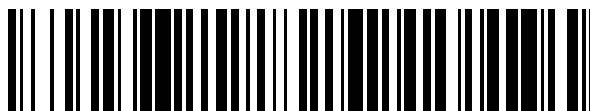


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 709 003**

51 Int. Cl.:

C07D 401/12 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

A61K 31/497 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.11.2012 PCT/GB2012/052786**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.05.2013 WO13068755**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.11.2012 E 12784666 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2018 EP 2776417**

54 Título: **Compuestos de 5-(piridin-2-il-amino)-pirazina-2-carbonitrilo y su uso terapéutico**

30 Prioridad:

09.11.2011 US 201161557457 P

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

12.04.2019

73 Titular/es:

**CANCER RESEARCH TECHNOLOGY LIMITED
(100.0%)**

**Angel Building 407 St John Street
London EC1V 4AD, GB**

72 Inventor/es:

**COLLINS, IAN;
LAINCHBURY, MICHAEL;
MATTHEWS, THOMAS PETER y
READER, JOHN CHARLES**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 709 003 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de 5-(piridin-2-il-amino)-pirazina-2-carbonitrilo y su uso terapéutico

Campo técnico

5 La presente invención está relacionada en general con el campo de los compuestos terapéuticos. Más específicamente, la presente invención se refiere a ciertos compuestos de piridil-amino-pirazina-carbonitrilo que, entre otras cosas, inhiben la función cinasa de la cinasa de punto de control 1 (CHK1). La presente invención se refiere también a composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos, y a tales compuestos y composiciones para uso, tanto *in vitro* como *in vivo*, para inhibir la función de la cinasa CHK1, y en el tratamiento de enfermedades y afecciones que están mediadas por CHK1, que se mejoran por la inhibición de la función de la cinasa CHK1, etc., incluyendo las afecciones proliferativas tales como el cáncer, etc., opcionalmente en combinación con otro agente, por ejemplo, (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); (d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.

Antecedentes

15 Se citan en la presente memoria una serie de publicaciones para describir y divulgar más completamente la invención y el estado de la técnica a la que pertenece la invención.

A lo largo de esta memoria descriptiva, incluidas las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera otra cosa, los términos "comprender" y variaciones tales como "comprende" y "que comprende" se entenderá que implican la inclusión de un número entero o una etapa o grupo de enteros indicado, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de enteros o etapas.

Cabe señalar que, tal como se utilizan en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el", "la" incluyen los referentes plurales, a menos que el contexto indique claramente otra cosa. Así, por ejemplo, la referencia a "un vehículo farmacéutico" incluye mezclas de dos o más de tales vehículos, y similares.

25 Los intervalos se expresan a menudo en la presente memoria como desde "aproximadamente" un valor particular, y/o hasta "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa un intervalo de esta manera, otra realización incluye desde el un valor particular y/o hasta el otro valor particular. De manera similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente "aproximadamente", se entenderá que el valor particular forma otra realización.

30 Cinasa de punto de control 1 (CHK1)

La evolución a través del ciclo de división celular es un proceso estrechamente regulado y es monitorizado en varias posiciones conocidas como puntos de control del ciclo celular (véase por ejemplo, Weinert and Hartwell, 1989; Bartek and Lukas, 2003). Estos puntos de control se encuentran en las cuatro fases del ciclo celular; G1, S (replicación de ADN), G2 y M (mitosis) y aseguran que los sucesos clave que controlan la fidelidad de la replicación del ADN y la división celular se completan correctamente. Los puntos de control del ciclo celular son activados por una serie de estímulos, incluidos el daño al ADN y los errores del ADN causados por una replicación defectuosa. Cuando esto ocurre, el ciclo celular se detendrá, dando tiempo bien a que tenga lugar la reparación del ADN o bien, si el daño es demasiado grave, a la activación de los procesos celulares que llevan a la muerte celular controlada.

40 Todos los cánceres, por definición, tienen alguna forma de ciclo de división celular aberrante. Con frecuencia, las células cancerosas tienen uno o más puntos de control del ciclo celular defectuosos, o albergan defectos en una ruta particular de reparación del ADN. Por lo tanto, estas células a menudo son más dependientes de los puntos de control del ciclo celular y de las rutas de reparación restantes, en comparación con las células no cancerosas (donde todos los puntos de control y rutas de reparación del ADN están intactos). La respuesta de las células cancerosas a los daños en el ADN es con frecuencia un factor determinante crítico de si continúan proliferando o si activan los procesos de muerte celular y mueren. Por ejemplo, las células tumorales que contienen una forma o formas mutantes del supresor de tumores p53 son defectuosas en el punto de control de daños al ADN G1. Por lo tanto, se espera que los inhibidores de los puntos de control G2 o fase S afecten aún más a la capacidad de la célula tumoral para reparar el ADN dañado.

50 Muchos tratamientos conocidos contra el cáncer causan daños en el ADN ya sea modificando físicamente el ADN de la célula o interrumpiendo procesos celulares vitales que pueden afectar a la fidelidad de la replicación del ADN y de la división celular, tales como el metabolismo del ADN, la síntesis del ADN, la transcripción del ADN y la formación del huso de los microtúbulos. Tales tratamientos incluyen, por ejemplo, la radioterapia, que causa roturas de la cadena de ADN, y una variedad de agentes quimioterapéuticos incluyendo los inhibidores de las topoisomerasas, los antimetabolitos, los agentes alquilantes de ADN y los fármacos citotóxicos que contienen platino. Una limitación significativa a estos tratamientos genotóxicos es la resistencia a los fármacos. Uno de los mecanismos más importantes que conducen a esta resistencia se atribuye a la activación de los puntos de control del ciclo celular, que

da tiempo a la célula tumoral para reparar el ADN dañado. Mediante la anulación de un punto de control particular del ciclo celular, o la inhibición de una forma particular de reparación del ADN, puede ser posible por lo tanto eludir la resistencia de las células tumorales a los agentes genotóxicos y aumentar la muerte de las células tumorales inducida por los daños del ADN, aumentando de este modo el índice terapéutico de estos tratamientos contra el cáncer.

La CHK1 es una serina/treonina cinasa implicada en la regulación de las señales de punto de control del ciclo celular que son activadas en respuesta a los daños del ADN y a los errores en el ADN causados por la replicación defectuosa (véase por ejemplo, Bartek and Lukas, 2003). La CHK1 transduce estas señales a través de la fosforilación de sustratos implicados en una serie de actividades celulares, incluida la detención del ciclo celular y la reparación del ADN. Dos sustratos clave de CHK1 son las fosfatasa Cdc25A y Cdc25C que desfosforilan la CDK1, llevando a su activación, lo que es un requisito para salir de G2 a la mitosis (fase M) (véase por ejemplo, Sánchez *et al.*, 1997). La fosforilación de Cdc25C y de la Cdc25A relacionada por CHK1 bloquea su capacidad para activar la CDK1, evitando así que la célula salga de G2 a la fase M. El papel de CHK1 en el punto de control del ciclo celular G2 inducido por daños en el ADN se ha demostrado en una serie de estudios en los que se ha eliminado la función de CHK1 (véase, por ejemplo, Liu *et al.*, 2000; Zhao *et al.*, 2002; Zachos *et al.*, 2003).

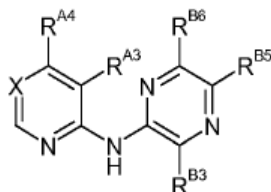
La dependencia de la CHK1 del punto de control G2 inducido por daños en el ADN proporciona un ejemplo de una estrategia terapéutica para el tratamiento del cáncer, que implica la inhibición dirigida de CHK1. Tras el daño al ADN, la proteína supresora de tumores p53 se estabiliza y se activa para dar una detención de G1 dependiente de p53, que lleva a la apoptosis o a la reparación del ADN (Balaint and Vousden, 2001). Más de la mitad de todos los cánceres son funcionalmente defectuosos en p53, lo que puede hacerlos resistentes a tratamientos genotóxicos del cáncer tales como la radiación ionizante (IR) y ciertas formas de quimioterapia (véase por ejemplo, Greenblatt *et al.*, 1994; Carson and Lois, 1995). Estas células deficientes en p53 no se detienen en el punto de control G1 ni sufren apoptosis o reparación de ADN, y en consecuencia pueden ser más dependientes del punto de control G2 para la fidelidad de la viabilidad y replicación. Por lo tanto, la anulación del punto de control G2 mediante la inhibición de la función de la cinasa CHK1 puede sensibilizar selectivamente a las células cancerosas deficientes en p53 para terapias genotóxicas contra el cáncer, y esto ha sido demostrado (véase, por ejemplo, Wang *et al.*, 1996; Dixon and Norbury, 2002).

Además, se ha demostrado también que la CHK1 está implicada en los puntos de control del ciclo celular de la fase S y en la reparación del ADN por recombinación homóloga. Por lo tanto, la inhibición de la cinasa CHK1 en aquellos cánceres que dependen de estos procesos después del daño al ADN, puede proporcionar estrategias terapéuticas adicionales para el tratamiento de los cánceres utilizando inhibidores de CHK1 (véase por ejemplo, Sorensen *et al.*, 2005). Además, ciertos cánceres pueden exhibir estrés replicativo debido a altos niveles de daños endógenos al ADN (véase por ejemplo, Cavalier *et al.*, 2009; Brooks *et al.*, 2012) o mediante replicación elevada dirigida por oncogenes, por ejemplo genes MYC amplificados o sobreexpresados (véase por ejemplo, Di Micco *et al.* 2006; Cole *et al.*, 2011; Murga *et al.* 2011). Dichos cánceres pueden presentar señalización elevada a través de la cinasa CHK1 (véase por ejemplo, Höglund *et al.*, 2011). La inhibición de la cinasa CHK1 en aquellos cánceres que dependen de estos procesos, puede proporcionar estrategias terapéuticas adicionales para el tratamiento de los cánceres utilizando inhibidores de CHK1 (véase por ejemplo, Cole *et al.*, 2011; Davies *et al.*, 2011; Ferrao *et al.*, 2011).

