y usos descritos en la presente memoria, en los que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de mama triple negativo, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer hematológico, y leucemia.
50

Como se ha utilizado anteriormente, y a lo largo de la descripción de la invención, se entenderá que los siguientes términos, a menos que se indique lo contrario, tienen los siguientes significados:

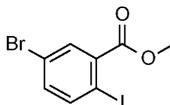
Un "vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable" es un medio generalmente aceptado en la técnica para el suministro de agentes biológicamente activos a mamíferos, por ejemplo, seres humanos.

55 "Sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales inorgánicas y orgánicas relativamente no tóxicas de los compuestos de la presente invención.

- 5 "Cantidad efectiva" significa la cantidad del compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de la presente invención o composición farmacéutica que contiene un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de la presente invención que inducirá la respuesta biológica o médica o el efecto terapéutico deseado en un tejido, sistema, animal, mamífero o humano que está siendo buscado por el investigador, veterinario, médico u otro especialista.
- Los términos "tratamiento", "tratar", "que trata", y similares, se entiende que incluyen la desaceleración o la inversión de la progresión de un trastorno. Estos términos incluyen también aliviar, mejorar, atenuar, eliminar o reducir uno o más síntomas de un trastorno o condición, incluso si el trastorno o condición no se elimina realmente e incluso si la progresión del trastorno o condición no se desacelera o invierte.
- 10 Los compuestos de la presente invención son capaces de reacción, por ejemplo, con una serie de ácidos inorgánicos y orgánicos para formar sales farmacéuticamente aceptables. Tales sales farmacéuticamente aceptables y metodología común para prepararlas son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, P. Stahl, et al., HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 66, No. 1, enero de 1977.
- 15 Los compuestos de la presente invención se formulan preferiblemente como composiciones farmacéuticas que utilizan un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable y se administran por una variedad de vías. Preferentemente, dichas composiciones son para administración oral. Tales composiciones farmacéuticas y procedimientos para prepararlas son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (A. Gennaro et al., eds., vigésima primera ed., Mack Publishing Co., 2005).
- 20 La cantidad del compuesto de la presente invención realmente administrada será determinada por un médico bajo las circunstancias relevantes, incluyendo la condición a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto o compuestos reales administrados de la presente invención, la edad, peso y la respuesta del paciente individual, y la severidad de los síntomas del paciente. Las dosis por día normalmente caen dentro del intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 1.000 mg. En algunos casos, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo antes mencionado pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos se pueden emplear dosis aún mayores. Los niveles de dosificación pueden ser determinados por un experto en la técnica.
- 25 Los compuestos de la presente invención, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden prepararse mediante una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, así como los descritos en las Preparaciones y Ejemplos a continuación. Las etapas específicas de síntesis para cada una de las rutas descritas pueden combinarse de diferentes maneras para preparar los componentes de la invención, o de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- Los reactivos y materiales de partida se encuentran generalmente fácilmente disponibles para un experto en la técnica. Otros pueden fabricarse mediante técnicas estándar de química orgánica y heterocíclica, técnicas conocidas por los expertos en la materia y los procedimientos descritos en los ejemplos que se presentan a continuación, incluyendo cualquier procedimiento nuevo. Las siguientes Preparaciones y Ejemplos ilustran adicionalmente la invención. Los compuestos ilustrados en la presente memoria se nombran y numeran usando Symyx Draw Versión 3.2, Symyx Draw Versión 4.0, o IUPACNAME ACDLABS.
- 35 Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales pueden ser separados o resueltos por un experto en la técnica en cualquier punto conveniente en la síntesis de compuestos por procedimientos tales como técnicas de cristalización selectiva o cromatografía quiral (véase, por ejemplo, Enantiomers, Racemates, and Resolutions (J. Jacques, et al., John Wiley and Sons, Inc., 1981)). La designación "isómero 1" se refiere al compuesto que eluye primero a partir de la cromatografía quiral. La designación "isómero 2" se refiere al compuesto que eluye después a partir de la cromatografía quiral.
- 40 Tal como se usa en la presente memoria, los siguientes términos tienen los significados indicados: "ADP" se refiere a difosfato de adenosina; "ATP" se refiere a trifosfato de adenosina; "Balb/c" se refiere a albino; "BCA" se refiere a ácido bicinconínico; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "DTT" se refiere a ditioneitol; "EDTA" se refiere a ácido etilendiaminotetraacético; "ee" se refiere a exceso enantiomérico; "Ex" se refiere a ejemplo; "FBS" se refiere a suero fetal bovino; "FP" se refiere a la polarización de fluorescencia; "GAPDH" se refiere a gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa; "HEC" se refiere a hidroxietilcelulosa; "HEPES" se refiere a ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazin-etanosulfónico; "h" se refiere a hora u horas; "IC₅₀" se refiere a la concentración de un agente que produce el 50 % de la respuesta inhibitoria máxima posible para ese agente; "IVTI" se refiere a la inhibición objetivo *in vivo*; "MCM2" se refiere a la proteína de mantenimiento del micromitosoma; "min" se refiere a minuto o minutos; "PBS" se refiere a solución salina tamponada con fosfato; "P.O." se refiere a la administración oral; "Prep" se refiere a la preparación; "PVDF" se refiere a difluoruro de polivinilidina; "RPMI" se refiere al Roswell Park Memorial Institute; "RNasa" se refiere a ribonucleasa; "RuPhos" se refiere a 2-diciclohexilfosfino-2',6'-diisopropoxibifenilo; "R_t" se refiere al tiempo de retención; "SDS-Page" se refiere a electroforesis en gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sodio; "SCX" se refiere a intercambio catiónico fuerte; "SFC" se refiere a cromatografía de fluidos supercríticos; y "THF" se refiere a tetrahidrofurano.
- 45
50
55

Preparación 1

5-bromo-2-yodobenzoato de metilo

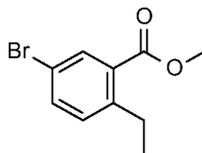


5 Se añade ácido 5-bromo-2-yodobenzoico (1.998 g, 6,11 mol) en porciones a una solución a 20 °C de ácido sulfúrico (100 ml) en metanol (13 l). Se calienta la suspensión a reflujo durante 24 horas, luego se enfría a 20 °C y se elimina el disolvente a presión reducida. Se vierte el residuo en una mezcla 1:1 del éter metil-terc-butílico y agua enfriada con hielo (20 l) y se separan las fases. Se extrae la fase acuosa con éter metil-terc-butílico (1,5 l), se combinan las fases orgánicas y se lava con NaOH 0,2 M acuoso (5 l), se lava con cloruro de sodio acuoso saturado, se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y evapora bajo presión reducida. Se disuelve el producto crudo en éter de petróleo a 40-45

10 °C (10 l), se filtra a través de una almohadilla de tierra de diatomeas y se evapora a presión reducida. Se disuelve el residuo en éter de petróleo (5 l) y se enfría a -50°C, se filtran los primeros sólidos cosechados, se lava el sólido con éter de petróleo frío. Se evapora el licor madre, se disuelve de nuevo el sólido en éter de petróleo (1 l), se enfría a -50°C y se filtra una segunda cosecha. Se combinan la primera y segunda cosechas y se secan al aire libre para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo (1880 g, 90 %).