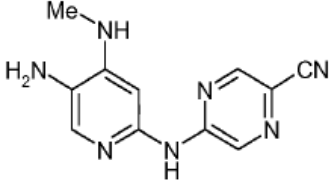
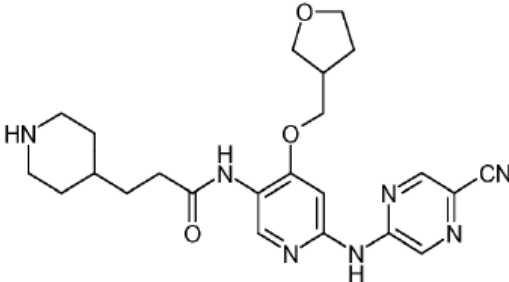
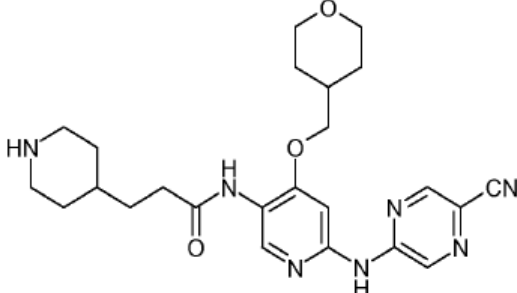
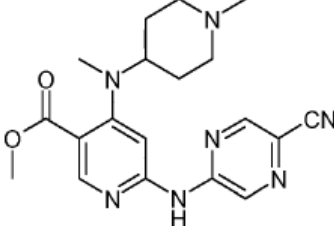
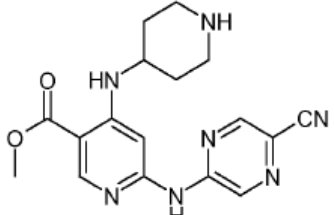
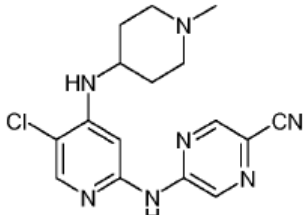
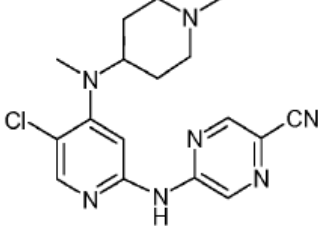
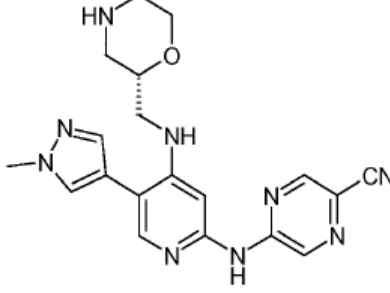
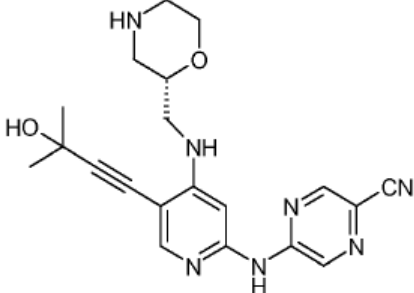
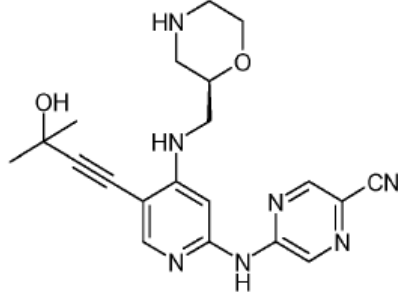
Datos recientes que utilizan el ARNsi selectivo de la CHK1 apoyan la inhibición selectiva de CHK1 como una estrategia terapéutica relevante, y dan a entender que la inhibición combinada con otras determinadas cinasas de punto de control no proporciona ningún beneficio adicional y puede ser no productiva (véase, por ejemplo, Xiao *et al.*, 2006; Guzi *et al.*, 2011). Se han descrito inhibidores selectivos de moléculas pequeñas de la función de la cinasa CHK1 de diferentes clases químicas (véase, por ejemplo, Tao *et al.*, 2006).

Compuestos conocidos

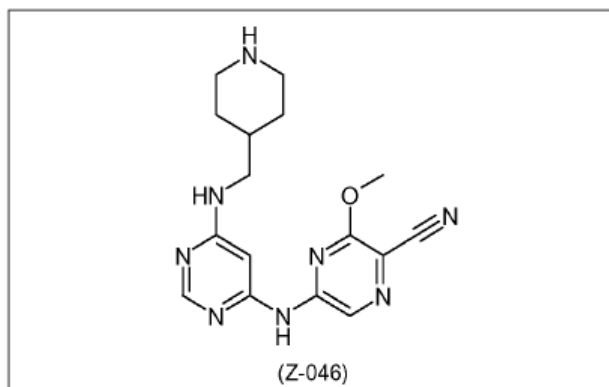
Collins *et al.*, 2009a, describen ciertos compuestos de la siguiente fórmula que inhiben la función cinasa de la cinasa de punto de control 1 (CHK1) y que son útiles en el tratamiento de, por ejemplo, cáncer:



Entre los ejemplos de Collins *et al.*, 2009a están los siguientes compuestos:

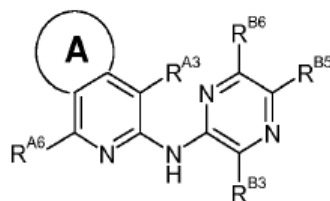
 <p>(Y-002)</p>	 <p>(Y-068)</p>
 <p>(Y-069)</p>	 <p>(Y-070)</p>
 <p>(Y-078)</p>	 <p>(Y-108)</p>
 <p>(Y-109)</p>	 <p>(Y-152)</p>
 <p>(Y-153)</p>	 <p>(Y-158)</p>

Solamente uno de los ejemplos de Collins *et al.*, 2009a tiene $-R^{B6}$ distinto de $-H$, específicamente, como $-OMe$, mientras que tiene también $-X=$ como $-N=$:



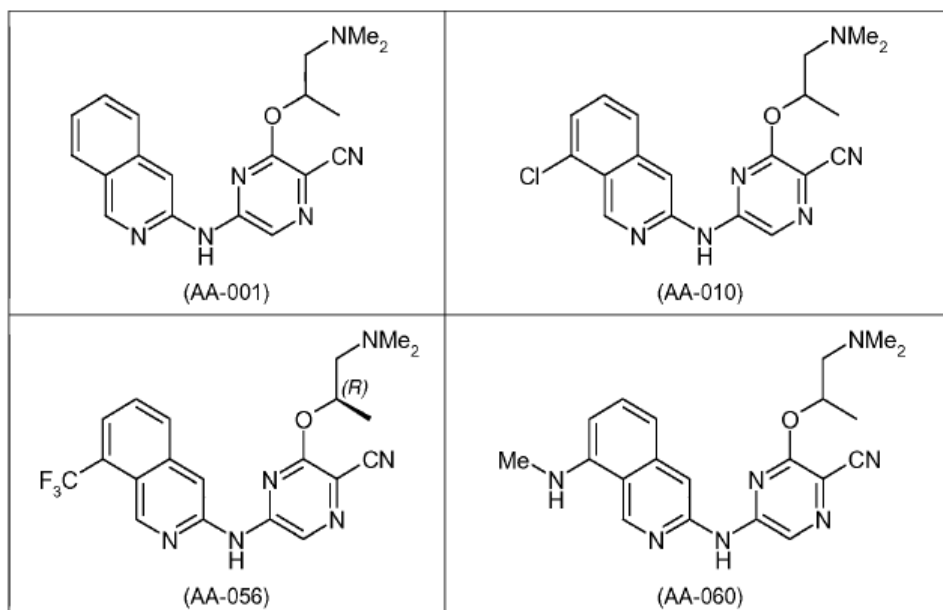
- 5 Una realización de Collins *et al.*, 2009a tiene $-R^{B6}$ definido como “independientemente $-Me$, $-Et$, $-nPr$, $-iPr$, $-CF_3$, $-OH$, $-OMe$, $-OEt$, $-O(nPr)$, $-O(iPr)$, $-OCF_3$, $-CN$, $-NH_2$, $-NHMe$, $-NMe_2$, $-O-CH_2CH_2-OH$, $-O-CH_2CH_2-OMe$, $-O-CH_2CH_2-NH_2$, $-O-CH_2CH_2-NHMe$, $-O-CH_2CH_2-NMe_2$, $-O-CH_2CH_2CH_2-NH_2$, $-O-CH_2CH_2CH_2-NHMe$, o $-O-CH_2CH_2CH_2-NMe_2$ ” (véase la página 48, líneas 37-40 y la reivindicación 296 de dicha publicación).