15 Preparación 2

5-bromo-2-etilbenzoato de metilo

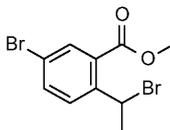


20 Se añaden dietil-zinc (3.050 ml, 3,05 moles, hexano 1 M) durante 3 horas a una solución a 5 °C de 5-bromo-2-yodobenzoato de metilo (1.876 g, 5,50 moles) y cloruro de (1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno)paladio (II) (40 g, 0,05 mol). Se calienta la mezcla a 60-65 °C durante 2 horas y se agita durante 2 horas adicionales, luego se enfría a 10-15 °C y se vierte en HCl acuoso 1 M enfriado con hielo (10 l). Se separan las fases, se extrae la capa acuosa con éter metil-terc-butílico (2 x 10 l), se combinan las fases orgánicas, se lavan con cloruro de sodio acuoso saturado, se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se evaporan a presión reducida. Se disuelve en acetato de etilo (400 ml) y se añade éter de petróleo (8 l), luego se deja reposar a 15-20°C durante 16 horas y se filtra a través de una

25 almohadilla de gel de sílice, se lava con acetato de etilo/éter de petróleo (1:20, 8 l) y se evapora el filtrado a presión reducida para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo pálido (1.306 g, 96 %). ES/MS m/e: (⁷⁹Br/⁸¹Br) 243/245 (M+H).

Preparación 3

5-bromo-2-(1-bromoetil)benzoato de metilo

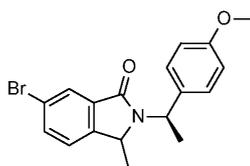


30 Se añaden N-bromosuccinimida (1.090 g, 6,12 moles) y 2,2'-azo-bis-isobutironitrilo (11,4 g, 0,069 moles) a una solución a 20 °C de 5-bromo-2-etilbenzoato de metilo (1.296 g, 5,33 mol) en tetracloruro de carbono (7 l). Se calienta a reflujo durante 4 horas, se enfría a 20-30 °C y se lava con agua (10 l), se extrae la fase acuosa con diclorometano (5 l), se combinan las capas orgánicas y se lavan con agua (10 l), Na₂SO₃ (5 l) y cloruro de sodio acuoso saturado.

35 Se seca con sulfato de sodio, se filtra y se evapora a presión reducida para producir el compuesto del título como un sólido amarillo pálido (1.791 g, 104 % en crudo). ES/MS m/z: 241 (M-HBr).

Preparación 4

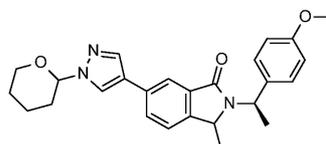
6-Bromo-2-[(1R)-1-(4-metoxifenil)etil]-3-metil-isoindolin-1-ona



Se añaden 5-bromo-2-(1-bromoetil)benzoato de metilo sólido (1.724 g, 5,35 mol) a una solución de (R)-1-(4-metoxifenil)etanamina disponible comercialmente (BePharm, WZG111219-071; 974 g, 6,44 mol) y trietilamina (1.710 ml, 12,26 moles) en metanol (12 l). Se calienta la mezcla durante 10 horas a 67°C y luego se evapora a sequedad bajo presión reducida. Se divide el residuo con acetato de etilo (5 l) y HCl acuoso 1 N (10 l), se separan las fases, se lava la fase orgánica de nuevo con HCl 1 N acuoso (5 l), bicarbonato de sodio saturado, cloruro de sodio acuoso saturado, luego se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se evapora a presión reducida. Se disuelve el aceite rojo oscuro en éter metil-terc-butílico (750 ml) y se añade éter de petróleo (3 l) con agitación vigorosa. Se filtran los sólidos, se lava con éter metil-terc-butílico/éter de petróleo (1:8), éter de petróleo, se seca al aire libre para producir el compuesto del título como un sólido blanquecino (1.014 g, 52 %). ES/EM m/z: 360 (M+H).

Preparación 5

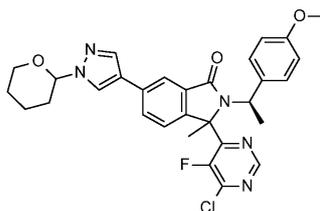
2-[(1R)-1-(4-metoxifenil)etil]-3-metil-6-(1-tetrahidropiran-2-ilpirazol-4-il)isoindolin-1-ona



Se combinan 6-bromo-2[(1R)-1-(4-metoxifenil)etil]-3-metilisoindolin-1-ona (64 g, 177 mmol), 1-(tetrahidro-2H-pirano-2-il)-1H-pirazol (67 g, 295 mmol), carbonato de potasio (70 g, 506 mmoles), cloruro de (1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno)paladio (II) (9 g, 11 mmol), dioxano (800 ml) y agua (212 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y se calienta a 70-75 °C durante 16 horas. Se añaden 1-(tetrahidro-2H-piran-2-il)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (15 g, 54 mmol) y se calienta a 80-85°C durante 2 horas. Se concentra a presión reducida hasta 200 ml, se añade acetato de etilo (500 ml) y agua (500 ml), se agita durante 30 minutos y se filtran los sólidos. Se combinan los sólidos y la capa orgánica y se evaporan a presión reducida. Se disuelve el residuo en diclorometano y se filtra a través de una almohadilla de gel de sílice. Se lava la almohadilla de gel de sílice con diclorometano/acetato de etilo (1:0) y después (2:1) y se evapora a sequedad bajo presión reducida. Se suspende el sólido en una mezcla 2:1 de éter de petróleo/acetato de etilo (600 ml) durante 30 minutos a 25-30°C y se filtra para recoger el sólido para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (68 g, 89 %). ES/MS m/z: 432 (M+H).

Preparación 6

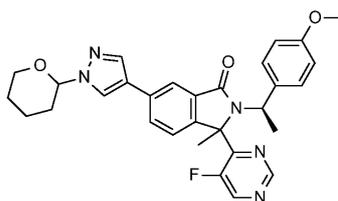
3-(6-Cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)-2-[(1R)-1-(4-metoxifenil)etil]-3-metil-6-(1-tetrahidropiran-2-il)isoindolin-1-ona



Se añaden bis(trimetilsilil) amida de sodio (210 ml, 210 mmol, THF 1 M) gota a gota durante 60 minutos a una suspensión enfriada con hielo de 2-[(1R)-1-(4-metoxifenil)etil]-3-metil-6-(1-tetrahidropiran-2-il)isoindolin-1-ona (62 g, 144 mmol) y 4,6-dicloro-5-fluoropirimidina (31 g, 186 mmol) en tetrahidrofurano (620 ml). Se agita la solución durante 60 minutos a 0 °C y después se diluye la mezcla con acetato de etilo (1 l) y agua (1 l). Se lava la fase orgánica con cloruro de sodio acuoso saturado y se evapora a presión reducida. Se disuelve el residuo en éter de petróleo/acetato de etilo 1:1, se filtra a través de una almohadilla de gel de sílice y se evapora para producir el compuesto del título en forma de una espuma amarilla (83 g, 103 %). ES/EM m/z: 562 (M+H).

Preparación 7

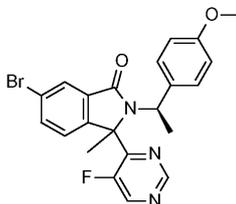
3-(5-Fluoropirimidin-4-il)-2-[(1R)-1-(4-metoxifenil)etil]-3-metil-6-(1-tetrahidropiran-2-il)isoindolin-1-ona



- 5 Se añaden trietilamina (40 ml, 287 mmol) e hidróxido de paladio al 20 % sobre carbono (14 g) a una solución de 3-(6-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)-2-[(1R)-1-(4-metoxifenil) etil]-3-metil-6-(1-tetrahidropiran-2-ilpirazol-4-il)isoindolin-1-ona (80 g, 142 mmol) en acetato de etilo (2,1 l) y se hidrogena con gas hidrógeno (30 psi) a 20-25°C durante 16 horas. Se repiten las condiciones de reacción con 5 gramos de 3-(6-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)-2-[(1R)-1-(4-metoxifenil) etil]-3-metil-6-(1-tetrahidropiran-2-ilpirazol-4-il)isoindolin-1-ona. Se combinan ambas reacciones y se filtra a través de tierra de diatomeas y se evapora para producir el compuesto del título en forma de una espuma amarilla (77 g, 102 %). ES/EM m/z: 528 (M+H).

Preparación 8

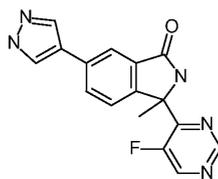
- 10 6-Bromo-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-2-[(1R)-1-(4-metoxifenil)etil]-3-metil-isoindolin-1-ona



- 15 Se disolvió 6-bromo-2-[(1R)-1-(4-metoxifenil) etil]-3-metil-isoindolin-1-ona (2,814 mmol, 1,014 g) en tetrahidrofurano (28 ml). Se añade 4-cloro-5-fluoro-pirimidina (5,628 mmol, 518 µL) y se enfría a 0 °C. Se añaden hexametildisilazida de potasio (4,502 mmol, 9 ml, 0,5 M en tolueno) durante 7 minutos y se agita durante 1 hora, luego se calienta a temperatura ambiente y se agita durante 90 minutos. Se vierte en éter metil-terc-butílico y HCl 1 M acuoso, se añade agua y se separan las capas. Se lava con HCl acuoso 1 N, se filtra, se lava con cloruro de sodio acuoso saturado, se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra a través de una almohadilla de 2 cm de gel de sílice y se evapora a presión reducida para proporcionar un aceite. Se purifica sobre gel de sílice con acetato de etilo/hexano al 20-40 % para producir el compuesto del título como una espuma (547 mg, 43 %). ES/MS m/z: 456 (M+H).

20 Ejemplo 1

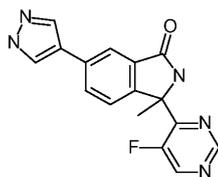
3-(5-Fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona



- 25 Se disuelve 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-2-[(1R)-1-(4-metoxifenil)etil]-3-metil-6-(1-tetrahidropiran-2-ilpirazol-4-il)isoindolin-1-ona (65 g, 123 mmol) en ácido trifluoroacético (600 ml) y se calienta a 75-80 °C durante 16 horas. Se evapora a presión reducida y se diluye con acetato de etilo (500 ml) y agua (500 ml). Se ajusta el pH de la capa acuosa a 8-9 con NaOH 6 N acuoso, se extrae la capa acuosa con acetato de etilo (3 x 500 ml), se combinan las capas orgánicas, se lava con cloruro de sodio acuoso saturado, se seca con sulfato de sodio, se filtra, y se evapora bajo presión reducida. Se somete a cromatografía el producto crudo sobre gel de sílice con acetato de etilo/éter de petróleo al 50-100 %. Se combinan las fracciones del producto y se evaporan a presión reducida para producir una espuma amarilla (33 g, 87 % de crudo). Se repiten las condiciones de reacción con 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-2-[(1R)-1-(4-metoxifenil)etil]-3-metil-6-(1-tetrahidropiran-2-ilpirazol-4-il)isoindolin-1-ona y se combinan los productos (10 g, 18,9 mmol). Se disuelven los productos combinados en metanol y se agita con tior SiliaBond® (tior SiliaMetS®) a 15-20°C durante 20 horas, se filtra y evapora bajo presión reducida para producir el compuesto del título con 77 % de ee (38 g, 87 %).

35 Ejemplo 2

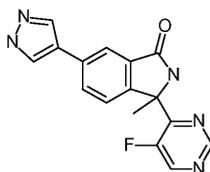
3-(5-Fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2



5 Se separan el enantiómero principal (isómero 2) de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona (38 g, 123 mmol) del enantiómero menor (isómero 1) de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona por HPLC quiral preparativa. Cromatografía de fluido supercrítico (SFC) (columna: Chiralpak OJ-H (5 μ), 30 x 250 cm, eluyente: isopropanol al 15 % en CO₂, flujo 120 g/min a UV 214 nm). El segundo isómero que eluye (isómero 2) es el compuesto del título (17 g, 45 %, > 98 % ee). Análisis quiral (columna: Chiralpak OJ-H (5 μ m) 4,6 x 250 mm, eluyente: isopropanol al 20 % en CO₂, flujo: 3 ml/min a UV 214 nm, R_t = 5,78 minutos. ES/MS m/z 310 (M+H).