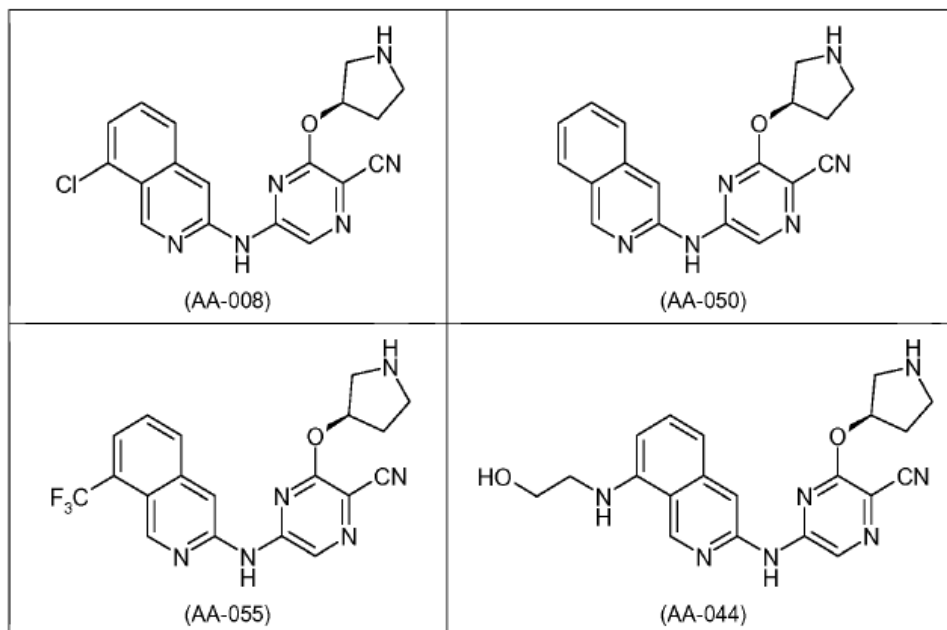
Collins *et al.*, 2009b, describe ciertos compuestos de la siguiente fórmula que inhiben la función cinasa de la cinasa de punto de control 1 (CHK1) y que son útiles en el tratamiento de, por ejemplo, el cáncer:



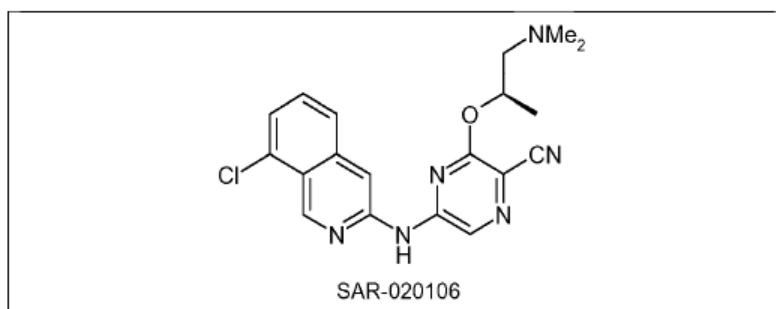
10

Entre los ejemplos en Collins *et al.*, 2009b están los siguientes compuestos de isoquinolina:

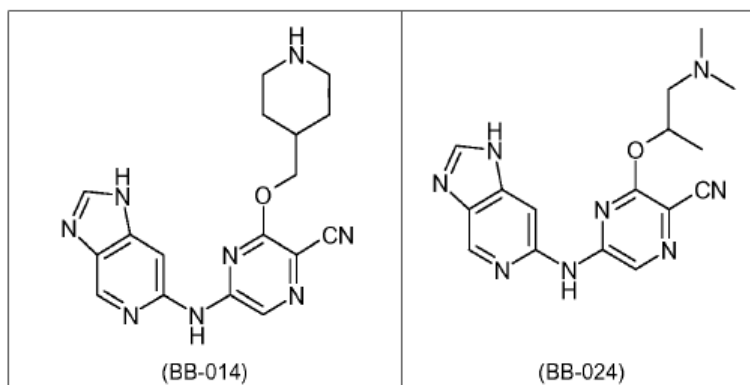


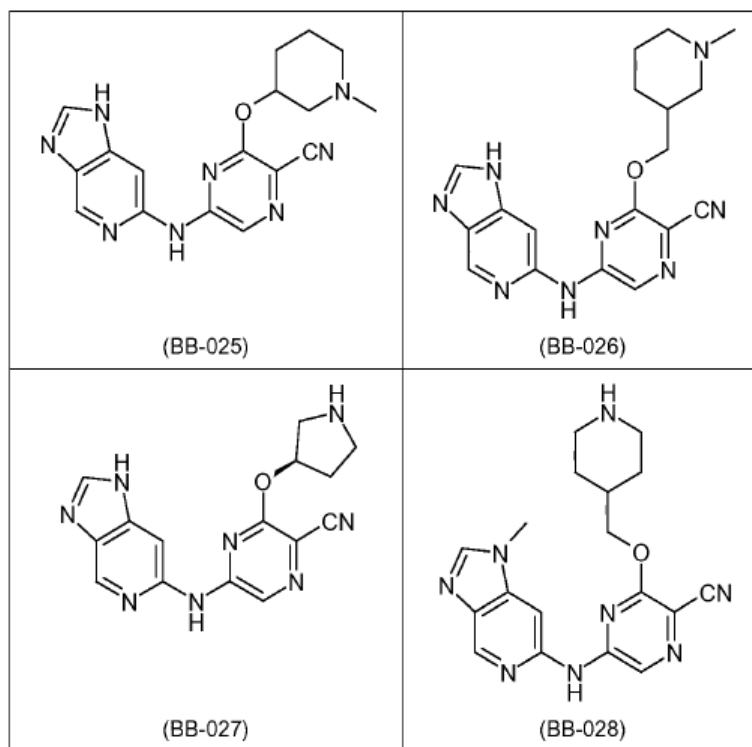


Walton *et al.*, 2010, describe estudios preclínicos del inhibidor de CHK1 denominado SAR-020106, que tiene la siguiente estructura.

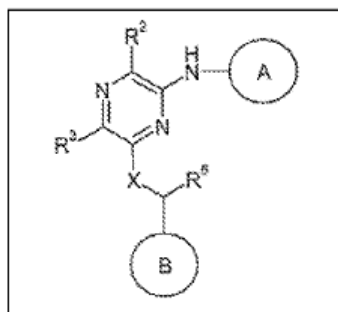


5 Entre los ejemplos en Collins *et al.*, 2009b están los siguientes compuestos de 1H-imidazo[4,5-b]piridina:

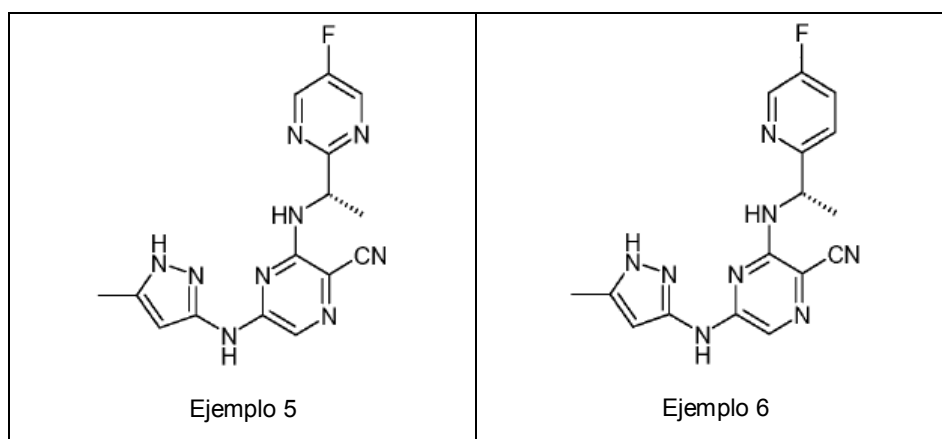


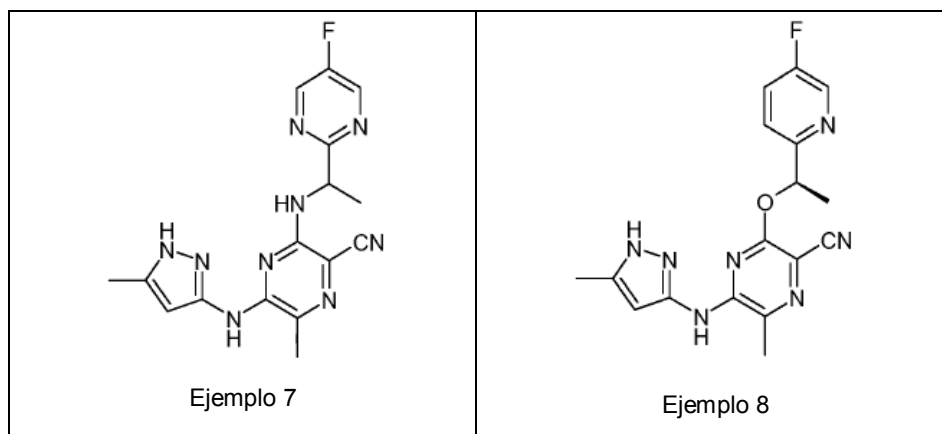


Almeida *et al.*, 2008, describe ciertas pirazinas sustituidas con pirazolil-amino de la siguiente fórmula, que supuestamente son útiles en el tratamiento del cáncer.

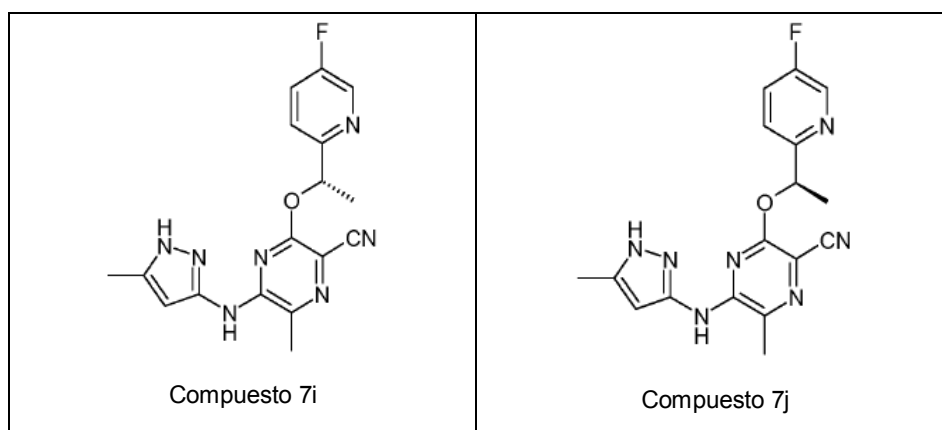


5 Entre los ejemplos en Almeida *et al.*, 2008 están los siguientes compuestos:

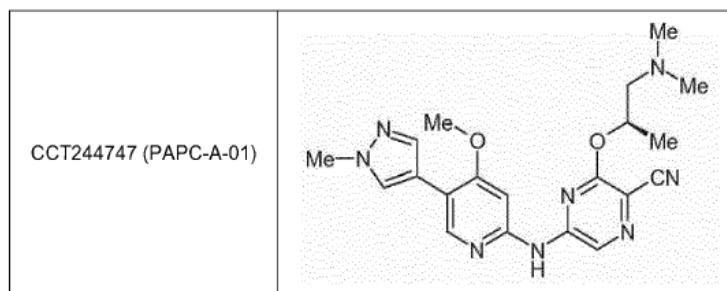




Ioannidis *et al.*, 2009, describe ciertos compuestos que inhiben la cinasa Janus (JAK) asociada. Los siguientes compuestos se muestran en el Esquema 5 de la página 6526 de esta publicación.