Ejemplo 3

10 3-(5-Fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona



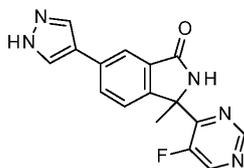
15 Se combina cloruro de fenetilamina RuPhos paladio (II) (60 μ mol, 43 mg), dioxano (0,5 ml) y terc-butóxido de potasio (tetrahidrofurano 1 M, 60 μ mol, 60 μ L) bajo atmósfera de nitrógeno, se somete a ultrasonido la mezcla durante 0,5 minutos. Se añade la mezcla de catalizadores RuPhos a un recipiente de reacción bajo atmósfera de nitrógeno que contiene 6-bromo-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-2-[(1R)-1-(4-metoxifenil)etil]-3-metilisoindol-1-ona (544 mg, 1,192 mmol), 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirazol-1-carboxilato de terc-butilo (1,79 mmol, 526 mg), 1,4-dioxano (6 ml), carbonato de sodio (3,6 mmol, 2,4 ml 1,5 M acuoso) y se calienta en un microondas a 150 °C durante 30 minutos. Se diluye la mezcla con acetato de etilo, se lava con carbonato de sodio acuoso 1,5 M, se lava con cloruro de sodio acuoso saturado, se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra a través de tierra de diatomeas y se evapora hasta un residuo amarillo claro. Se disuelve el residuo en anisol (1 ml) y ácido trifluoroacético (7 ml) y se calienta a 80 °C durante 4 horas, luego se calienta a 70 °C durante 18 horas. Se evapora la mezcla a presión reducida, se disuelve en metanol, se carga sobre una columna SCX de 10 g, se lava con metanol (100 ml), se eluye con amoniaco 2 M en metanol y se evapora. Se purifica sobre 40 g de gel de sílice con un gradiente de metanol/diclorometano al 1-8 % para producir el compuesto del título en forma de una espuma blanca (279 mg, 76 %). ES/EM m/z: 310 (M+H).

20

25

Ejemplo 4

3-(5-Fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2, Hidrato



H₂O

30 Se suspende (5-fluoropirimidin 4 il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, isómero 2 (9,6 g, 0,03 moles) en acetona al 2 % en agua (50 ml) y se agita la mezcla a 50 °C durante 1,5 horas. Se añade acetona (1 ml) y se calienta la mezcla a 65 °C durante 1 hora antes de enfriar lentamente a temperatura ambiente durante 12 horas. Se filtran los sólidos y se enjuaga con cuatro volúmenes de agua. Se seca el sólido al vacío a 50 °C durante 6 horas para producir el compuesto del título (8,6 g, 90 %).

Difracción de rayos X de polvos

35 Los patrones de XRD de sólidos cristalinos se obtienen en un difractor de rayos X de polvos Bruker D4 Endeavor, equipado con una fuente CuK α (λ = 1,54060 Å) y un detector Vantec, que funciona a 35 kV y 50 mA. La muestra se escanea entre 4 y 40° en 2 θ , con un tamaño de paso de 0,0087° en 2 θ y una velocidad de barrido de 0,5 segundos/paso, y con divergencia de 0,6 mm, 5,28 mm de antidispersión fija y ranuras de detector de 9,5 mm. El polvo seco se empaca en un soporte de muestras de cuarzo y se obtiene una superficie lisa usando un portobjetos de vidrio. Es bien conocido en la técnica de cristalografía que, para cualquier forma cristalina dada, las intensidades

40

relativas de los picos de difracción pueden variar debido a la orientación preferida resultante de factores tales como la morfología y el hábito del cristal. Cuando están presentes los efectos de la orientación preferida, las intensidades de los picos se alteran, pero las posiciones de los picos característicos del polimorfo no cambian. Además, también es bien conocido en la técnica de cristalografía que, para cualquier forma cristalina dada, las posiciones de los picos angulares pueden variar ligeramente. Por ejemplo, las posiciones de los picos pueden cambiar debido a una variación en la temperatura o la humedad a la que se analiza la muestra, el desplazamiento de la muestra o la presencia o ausencia de un patrón interno. En el presente caso, una variabilidad de la posición del pico de $\pm 0,2$ en 2θ tendrá en cuenta estas variaciones potenciales sin obstaculizar la identificación inequívoca de la forma cristalina indicada. La confirmación de una forma cristalina puede hacerse con base en cualquier combinación única de picos distintivos (en unidades de $^\circ 2\theta$), típicamente los picos más prominentes. Los patrones de difracción de la forma cristalina, recogidos a temperatura ambiente y humedad relativa, se ajustan con base en los picos estándar NIST 675 a 8,85 y 26,77 grados 2-theta.

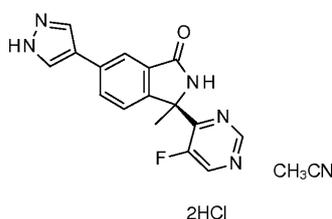
Una muestra preparada del Ejemplo 4 se caracteriza por un patrón de XRD usando radiación CuK α con picos de difracción (valores 2-teta) como se describe en la Tabla 1 a continuación. Específicamente, el patrón contiene un pico a 22,27 en combinación con uno o más de los picos seleccionados del grupo que consiste en 13,46, 16,54, 16,66, 18,10 y 23,13 con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,2 grados.

Tabla 1

Picos de difracción de rayos X de polvos del Ejemplo 4		
Pico	Ángulo (2-Theta $^\circ$)	Intensidad (%)
1	7,16	14
2	13,46	51
3	14,82	19
4	16,54	32
5	16,66	32
6	16,96	14
7	18,10	27
8	18,84	15
9	19,33	15
10	21,78	15
11	22,27	100
12	23,13	30
13	23,51	15
14	23,86	13
15	25,99	18
16	27,21	14

Ejemplo 5

(3R)-3-(5-Fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, diclorhidrato, solvato de acetonitrilo



Se añade HCl 0,25 M (1 ml) a 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona (Ejemplo 3, 0,084 mg, 0,27 mmol) y se somete a ultrasonido la muestra. Todo el material es soluble. Se evapora la mezcla a sequedad, dando como resultado un residuo aceitoso. Se añade acetonitrilo (2 ml) y la solución se vuelve amarilla y comienzan a formarse cristales. Se aíslan cristales individuales para obtener la difracción de rayos X de un solo cristal. Se determina que la muestra es un solvato de acetonitrilo de una sal de dihidrocloruro. Los átomos de cloro proporcionan una dispersión anómala suficiente para permitir determinar la estereoquímica absoluta de la molécula por difracción de rayos X de un solo cristal.