- 5 Lin *et al.*, 2005, describe ciertos compuestos macrocíclicos de urea que supuestamente son útiles como inhibidores de la proteína cinasa. Véase por ejemplo, el párrafo [0004] en la página 1 de la publicación.
- Tao *et al.*, 2005, describe ciertos compuestos macrocíclicos de urea que supuestamente son útiles como inhibidores de la proteína cinasa. Véase, por ejemplo, la página 2 de la publicación.
- 10 Li *et al.*, 2007, describe la preparación y ensayos de ciertos inhibidores de CHK1 macrocíclicos de urea. Véase, por ejemplo, la Tabla 1 en la página 6502 de la publicación.
- Tao *et al.*, 2007a, describe la preparación y ensayos de ciertos inhibidores de CHK1 macrocíclicos de urea. Véase, por ejemplo, la Tabla 2 en la página 6596 de la publicación.
- Tao *et al.*, 2007b, describe la preparación y ensayos de ciertos inhibidores de CHK1 macrocíclicos de urea. Véase, por ejemplo, la Tabla 3 en la página 1517 de la publicación.
- 15 Uno o más de los inventores han contribuido a publicaciones recientes en las que se describen una serie de inhibidores de CHK1, incluido el siguiente compuesto, denominado CCT244747. Véase Lainchbury *et al.*, 2012 (publicado online el 19 de octubre de 2012) y Walton *et al.*, 2012 (publicado el 15 de octubre de 2012).



- 5 Lainchbury *et al.*, 2011 (Exp. Opin. Ther. Pat., Vol. 21, No. 8, pp 1911-1210) es un artículo de revisión que se refiere a los inhibidores de la cinasa de punto de control 1 (CHK1). Este documento se refiere a Collins *et al.*, 2009a y Collins *et al.*, 2009b como las dos primeras entradas de la Tabla 1 de la página 1195 de esta publicación. (Estos dos documentos describen dos de cuatro clases de inhibidores de "pirazina" listados en la Tabla 1 de la publicación; en la Tabla 2 de la publicación se enumeran tres clases adicionales de inhibidores de "pirrolo/pirazolopiridina").

Sumario de la invención

- Un aspecto de la invención se refiere a ciertos compuestos de piridil-amino-pirazina-carbonitrilo (denominados en la presente memoria compuestos PAPC), como se describen en la presente memoria.
- 10 Otro aspecto de la invención se refiere a una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- En una realización, la composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) es adecuada para administración oral a un sujeto.
- 15 Otro aspecto de la invención se refiere a un método para preparar una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende la etapa de mezclar un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- También se describe en la presente memoria un método para inhibir la función de la cinasa CHK1 en una célula, *in vitro* o *in vivo*, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de un compuesto PAPC, como se describe en esta memoria.
- 20 En una realización, el método comprende además poner en contacto la célula con uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); (d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.
- 25 Se describe también en la presente memoria un método para regular (por ejemplo, inhibir) la proliferación celular (por ejemplo, la proliferación de una célula), inhibir la progresión del ciclo celular, promover la apoptosis celular, o una combinación de uno o más de ellos, *in vitro* o *in vivo*, que comprende poner en contacto una célula con una cantidad eficaz de un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria
- En una realización, el método comprende además poner en contacto la célula con uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de timidilato sintasa (TS); (d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.
- 30 También se describe en la presente invención un método de tratamiento que comprende administrar a un sujeto que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, preferiblemente en la forma de una composición farmacéutica.
- 35 En una realización, dicha administración es administración por vía oral.
- En una realización, el método comprende además administrar al sujeto uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); (d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.
- 40 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto PAPC como se describe en la presente memoria para uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.
- En una realización, el compuesto es para uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia por administración oral.

En una realización, el método de tratamiento comprende el tratamiento con ambos (i) un compuesto PAPC y (ii) uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); (d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.

- 5 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto PAPC como se describe en la presente memoria, en la fabricación de un medicamento para uso en tratamiento.

En una realización, el medicamento es un medicamento para administración oral.

- 10 En una realización, el tratamiento comprende el tratamiento con ambos (i) un medicamento que comprende un compuesto PAPC y (ii) uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); (d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.

En una realización, el tratamiento es tratamiento de una enfermedad o afección que está mediada por CHK1.

En una realización, el tratamiento es tratamiento de una enfermedad o afección que se mejora por la inhibición de la función de la cinasa CHK1.

- 15 En una realización, el tratamiento es tratamiento de una afección proliferativa.

En una realización, el tratamiento es tratamiento del cáncer.

En una realización, el tratamiento es tratamiento de cáncer deficiente en p53.

- 20 En una realización, el tratamiento es tratamiento del cáncer de cabeza; cáncer de cuello; cáncer del sistema nervioso; cáncer cerebral; neuroblastoma; cáncer de pulmón/mediastino; cáncer de mama; cáncer de esófago; cáncer de estómago; cáncer de hígado; cáncer del tracto biliar; cáncer pancreático; cáncer de intestino delgado; cáncer de intestino grueso; cáncer colorrectal; cáncer ginecológico; cáncer genitourinario; cáncer de ovarios; cáncer de la glándula tiroides; cáncer de las glándulas suprarrenales; cáncer de piel; melanoma; sarcoma óseo; sarcoma de tejidos blandos; tumor maligno pediátrico; enfermedad de Hodgkin; linfoma no Hodgkin; mieloma; leucemia; o metástasis desde un sitio primario desconocido.

- 25 En una realización, el tratamiento es tratamiento de: cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de ovarios, cáncer colorrectal, melanoma, glioma o neuroblastoma.

- 30 Se describe también en la presente memoria un kit que comprende (a) un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, proporcionado preferiblemente como una composición farmacéutica y en un recipiente adecuado y/o con un empaquetado adecuado; y (b) instrucciones de uso, por ejemplo, instrucciones escritas sobre cómo administrar el compuesto.

En una realización, el kit comprende además uno o más de otros agentes seleccionados entre: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); y (d) un agente dirigido a los microtúbulos.

- 35 Se describe también en la presente memoria un compuesto PAPC obtenible por un método de síntesis tal como se describe en esta memoria, o un método que comprende un método de síntesis como se describe en la presente memoria.

Se describe también en la presente memoria un compuesto PAPC obtenido por un método de síntesis como se describe en esta memoria, o un método que comprende un método de síntesis como se describe en la presente memoria.

- 40 Se describen también en la presente memoria nuevos intermedios, como se describen en la presente memoria, que son adecuados para su uso en los métodos de síntesis descritos en la presente memoria.

Se describe también en la presente memoria el uso de tales nuevos intermedios, como se describe en la presente memoria, en los métodos de síntesis descritos en la presente memoria.

- 45 Como será apreciado por los expertos en la técnica, las características y realizaciones preferidas de un aspecto de la invención también se referirán a otro aspecto de la invención.

Breve descripción de los dibujos

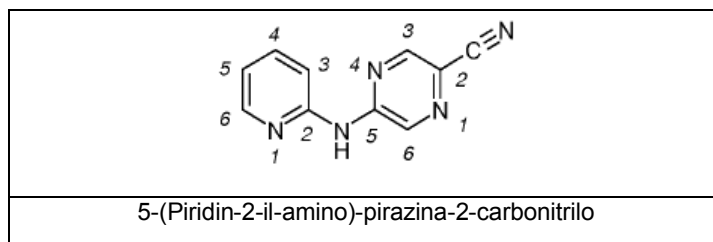
- 50 La Figura 1 es una imagen de barrido por resonancia magnética (MRI) registrada como parte del estudio *in vivo* ("PAPC-A-01 en modelo de neuroblastoma impulsado por MYCN transgénico ") descrito a continuación. La imagen muestra el abdomen de un ratón (k = riñón; t = tumor; s.b. = intestino delgado) y se registró antes del tratamiento. El volumen del tumor fue de 1960 mm³.

La Figura 2 es una imagen de barrido por resonancia magnética (MRI) registrada como parte del estudio *in vivo* ("PAPC-A-01 en el modelo de neuroblastoma impulsado por MYCN transgénico ") descrito a continuación. La imagen muestra el abdomen de un ratón (k = riñón; t = tumor; s.b. = intestino delgado) y se registró después de 7 días de tratamiento con PAPC-A-01. El volumen del tumor fue de 417 mm³.