Para el análisis cristalográfico por rayos X se utiliza un espécimen incoloro transparente de tipo prisma de $C_{18}H_{17}Cl_2FN_6O$, dimensiones aproximadas 0,180 mm x 0,200 mm x 0,220 mm. Se recogen un total de 3.318 estructuras. El tiempo total de exposición es de 1,84 horas. Las estructuras se integran con el paquete de software Bruker SAINT utilizando un algoritmo de estructura estrecha. La integración de los datos utilizando una célula unitaria ortorrómbica produjo un total de 13.411 reflejos a un ángulo θ máximo de $66,30^\circ$ (resolución de 0,84 Å), de los cuales 3.304 son independientes (redundancia promedio 4,059, completitud = 97,8 %, $R_{int} = 7,25$ %, $R_{sig} = 6,30$ %) y 2.885 (87,32 %) fueron mayores que $2\sigma(F^2)$. Las constantes finales de celda de $a = 8,0583$ (2) Å, $b = 36,3803$ (9) Å, $c = 6,96840$ (10) Å, volumen = 2.042,88 (8) Å³, se basan en el refinamiento de los centroides de XYZ de 6.295 reflexiones por encima de $20 \sigma(I)$ con $11,24^\circ < 2\theta < 132,0^\circ$. Los datos se corrigen por los efectos de absorción utilizando el procedimiento de barrido múltiple (SADABS). La relación de transmisión aparente mínima a máxima es de 0,761. Los coeficientes de transmisión mínimo y máximo calculados (basados en el tamaño del cristal) son 0,5466 y 0,6033.

La estructura se resuelve y se refina usando el paquete de software Bruker SHELXTL^{MR}, usando el grupo espacial P 21 21 2, con $Z = 4$ para la unidad de la fórmula, $C_{18}H_{17}Cl_2FN_6O$. El refinamiento anisótropo final de mínimos cuadrados de toda la matriz en F^2 con 255 variables convergió en $R1 = 4,27$ %, para los datos observados y $wR2 = 10,80$ % para todos los datos. La bondad del ajuste es de 1,066. El pico más grande en la síntesis de densidad electrónica de la diferencia final es de $0,295 e/\text{Å}^3$ y el agujero más grande es $-0,204 e/\text{Å}^3$ con una desviación de RMS de $0,056 e/\text{Å}^3$. Con base en el modelo final, la densidad calculada es $1,376 \text{ g/cm}^3$ y $F(000)$, 872 e⁻. El parámetro de estructura absoluta se refina a 0,0(0), indicando que la estructura absoluta de la molécula es consistente con el compuesto del título. La molécula de disolvente de acetonitrilo está algo desordenada y por consiguiente se refina isotrópicamente, mientras que la (3R)-3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona y los iones cloruro se refinan anisotrópicamente. Este resultado para el Ejemplo 5 establece la estereoquímica absoluta de la molécula como el enantiómero R, estableciendo así también la estereoquímica del Ejemplo 3, a partir de la cual se deriva el Ejemplo 5.

Adicionalmente, los Ejemplos 2 y 3 se someten a análisis mediante cromatografía de fluido supercrítico HPLC quiral (SFC) usando las mismas condiciones para determinar el enantiómero presente para cada Ejemplo. (Columna: Chiralcel OJ-H 4,6 mm x 150 mm, isopropanol al 20 % en CO₂, 5 ml/min, UV 225 nm). Para el Ejemplo 2 y el Ejemplo 3, el isómero 1 eluye a 1,53' y el isómero 2 eluye a 1,81-1,84'. En este análisis, el Ejemplo 2 tiene 100 % de ee y el Ejemplo 3 tiene 96,4 % de ee. Estos resultados demuestran que el enantiómero presente tanto para el Ejemplo 2 como para el Ejemplo 3 es el isómero 2. Dado que la estereoquímica absoluta para el Ejemplo 3 es el enantiómero R, como se mencionó anteriormente, y los Ejemplos 2 y 3 se identifican ambos por HPLC quiral SFC como el isómero 2, la estereoquímica absoluta para el Ejemplo 2 es, por lo tanto, también el enantiómero R. Además, dado que el Ejemplo 2 se utiliza para preparar el Ejemplo 4, la estereoquímica absoluta para el Ejemplo 4 es el enantiómero R.

Ensayo de formación de imágenes Acumen® para la detección de MCM2 fosforilado en células H1299

El Acumen® eX3 se utiliza para determinar el efecto de los compuestos sobre la formación de MCM2 endógeno fosforilado en Serina 53 (pMCM2-S53). La fosforilación de MCM2 por CDC7 se determina usando anticuerpo anti-pMCM2-S53 específico y se cuantifica con anticuerpos secundarios etiquetados en forma fluorescente mediante Acumen® eX3 para controlar la actividad de CDC7 en las células. Se sabe que la fosforilación de MCM2 en Serina 53 está correlacionada con la inhibición de CDC7.

Se mantienen células H1299 (ATCC # CRL-5803) en medio de cultivo RPMI-1640 (Hyclone SH30809.01) complementado con FBS al 10 %. Las células se recogen utilizando procedimientos estándar de cultivo de células y después se cuentan utilizando el analizador de viabilidad de células Vi-Cell XR (Contador de Beckman). Se siembran en placa 3.000-6.000 células H1299 en 100 μ l de medio de cultivo en cada pozo de las placas negra/clara BioCoat Poli-D-Lisina de 96 pozos con placas de cultivo de células fondo plano BioCoat^{MR} de múltiples pozos (Becton Dickinson) ref. 356640 y se incuban durante la noche a 37°C , 5 % de CO₂.

Las células se tratan con el compuesto de prueba (50 μ l/pozo) diluido en medio que contiene DMSO al 0,6 % y se incuban durante 4 horas a 37°C . A cada pozo se le añade formaldehído al 7,4 % (150 μ l) diluido con PBS a partir de un patrón de formaldehído al 37 % y se incuban las placas a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se elimina el formaldehído y se añade metanol frío (100 μ l). Las placas se incuban durante 20 minutos a 4°C para permeabilizar las células. Las placas se lavan 3 veces con 100 μ l/pozo de PBS. Las placas se incuban con 50 μ l/pozo de anticuerpo anti pMCM2-S53 diluido 1:1.000 (generado usando NP_004517.2 (véase la base de datos de secuencias PubMed), conjugación con hemocianina de lapa de ojo de cerradura usando activación de maleimida, a través del

5 protocolo estándar de inmunización de conejo de 90 días para la producción de anticuerpos policlonales de conejo (anticuerpos Thermo Scientific Pierce, Thermo Fisher Scientific) en PBS complementado con BSA al 2 % durante la noche a 4 °C. Las placas se lavan con PBS (4 x 100 µL/pozo) y se incuban en 100 µL/pozo de anticuerpo secundario anti-IgG de conejo Alexa Fluor 488 de cabra diluido 1:1000 (Invitrogen CA11304s) en PBS durante 1 hora a temperatura ambiente. Las placas se lavan con PBS (4 x 100 µL/pozo). Se añaden PBS (50 µL/pozo) que contiene RNasa (50 µg/ml) y yoduro de propidio (15 µM) y se incuban las placas a temperatura ambiente durante 30 minutos. Las placas se sellan con sello negro y se leen en el Acumen® eX3 (TTP LABTECH) utilizando un filtro óptico de 500-530 nanómetros y 575-640 nanómetros para Alexa Fluor 488 y yoduro de propidio, respectivamente. El número de células positivas a pMCM2-S53 se normaliza para el número de células totales por cada pozo y se calculan como porcentaje de inhibición con respecto a los controles en placa. Se genera el porcentaje de inhibición de los datos de concentración de compuesto de diez puntos para una ecuación logística de cuatro parámetros para derivar el valor de IC₅₀.