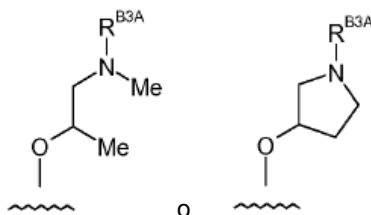
5 Descripción detallada de la invención

Compuestos

Un aspecto de la presente invención se refiere a ciertos compuestos que están relacionados con el 5-(piridin-2-il-amino)-pirazina-2-carbonitrilo:

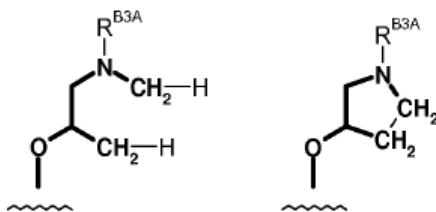


- 10 Todos los compuestos se caracterizan adicionalmente por un sustituyente adyacente al grupo carbonitrilo (en la posición 3 de la pirazina) que es independientemente:

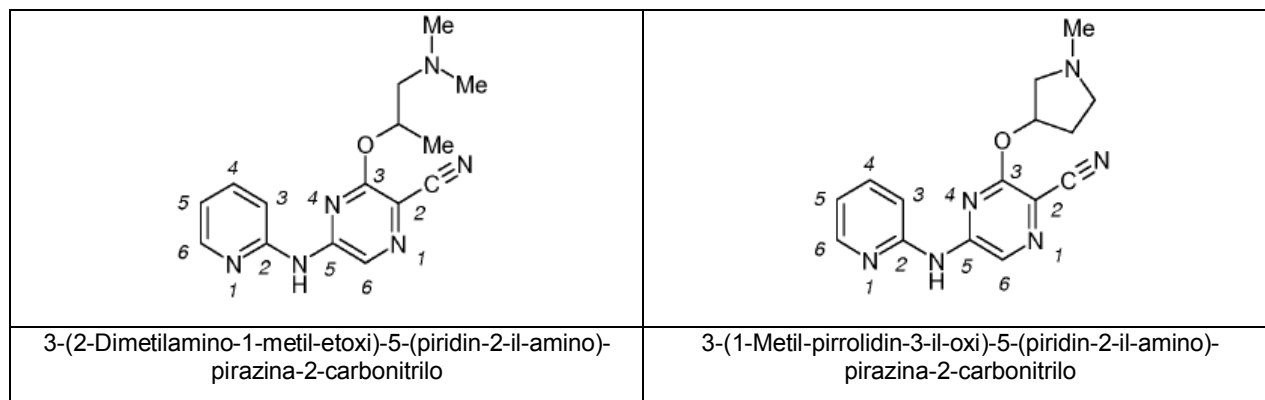


en donde R^{B3A} es como se define en la presente memoria. Estas dos fórmulas definen grupos que se pueden describir convenientemente como "cadena abierta" (a la izquierda) y "anillo cerrado" (a la derecha) análogos entre sí, y comparten los átomos/enlaces marcados en **negrita** a continuación:

- 15



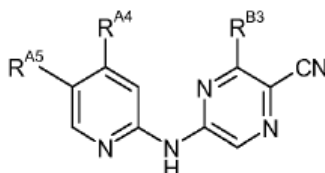
Por ejemplo, cuando R^{B3A} es metilo, los compuestos están relacionados con los siguientes compuestos:



Los compuestos de la presente invención son inhibidores potentes de la actividad de CHK1 (por ejemplo, tienen una

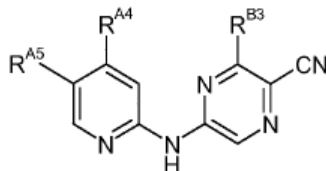
IC₅₀ de CHK1 inferior a 100 nM). Los compuestos de la presente invención se pueden caracterizar adicionalmente por (a) una notable selectividad en comparación con CHK2 (por ejemplo, una selectividad de CHK1 frente a CHK2 de al menos 100 veces) y/o (b) una notable biodisponibilidad oral (por ejemplo, biodisponibilidad oral de al menos 100 nM (concentración plasmática, 1 hora después de 10 mg/kg p.o.)).

- 5 Por lo tanto, un aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de la siguiente fórmula, y las sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde -R^{A4}, -R^{A5}, y -R^{B3} son como se definen en la presente memoria (por conveniencia, se denominan colectivamente en la presente memoria "compuestos de piridil-amino-pirazina-carbonitrilo" o "compuestos PAPC"):



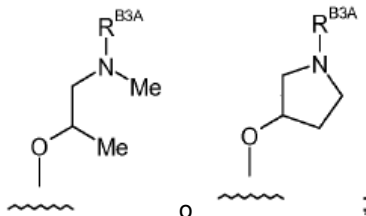
- 10 Algunas realizaciones de la invención incluyen lo siguiente:

(1) Un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

-R^{B3} es independientemente:



15

cada -R^{B3A} es independientemente -H o alquilo C₁₋₃ alifático saturado;

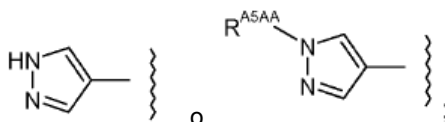
-R^{A4} es independientemente -NHR^{A4A}, -NR^{A4A}₂ o -OR^{A4A};

cada -R^{A4A} es independientemente alquilo C₁₋₃ alifático saturado;

-R^{A5} es independientemente -R^{A5A}, -R^{A5B}, -R^{A5C}, -R^{A5D}, -R^{A5E}, o -R^{A5F};

20

-R^{A5A} es independientemente:



-R^{A5AA} es alquilo C₁₋₃ alifático saturado;

-R^{A5B} es -CF₃;

-R^{A5C} es independientemente -F, -Cl, -Br o -I;

25

-R^{A5D} es independientemente -C=CH, -C=C-R^{A5DA}, o -C=C-R^{A5DB}-OH;

-R^{A5DA} es un alquilo C₁₋₄ alifático saturado;

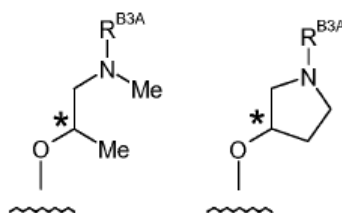
-R^{A5DB} es alquileo C₁₋₄ alifático saturado;

-R^{A5E} es independientemente cicloalquilo C₃₋₆ saturado;

-R^{A5F} es -C(=O)O-R^{A5FA}; y

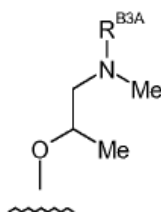
-R^{A5FA} es alquilo C₁₋₃ alifático saturado.

- 5 Para evitar dudas, no se pretende que ninguno de dos o más de -R^{A4}, -R^{A5} y -R^{B3} formen juntos un anillo fusionado con el anillo o anillos a los que están unidos. Por ejemplo, no se pretende que -R^{A4} y -R^{A5} formen juntos un anillo fusionado con el anillo al que están unidos. De manera similar, no se pretende que -R^{A4} y -R^{B3} formen juntos un anillo fusionado con los anillos a los que están unidos. De manera similar, no se pretende que -R^{A5} y -R^{B3} formen juntos un anillo fusionado con los anillos a los que están unidos.
- 10 El grupo -R^{B3} tiene un centro quiral, marcado con un asterisco en las siguientes fórmulas, que pueden estar independientemente en la configuración (R) o (S). A menos que se indique otra cosa, se pretende que ambas configuraciones estén incluidas.

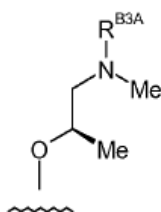


El grupo -R^{B3}

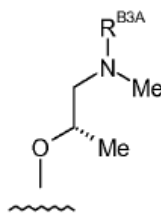
- 15 (2) Un compuesto según el punto (1), donde -R^{B3} es:



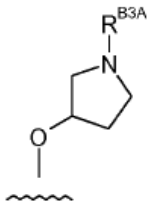
- (3) Un compuesto según el punto (1), donde -R^{B3} es:



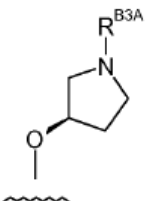
- (4) Un compuesto según el punto (1), donde -R^{B3} es:



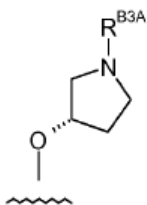
(5) Un compuesto según el punto (1), donde $-R^{B3}$ es:



(6) Un compuesto según el punto (1), donde $-R^{B3}$ es:



5 (7) Un compuesto según el punto (1), donde $-R^{B3}$ es:



El grupo $-R^{B3A}$

(8) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (7), en donde $-R^{B3A}$ es alquilo C_{1-3} alifático saturado.

(9) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (7), en donde $-R^{B3A}$ es -Me.

10 (10) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (7), en donde $-R^{B3A}$ es -H.

El grupo $-R^{A4}$

(11) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (10), en donde $-R^{A4}$ es independientemente $-NHR^{A4A}$ o $-NR^{A4A}_2$.

(12) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (10), en donde $-R^{A4}$ es $-NHR^{A4A}$.

15 (13) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (10), en donde $-R^{A4}$ es $-NR^{A4A}_2$.

(14) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (10), en donde $-R^{A4}$ es $-OR^{A4A}$.

El grupo $-R^{A4A}$

(15) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (14), en donde cada $-R^{A4A}$ es independientemente -Me o -Et.

20 (16) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (14), en donde cada $-R^{A4A}$ es -Me.

El grupo $-R^{A5}$

(17) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (16), en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5A}$.

(18) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (16), en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5B}$.

(19) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (16), en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5C}$.

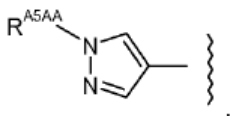
25 (20) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (16), en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5D}$.

(21) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (16), en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5E}$.

(22) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (16), en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5F}$.

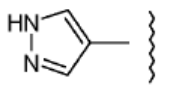
El grupo $-R^{A5A}$

(23) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (22), en donde $-R^{A5A}$, si está presente, es:



5

(24) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (22), en donde $-R^{A5A}$, si está presente, es:



El grupo $-R^{A5AA}$

10 (25) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (24), en donde cada $-R^{A5AA}$, si está presente, es -Me o -Et.

(26) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (24), en donde cada $-R^{A5AA}$, si está presente, es -Me.

(27) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (24), en donde cada $-R^{A5AA}$, si está presente, es -Et.

15 El grupo $-R^{A5C}$

(28) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (27), en donde $-R^{A5C}$, si está presente, es independientemente -F, -Cl o -Br.

(29) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (27), en donde $-R^{A5C}$, si está presente, es independientemente -F.

20 (30) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (27), en donde $-R^{A5C}$, si está presente, es independientemente -Cl.

(31) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (27), en donde $-R^{A5C}$, si está presente, es independientemente -Br.

25 (32) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (27), en donde $-R^{A5C}$, si está presente, es independientemente -I.

El grupo $-R^{A5D}$

(33) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (32), donde $-R^{A5D}$, si está presente, es independientemente $-C=CH$ o $-C=C-R^{A5DA}$.

(34) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (32), en donde $-R^{A5D}$, si está presente, es $-C=CH$.

30 (35) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (32), donde $-R^{A5D}$, si está presente, es $-C=C-R^{A5DA}$.

(36) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (32), en donde $-R^{A5D}$, si está presente, es $-C=C-R^{A5DB-OH}$.

El grupo $-R^{A5DA}$

35 (37) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (36), donde $-R^{A5DA}$, si está presente, es independientemente -Me, -Et, $-CH(Me)_2$, o $-C(Me)_3$.

(38) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (36), en donde $-R^{A5DA}$, si está presente, es $-CH(Me)_2$.

(39) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (36), en donde $-R^{A5DA}$, si está presente, es -

C(Me)₃.

El grupo -R^{A5DB}-

(40) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (39), en donde -R^{A5DB}-, si está presente, es alquileo C₁₋₃ alifático saturado.

5 (41) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (39), en donde -R^{A5DB}-, si está presente, es independientemente -CH₂-, -CH(Me)-, o -C(Me)₂-.

(42) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (39), en donde -R^{A5DB}-, si está presente, es -C(Me)₂-.

10 (43) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (39), en donde -R^{A5DB}-, si está presente, es -CH(Me)-.

(44) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (39), en donde -R^{A5DB}-, si está presente, es -CH₂-.

El grupo -R^{A5E}

(45) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (44), en donde -R^{A5E}-, si está presente, es independientemente ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo.

15 (46) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (44), en donde -R^{A5E}-, si está presente, es independientemente ciclopropilo o ciclobutilo.

(47) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (44), en donde -R^{A5E}-, si está presente, es ciclopropilo.

El grupo -R^{A5FA}

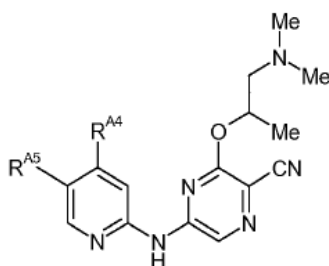
20 (48) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (47), en donde -R^{A5FA}-, si está presente, es -Me o -Et.

(49) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (47), en donde -R^{A5FA}-, si está presente, es -Me.

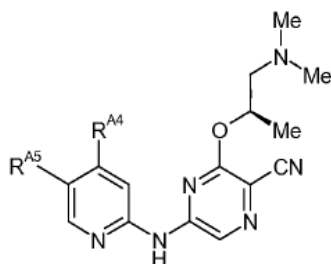
(50) Un compuesto según uno cualquiera de los puntos (1) a (47), en donde -R^{A5FA}-, si está presente, es -Et.

Algunas combinaciones preferidas

25 (51) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:

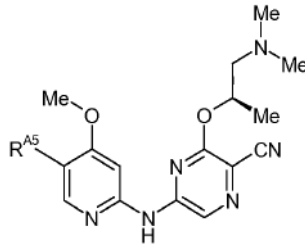


(52) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:

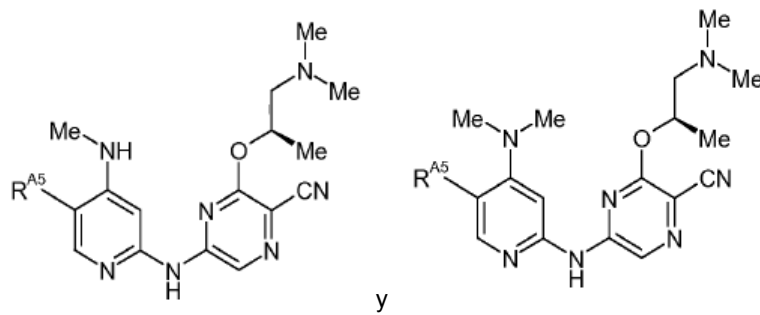


30

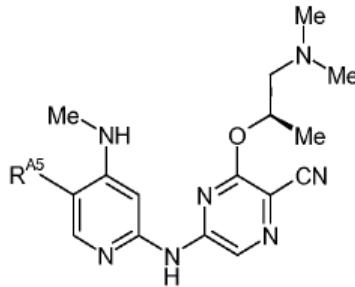
(53) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



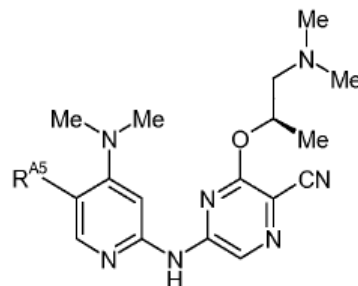
5 (54) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



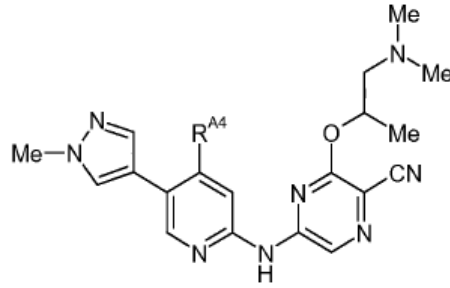
(55) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



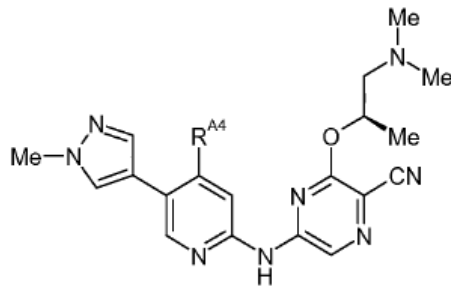
10 (56) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



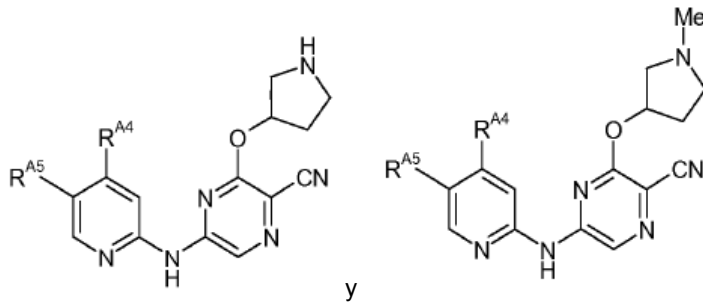
(57) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



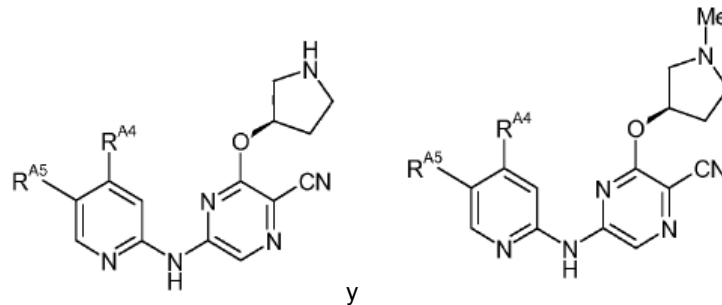
(58) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



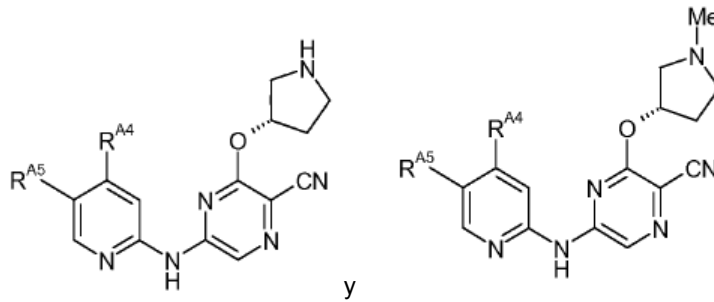
5 (59) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



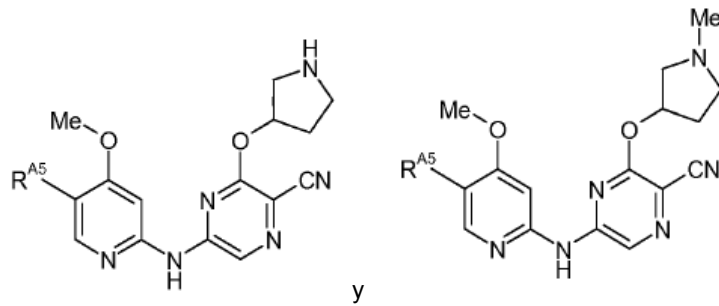
(60) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



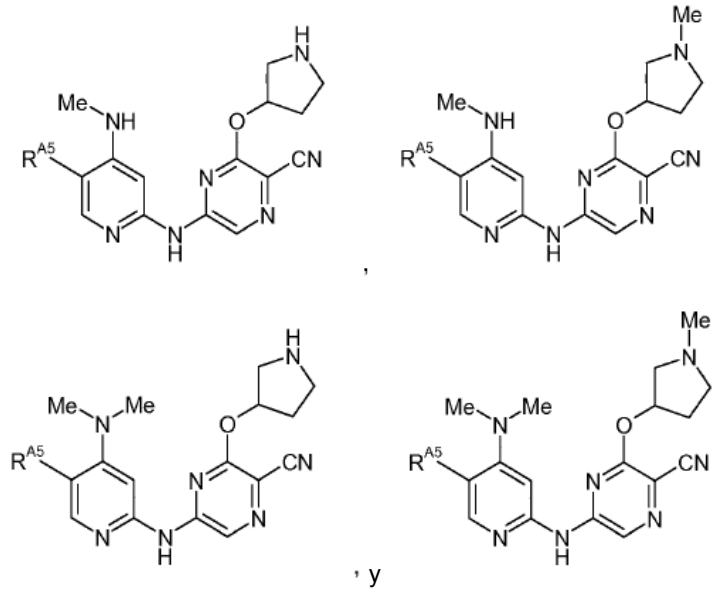
(61) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



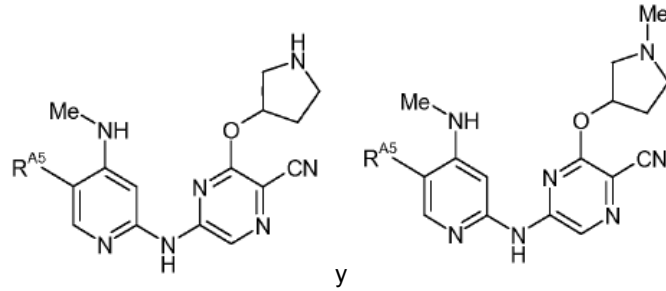
5 (62) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