15 Los compuestos dentro del ámbito de la invención se analizan en este ensayo sustancialmente como se ha descrito anteriormente. Se determina que el compuesto del Ejemplo 2 tiene una IC₅₀ de 0,261 µM ± 0,004 (n = 2). Se determina que el compuesto del Ejemplo 3 tiene una IC₅₀ de 0,29 µM. Se determina que el compuesto del Ejemplo 4 tiene una IC₅₀ de 0,29 µM ± 0,0813 (n = 2). Estos resultados muestran que los Ejemplos 2, 3 y 4 inhiben pMCM2-S53 en el ensayo de células H1299 y, por tanto, son inhibidores de CDC7.

Ensayo de enzimas CDC7/DBF4 *in vitro*

20 El ensayo de la quinasa ADP-FP Transcreener^{MR} se usa para determinar los valores de IC₅₀ del compuesto frente a la quinasa CDC7/DBF4. El ensayo de la quinasa ADP-FP evalúa la actividad de CDC7/DBF4 en presencia de inhibidores compuestos midiendo la concentración de ADP formada en una reacción de quinasa. La reacción de la quinasa se realiza usando un volumen de reacción de 25 microlitros en una placa de ensayo de 96 pozos. Para el ensayo de ADP-FP, se añaden los reactivos para obtener las condiciones de reacción finales de HEPES (25 mM) a pH 7,5, Triton® X-100 al 0,03 %, cloruro de magnesio (10 mM), DTT (1 mM), MCM2 (400 nM) (aminoácido 1-209, un sustrato fisiológico de CDC7/DBF4), espermina (4 mM), CDC7/DBF4 (2,640 ng/ml) (CDC7/DBF4 humana recombinante expresada en células de insecto), dimetilsulfóxido al 4 % y diluciones en serie del compuesto (diluido 1:3 a partir de 20.000 nM a 1 nM). Se añaden la enzima y el sustrato al compuesto seguido de ATP a 5 µM para iniciar la reacción. Las placas se incuban a temperatura ambiente durante 60 minutos.

30 Para el formato de ADP-FP, se añaden 25 microlitros de un reactivo de detección de la inactivación que contiene HEPES (52 mM) a pH 7,5, EDTA (20 mM), cloruro de sodio (0,4 M), polioxietilenglicol dodecil éter (0,02 %) (BRIJ-35^{MR}), anticuerpo anti-ADP (10 µg/ml) y ADP (4 nM) trazador Transcreener® ADP Alexa fluor® 633 para inactivar la reacción. Las placas se incuban durante 1 hora, y después se leen en un lector de múltiples marcadores Wallac EnVision^{MR} 2104 (PerkinElmer) en el modo de polarización de fluorescencia usando filtros de polarización de longitud de onda Ex_{620nm} y Em_{688nm}. Los datos sin procesar de milipolarización (mP) se convierten en ADP micromolar usando una curva patrón de ADP/ATP preparada comenzando con una dilución en serie de ADP 5 µM 1:1 en tampón de reacción a 0,0025 µM de ADP. El valor de IC₅₀ para cada compuesto se obtiene usando los datos de inhibición en porcentaje calculados a partir de los datos de la reacción de ADP en µM con relación a los controles en placa (controles de la enzima inhibida con DMSO frente a EDTA 100 mM). El porcentaje de inhibición y los datos de concentración del compuesto en diez puntos se ajustan a una ecuación logística de cuatro parámetros.

40 Los compuestos dentro del ámbito de la invención se prueban en este ensayo sustancialmente como se ha descrito anteriormente. Se determina que el compuesto del Ejemplo 2 tiene una IC₅₀ de 3,7 nM. Se determina que el compuesto del Ejemplo 3 tiene una IC₅₀ de 4,5 nM. Se determina que el compuesto del Ejemplo 4 tiene una IC₅₀ de 3,3 nM ± 0,634 (n = 2). Los resultados muestran que los Ejemplos 2, 3 y 4 inhiben la producción de ADP en el ensayo enzimático *in vitro* y, por tanto, son inhibidores de CDC7.

45 Ensayo antiproliferativo *in vitro*

La actividad antiproliferativa *in vitro* del Ejemplo 2 se determina mediante ensayos de recuento del número de células contra un panel de 114 líneas celulares de cáncer de origen colorrectal, de mama, de pulmón y de sangre (leucemia) obtenidas de ATCC, HSRRB, RIKEN o ECACC. Las células se cultivan y se mantienen en medios según las instrucciones del proveedor. Se determina el tiempo de duplicación del número de células de cada línea celular y todas las líneas celulares están libres de contaminación por micoplasma. Las células se cultivan durante la noche en placas de 96 pozos antes de la adición del compuesto para los ensayos de actividad anti-proliferativa. La densidad óptima de siembra celular se evalúa cuidadosamente para cada una de las líneas de células sembrando el cultivo celular con 4 densidades de células diferentes en 100 µL de medio y teniendo en consideración su tiempo de duplicación y tamaño de las células. A continuación, se selecciona la densidad de siembra que proporcionó alrededor del 90 % de confluencia al final de dos tiempos de duplicación para la prueba del compuesto. La estaurosporina se usa en una dilución 1:3 como referencia. El Ejemplo 2 se prepara como un patrón de DMSO 4 mM y se diluye en medio de cultivo en una relación 1:2. Se añaden 50 µl del medio que contiene el compuesto a cada pozo del cultivo de 96 pozos durante la noche para producir las concentraciones finales deseadas de 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,312; 0,156; 0,078 µM y control de DMSO. Cada concentración de tratamiento tiene pozos duplicados. Las células se cultivan adicionalmente durante dos tiempos de duplicación en presencia del compuesto. Al final del

tiempo de tratamiento, las células se examinan en primer lugar bajo un microscopio para observar los cambios morfológicos, tal como la muerte celular o el aumento evidente del tamaño de la célula. Las células en cada pozo duplicado se recogen por separado. Se recogen primero las células adherentes mediante tripsinización. Las células recogidas se resuspenden en medio de cultivo y se cuentan utilizando un contador de células.