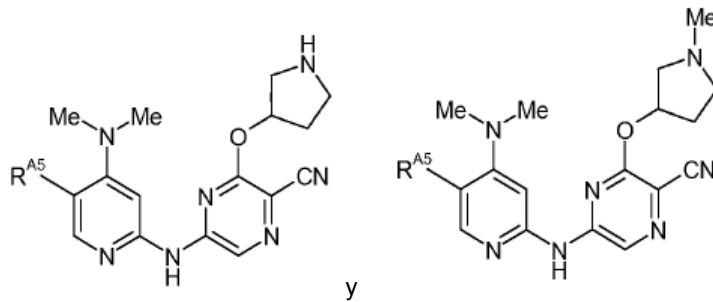
(63) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



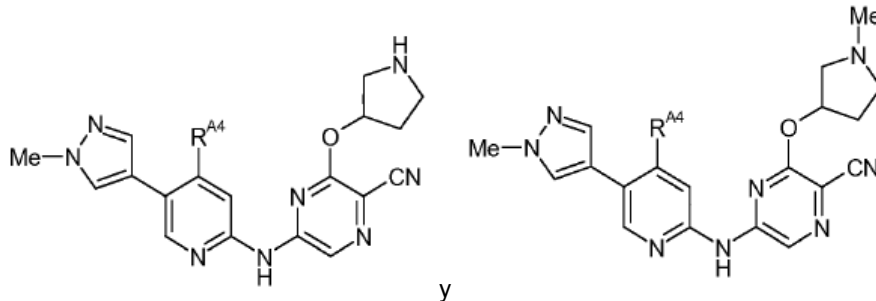
(64) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



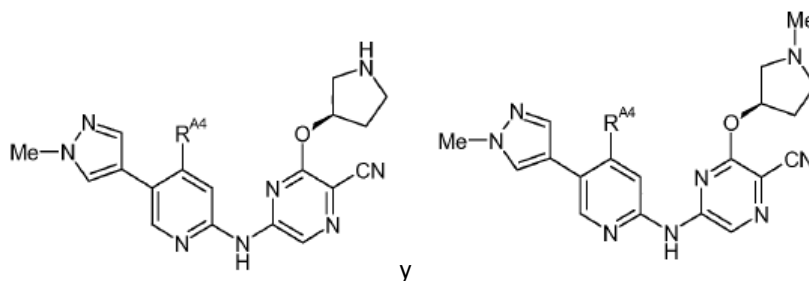
5 (65) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



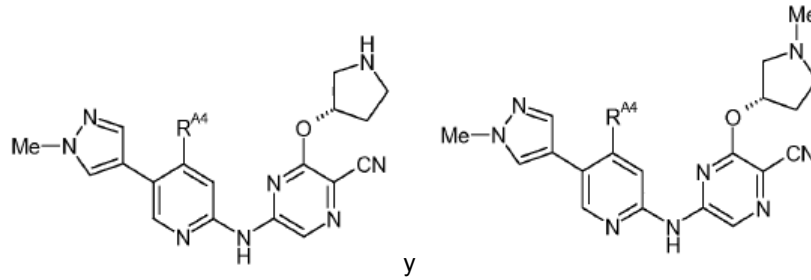
(66) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



10 (67) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



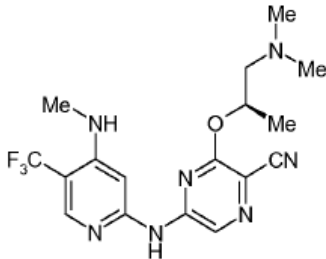
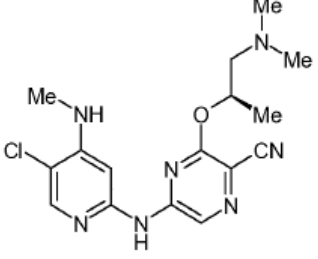
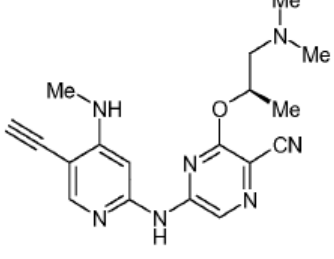
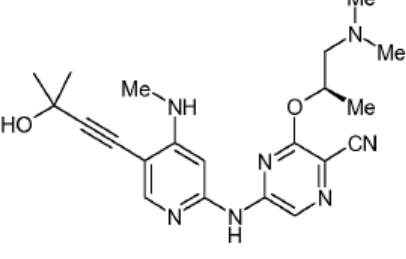
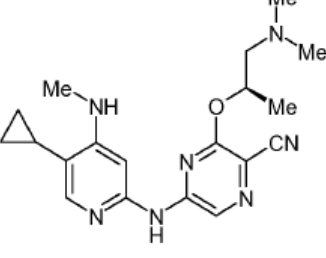
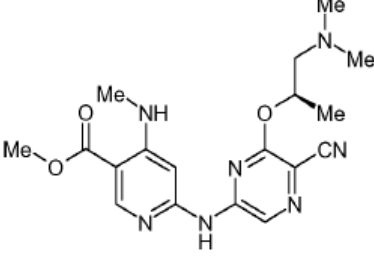
(68) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



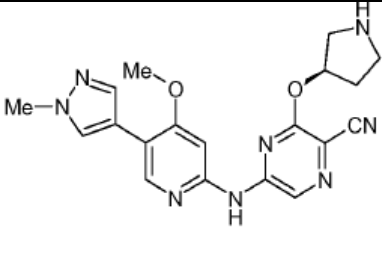
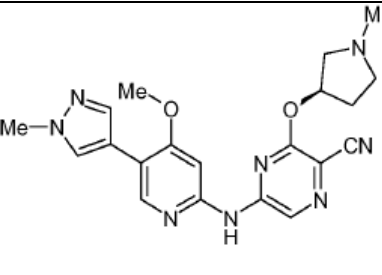
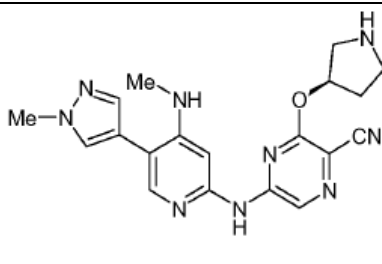
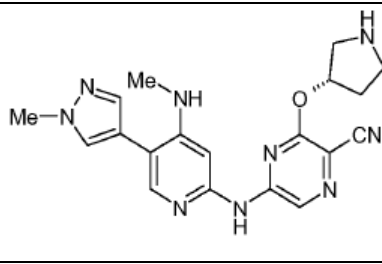
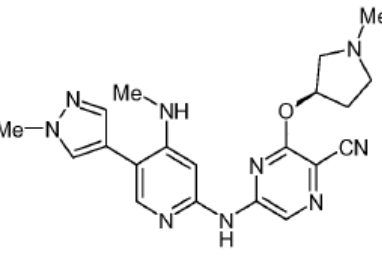
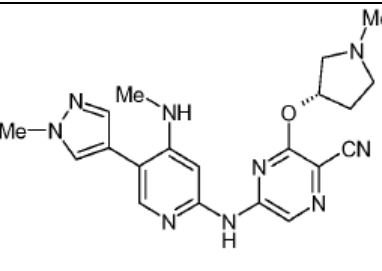
Compuestos específicos

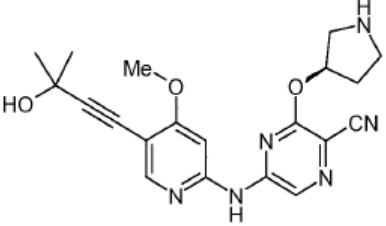
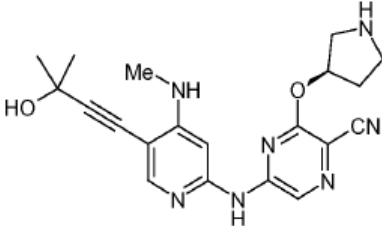
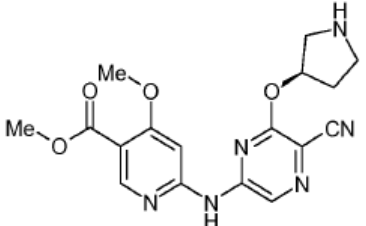
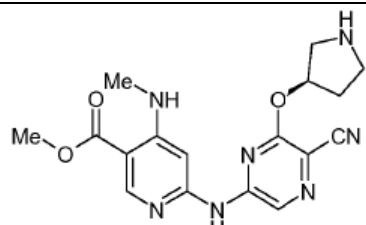
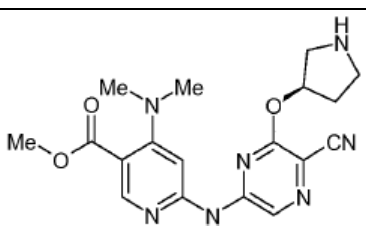
5 (69) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:

Numero de código	Estructura
PAPC- A-01	
PAPC- A-02	
PAPC- A-03	
PAPC- A-04	

Numero de código	Estructura
PAPC- A-05	
PAPC- A-06	
PAPC- A-07	
PAPC- A-08	
PAPC- A-09	
PAPC- A-10	

(70) Un compuesto según el punto (1), que es un compuesto de una de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:

Numero de código	Estructura
PAPC- B-01	
PAPC- B-02	
PAPC- B-03	
PAPC- B-04	
PAPC- B-05	
PAPC- B-06	

Numero de código	Estructura
PAPC- B-07	
PAPC- B-08	
PAPC- B-09	
PAPC- B-10	
PAPC- B-11	

Formas sustancialmente purificadas

Se describen también en la presente memoria compuestos PAPC, en forma purificada.

5 En una realización, el compuesto está en forma sustancialmente purificada y/o en una forma sustancialmente libre de contaminantes.