5 Un compuesto dentro del ámbito de la invención se analiza en este ensayo sustancialmente como se ha descrito anteriormente. Como se presenta en la Tabla 2 a continuación, el compuesto del Ejemplo 2 demuestra una actividad antiproliferativa significativa contra la mayoría de las 114 líneas celulares de cáncer ensayadas a concentraciones farmacológicamente relevantes (< 8 µM). Además, aproximadamente el 10 % de las líneas celulares de cáncer muestran una sensibilidad particular al compuesto, como se demuestra por la muerte masiva de las células que
10 ocurre para estas células cancerosas dentro de 2 períodos de tiempo de tratamiento de duplicación. La mayoría de estas líneas celulares de cáncer particularmente sensibles se derivan de cáncer colorrectal y leucémico. La sensibilidad se confirma además *in vivo* en los modelos de tumor de xenoinjerto, tales como Colo-205 y SW620 (véanse los detalles a continuación). Estos datos demuestran que el Ejemplo 2 tiene amplia actividad antiproliferativa *in vitro* en las líneas celulares ensayadas.

15 **Tabla 2: Actividad anticancerosa *in vitro* de amplio espectro del compuesto del Ejemplo 2**

Líneas celulares cancerosas	Número de líneas celulares	Número de líneas celulares		Número de líneas celulares que mueren rápidamente
		(IC ₅₀ < 8 µM)	(IC ₅₀ > 8 µM)	
Colorrectal	29	18	11	4
Pulmón	39	29	10	2
Mama	17	10	7	0
Leucemia	23	18	5	5
Otros	6	4	2	1
Total	114	79	35	12

Inhibición objetivo *in vivo* (IVTI) de CDC7 sobre la fosforilación de MCM2-S40/41 (pMCM2-S40/41) con el modelo del tumor de xenoinjerto Colo-205

20 Se mantienen células cancerosas colorrectales colo-205 humanas (ATCC # CCL-222) en medio RPMI 1640 que contiene FBS al 10 %. Se recogen las células en crecimiento en fase logarítmica, se lavan y se resuspenden en una mezcla 1:1 de medio libre de suero y Matrigel^{MIR} (Becton Dickinson). Se inyectan subcutáneamente a razón de 5 x 10⁶ células/animal/sitio en el flanco trasero como modelos de xenoinjerto de tumor subcutáneo en ratones hembra Balb/c (nu/nu) (6-8 semanas de edad con un peso corporal de 20 a 25 gramos/ratón). A los animales se les asigna al azar a un volumen tumoral medio de ratones de 150 a 250 mm³, (v = 1 x w x 0,536 donde 1 = mayor del diámetro medido y w = menor del diámetro perpendicular). El compuesto es administrado por P.O. en una formulación estándar al 1 % de HEC p/v, P80 al 0,25 % v/v, antiespumante 1510-US al 0,05 % v/v. Los tumores se recogen 4
25 horas después de la dosificación y se rompen mediante homogeneización en tampón de lisis (Invitrogen) que contiene inhibidor de proteasa (Roche) e inhibidor de fosfatasa (Roche o Sigma). La concentración de proteína a partir de lisados tumorales se determina mediante el ensayo BCA (Thermo Scientific) y se separan 5 a 10 µg de proteína mediante SDS-PAGE estándar (gel Criterion^{MIR} de BioRad) o (gel ePage^{MIR} de Invitrogen). Las proteínas se transfieren luego a membrana de PVDF o nitrocelulosa y se prueban con anticuerpos contra pMCM2-S40/41 (Bethyl Laboratories # A300-788A) o GAPDH (Fitzgerald 10R-G109A o Abcam ab9485) según el fabricante y el protocolo estándar de transferencias Western. Se determinan los niveles de pMCM2-S40/41 y se cuantifican ya sea por los generadores de imágenes Licor o FUJI y se normalizan al nivel total de GAPDH. La inhibición del porcentaje de cambio de la intensidad de la banda de pMCM2-S40/41 se calcula utilizando la intensidad media de los tumores de control tratados con vehículo normalizados a la GAPDH como la señal máxima. La siguiente fórmula se utiliza para calcular el porcentaje de inhibición de la señal en los grupos de tumores tratados: Porcentaje de inhibición = (datos normalizados - máx normalizado) / (cero - máx normalizado)*100. El valor de TED₇₀ relaciona la dosis precisa del compuesto necesario para inhibir al 70 %, la fosforilación promedio mediada por CDC7/DBF4 de pMCM2
35 normalizado a GAPDH (% de inhibición objetivo) en un experimento de xenoinjerto *in vivo* a las 4 horas después de una dosis oral. La TEC₇₀ relaciona la concentración precisa en plasma del compuesto necesaria para inhibir al 70 % la fosforilación promedio mediada por CDC7/DBF4 de pMCM2 normalizada a GAPDH (% de inhibición objetivo) en un experimento de xenoinjerto *in vivo* a las 4 horas después de una dosis oral.

Se prueba un compuesto dentro del ámbito de la invención en este ensayo, sustancialmente como se ha descrito anteriormente. La TED_{70} se genera a partir de un gráfico de dosis y % de inhibición de pMCM2 y para el Ejemplo 3 es de 2,6 mg/kg. La TEC_{70} se genera utilizando la dosis, el % de inhibición de pMCM2 y la concentración en plasma al 70 % de inhibición. La TEC_{70} para el Ejemplo 3 es de 1,8 μ M. Estos datos demuestran que un compuesto dentro del ámbito de la presente invención inhibe la fosforilación mediada por CDC7/DBF4 de pMCM2 en un experimento de xenoinjerto de ratón *in vivo* 4 horas después de una dosis oral en ratones.

Eficacia antitumoral en el modelo de xenoinjerto de ratón SW620 de carcinoma colorrectal humano

Se estudia la actividad anticancerígena *in vivo* del Ejemplo 4 en el modelo de tumor de xenoinjerto de ratón SW620 de línea celular de adenocarcinoma colorrectal humano, que se prevé que sea sensible con base en los datos del ensayo proliferativo de recuento de células *in vitro* descritos anteriormente. La línea celular SW620 se obtiene de la American Type Culture Collection (ATCC) y se cultiva en medio I-15 de Leibovitz con suero bovino fetal al 10 % siguiendo las instrucciones de la ATCC. Se inyecta subcutáneamente una suspensión de células SW620 (5,0 x 10⁶/0,2 ml) al flanco derecho de cada ratón Balb/c desnudo hembra atímico. Los ratones (5 a 6 semanas de edad a la llegada) se obtienen del Shanghai Sipp-bk Laboratory Animals Ltd. Tras la recepción y durante todo el estudio, los animales se alojan a razón de 5 animales por jaula en jaulas de fondo sólido de tamaño apropiado en contacto con paja como lecho. Los animales se aclimatan durante 7 días antes de la implantación de las células SW620. Los animales se alimentan con dieta para roedores certificada por Shanghai Laboratory Animal Center con un 23 % de proteína sin restricción y el agua del grifo esterilizada en autoclave se proporciona también sin restricción. La habitación para los animales se mantiene en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Cuando el volumen del tumor alcanza un promedio de 154,9 mm³ (9 días después de la implantación del tumor), los animales portadores de tumores se agrupan aleatoriamente en 9 grupos (8 animales/grupo) con volumen tumoral medio y peso corporal similares. El peso corporal medio de los ratones portadores de tumores era de 17,3 g. El compuesto se formula en HEC al 1 % p/v, P80 al 0,25 % v/v y antiespumante 1520-US al 0,025 % v/v en agua desionizada mediante sonicación con sonda durante 15 minutos sobre hielo y la formulación del compuesto se prepara diariamente para dosificación de los animales. El compuesto formulado se administra en dosis de 10,4, 20,8 y 31,2 mg/kg (que contienen 10, 20 y 30 mg/kg de ingrediente farmacéutico activo API, respectivamente) dos veces al día (BID) por administración oral forzada (0,1 ml/20 g) durante 2 semanas. La dosificación BID se realiza aproximadamente con espaciado de 8 horas (aproximadamente 9 am y 5 pm cada día). El vehículo también se administra BID como el brazo de control del estudio. El volumen del tumor y el peso corporal se miden 3 veces por semana de una manera ciega. El volumen tumoral se determina mediante mediciones del calibre (mm) y usando la fórmula para una esfera elipsoide: volumen tumoral (mm³) = longitud x anchura²/2, donde longitud y anchura se refieren a las dimensiones perpendiculares mayores y menores recogidas en cada medición. El comportamiento del animal y la salud del animal se controlan dos veces al día durante el período de dosificación. El estudio finaliza el día 28 después de la iniciación del tratamiento.

El análisis estadístico de los datos del volumen del tumor comienza con una transformación de los datos a una escala logarítmica para igualar la varianza a través del tiempo y de los grupos de tratamiento. Los datos logarítmicos del volumen se analizan con un análisis de varianza de las medidas repetidas dos veces por tiempo y tratamiento usando los procedimientos MIXED en el software SAS (versión 9.3). El modelo de correlación para las medidas repetidas se eleva a una potencia que es la diferencia real en tiempos. Los grupos tratados se comparan con el grupo de control en cada punto de tiempo. El procedimiento MIXED también se utiliza por separado para cada grupo de tratamiento para calcular los valores ajustados y los errores estándar en cada punto de tiempo. Ambos análisis explican la autocorrelación dentro de cada animal y la pérdida de datos que ocurre cuando los animales con tumores grandes son removidos temprano del estudio. Los valores ajustados y los errores estándar se representan para cada grupo de tratamiento en función del tiempo. El análisis que compara los grupos tratados con los grupos de control en cada punto de tiempo usa los log en base 10 de los volúmenes de los tumores y produce los valores p. Para la significancia estadística de los valores p mostrados, "****" = P < 0,001.

Si $T > T_0$, se utiliza el cálculo del % Delta T/C, %. Si $T < T_0$ la regresión, se utiliza el cálculo del %:

Ecuaciones:

T = Volumen final del tumor en el grupo tratado

T₀ = volumen basal del tumor en el grupo tratado (se supone que es igual que C₀)

C = Volumen final del tumor en el grupo de control

C₀ = Volumen basal del tumor en el grupo de control (se supone que es igual a T₀)

$$\text{Delta T/C, \%} = 100 * (T - T_0) / (C - C_0)$$

$$\text{Regresión, \%} = 100 * (T - T_0) / T_0$$

55

Tabla 3: Actividad antitumoral dependiente de la dosis en el modelo tumoral de xenoinjerto de ratón SW620

Grupo	Compuesto	Tratamiento (BID x 14, en forma oral)	%T/C día 16
1	Vehículo		
2	Ejemplo 4	31,2 mg/kg	66,1***
3	Ejemplo 4	20,8 mg/kg	5,7***
4	Ejemplo 4	10,4 mg/kg	26,1***

5 Un compuesto dentro del ámbito de la invención se prueba en este ensayo sustancialmente como se ha descrito anteriormente. Como se muestra en la Tabla 3 anterior, el compuesto del Ejemplo 4 demuestra la actividad anticancerosa *in vivo* sobre los tumores de xenoinjerto SW620 de una manera dependiente de la dosis cuando se administra BID continuamente durante 2 semanas. Los resultados para todas las dosis probadas son significativamente más pequeños que para el vehículo. Esta actividad es consistente con la actividad *in vitro* observada con la línea celular cancerosa SW620. A la dosis máxima tolerada de 31,2 mg/kg, el compuesto provoca una regresión tumoral significativa, como se muestra por el valor negativo. Tampoco se observa un crecimiento tumoral significativo durante 2 semanas después de cesar la dosificación. Estos datos demuestran que el Ejemplo 4
10 proporciona actividad antitumoral dependiente de la dosis en un modelo de tumor de xenoinjerto de ratón SW620.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o una sal o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El compuesto según la reivindicación 1, que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona.
- 5 3. El compuesto según la reivindicación 1, que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, enantiómero R, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
4. El compuesto según la reivindicación 3, que es el enantiómero R de 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona.
- 10 5. El compuesto según la reivindicación 1, que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, enantiómero S, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
6. El compuesto según la reivindicación 5, que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, enantiómero S.
7. El compuesto según la reivindicación 1, que es 3-(5-fluoropirimidin-4-il)-3-metil-6-(1H-pirazol-4-il)isoindolin-1-ona, o un hidrato del mismo.
- 15 8. El compuesto según la reivindicación 7, que es un hidrato en una forma cristalina **caracterizado por** un patrón de difracción de rayos X de polvos que tiene picos característicos, en $2\theta \pm 0,2$, que ocurre a 22,27 y uno o más de 13,46, 16,54, 16,66, 18,10 y 23.13.
9. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto o sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 20 10. El compuesto o la sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para su uso en terapia.
11. El compuesto o la sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para su uso en el tratamiento de cáncer.
12. El compuesto o la sal para su uso según la reivindicación 11, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de mama triple negativo, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, cáncer hematológico y leucemia.
- 25 13. El compuesto o la sal para su uso según la reivindicación 12, en el que el cáncer es cáncer colorrectal.