En una realización, el compuesto está en una forma sustancialmente purificada con una pureza de al menos 50 % en peso, por ejemplo, al menos 60 % en peso, por ejemplo, al menos 70 % en peso, por ejemplo, al menos 80 % en peso, por ejemplo, al menos 90 % en peso, por ejemplo, al menos 95 % en peso, por ejemplo, al menos 97 % en peso, por ejemplo, al menos 98 % en peso, por ejemplo, al menos 99 % en peso.

10 A menos que se especifique otra cosa, la forma sustancialmente purificada se refiere al compuesto en cualquier forma estereoisomérica o enantiomérica. Por ejemplo, en una realización, la forma sustancialmente purificada se refiere a una mezcla de estereoisómeros, es decir, purificada con respecto a otros compuestos. En una realización,

la forma sustancialmente purificada se refiere a un estereoisómero, por ejemplo, estereoisómero ópticamente puro. En una realización, la forma sustancialmente purificada se refiere a una mezcla de enantiómeros. En una realización, la forma sustancialmente purificada se refiere a una mezcla equimolar de enantiómeros (es decir, una mezcla racémica, un racemato). En una realización, la forma sustancialmente purificada se refiere a un enantiómero, por ejemplo, enantiómero ópticamente puro.

En una realización, el compuesto está en una forma sustancialmente libre de contaminantes en donde los contaminantes representan no más del 50 % en peso, por ejemplo, no más del 40 % en peso, por ejemplo, no más del 30 % en peso, por ejemplo, no más del 20 % en peso, por ejemplo, no más del 10 % en peso, por ejemplo, no más del 5 % en peso, por ejemplo, no más del 3 % en peso, por ejemplo, no más del 2 % en peso, por ejemplo, no más del 1 % en peso.

A menos que se especifique otra cosa, los contaminantes se refieren a otros compuestos, es decir, distintos de los estereoisómeros o enantiómeros. En una realización, los contaminantes se refieren a otros compuestos y otros estereoisómeros. En una realización, los contaminantes se refieren a otros compuestos y al otro enantiómero.

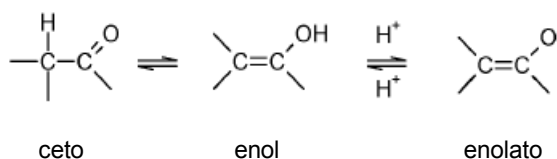
En una realización, el compuesto está en una forma sustancialmente purificada con una pureza óptica de al menos 60 % (es decir, el 60 % del compuesto, en una base molar, es el estereoisómero o enantiómero deseado, y el 40 % es un estereoisómero o enantiómero no deseado), por ejemplo, al menos 70 %, por ejemplo, al menos 80 %, por ejemplo, al menos 90 %, por ejemplo, al menos 95 %, por ejemplo, al menos 97 %, por ejemplo, al menos 98 %, por ejemplo, al menos 99 %.

Isómeros

Ciertos compuestos pueden existir en una o más formas geométricas, ópticas, enantioméricas, diastereoméricas, epiméricas, atrópicas, estereoisoméricas, tautoméricas, conformacionales o anoméricas particulares, incluyendo pero sin limitarse a las formas cis y trans; formas E y Z; formas c, t y r; formas endo y exo; formas R, S y meso; formas D y L; formas d y l; formas (+) y (-); formas ceto, enol y enolato; formas syn y anti; formas sinclinal y anticlinal; formas α y β ; formas axial y ecuatorial; formas de barco, silla, twist, sobre y media silla; y combinaciones de las mismas, de aquí en adelante denominadas colectivamente "isómeros" (o "formas isoméricas").

Se debe tener en cuenta que, excepto como se expone a continuación para las formas tautoméricas, están específicamente excluidos del término "isómeros", como se usa en la presente memoria, los isómeros estructurales (o constitucionales) (es decir, isómeros que difieren en las conexiones entre los átomos en lugar de simplemente por la posición de los átomos en el espacio). Por ejemplo, una referencia a un grupo metoxi, $-\text{OCH}_3$, no se debe interpretar como una referencia a su isómero estructural, un grupo hidroximetilo, $-\text{CH}_2\text{OH}$. De manera similar, una referencia a orto-clorofenilo no se debe interpretar como una referencia a su isómero estructural, meta-clorofenilo. Sin embargo, una referencia a una clase de estructuras bien podría incluir formas estructuralmente isoméricas que entran dentro de esa clase (por ejemplo, alquilo C_{1-3} incluye n-propilo e isopropilo; butilo incluye n-, iso-, sec- y terc-butilo; metoxifenilo incluye orto, meta y parametoxifenilo).

La exclusión anterior no se refiere a las formas tautoméricas, por ejemplo, formas ceto, enol y enolato, como por ejemplo, en los siguientes pares tautoméricos: ceto/enol (ilustrado a continuación), imina/enamina, amida/imino alcohol, amidina/amidina, nitroso/oxima, tiocetona/enotiol, N-nitroso/hidroxiatio, y nitro/aci-nitro.



Se debe tener en cuenta que en el término "isómero" están específicamente incluidos los compuestos con una o más sustituciones isotópicas. Por ejemplo, H puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo ^1H , ^2H (D) y ^3H (T); C puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo ^{12}C , ^{13}C y ^{14}C ; O puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo ^{16}O y ^{18}O ; y similares.

A menos que se especifique otra cosa, una referencia a un compuesto particular incluye todas estas formas isoméricas, incluidas las mezclas (por ejemplo, mezclas racémicas) del mismo. Los métodos para la preparación (p. ej., síntesis asimétrica) y separación (p. ej., cristalización fraccionada y medios cromatográficos) de tales formas isoméricas o bien son conocidos en la técnica o se obtienen fácilmente mediante la adaptación de los métodos que se dan a conocer en la presente memoria, o métodos conocidos, de una manera conocida.

Salas

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manejar una sal correspondiente del compuesto, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se exponen en Berge *et al.*, 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts", J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19.

Por ejemplo, si el compuesto es aniónico o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico (por ejemplo, $-\text{COOH}$ puede ser $-\text{COO}^-$), entonces se puede formar una sal con un catión adecuado. Los ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, iones de metales alcalinos tales como Na^+ y K^+ , cationes alcalinotérreos tales como Ca^{2+} y Mg^{2+} , y otros cationes tales como Al^{3+} . Los ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ion amonio (es decir, NH_4^+) y iones amonio sustituidos (por ejemplo, NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+). Son ejemplos de algunos iones de amonio sustituidos adecuados los derivados de: etilamina, dietilamina, dicitclohexilamina, trietilamina, butilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, bencilamina, fenilbencilamina, colina, meglumina, y trometamina, así como aminoácidos, tales como lisina y arginina. Un ejemplo de un ion de amonio cuaternario común es $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

Si el compuesto es catiónico o tiene un grupo funcional que puede ser catiónico (por ejemplo, $-\text{NH}_2$ puede ser $-\text{NH}_3^+$), entonces se puede formar una sal con un anión adecuado. Los ejemplos de aniones inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de los siguientes ácidos inorgánicos: clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico y fosforoso.

Los ejemplos de aniones orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de los siguientes ácidos orgánicos: 2-acetiloxibenzoico, acético, ascórbico, aspártico, benzoico, canforsulfónico, cinámico, cítrico, edético, etanodisulfónico, etanosulfónico, fórmico, fumárico, glucheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, hidroximaleico, hidroxinaftalenocarboxílico, isetiónico, láctico, lactobiónico, láurico, maleico, málico, metanosulfónico, múcico, oleico, oxálico, palmítico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fenilsulfónico, propiónico, pirúvico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, tartárico, toluenosulfónico y valérico. Los ejemplos de aniones orgánicos poliméricos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de los siguientes ácidos poliméricos: ácido tánico, carboximetilcelulosa.

A menos que se especifique otra cosa, una referencia a un compuesto particular también incluye las formas salinas del mismo.

Hidratos y solvatos

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular un solvato correspondiente del compuesto. El término "solvato" se usa en la presente memoria en el sentido convencional para referirse a un complejo de soluto (por ejemplo, compuesto, sal de compuesto) y disolvente. Si el disolvente es agua, el solvato se puede denominar convenientemente un hidrato, por ejemplo, un hemihidrato, un monohidrato, un sesquihidrato, un dihidrato, un trihidrato, etc.

A menos que se especifique otra cosa, una referencia a un compuesto particular también incluye las formas de solvato e hidrato del mismo.

Formas químicamente protegidas

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular el compuesto en una forma protegida químicamente. La expresión "forma protegida químicamente" se usa en la presente memoria en el sentido químico convencional y se refiere a un compuesto en el que uno o más grupos funcionales reactivos están protegidos de reacciones químicas indeseables en condiciones específicas (por ejemplo, pH, temperatura, radiación, disolvente y similares). En la práctica, se emplean métodos químicos bien conocidos para hacer que un grupo funcional que de otro modo sería reactivo, se vuelva no reactivo de forma reversible, en las condiciones especificadas. En una forma protegida químicamente, uno o más grupos funcionales reactivos están en la forma de un grupo protegido o protector (también conocido como un grupo enmascarado o enmascarador o un grupo bloqueado o bloqueante). Al proteger un grupo funcional reactivo, se pueden realizar reacciones que implican a otros grupos funcionales reactivos no protegidos, sin afectar al grupo protegido; el grupo protector se puede eliminar, generalmente en una etapa posterior, sin afectar sustancialmente al resto de la molécula. Véase, por ejemplo, Protective Groups in Organic Synthesis (T. Greene and P. Wuts; 4th Edition; John Wiley and Sons, 2006).

Una amplia variedad de tales métodos de "protección", "bloqueo" o "enmascaramiento" son ampliamente utilizados y bien conocidos en la síntesis orgánica. Por ejemplo, un compuesto que tiene dos grupos funcionales reactivos no equivalentes, donde ambos podrían ser reactivos en condiciones específicas, se puede derivar para convertir uno de los grupos funcionales en "protegido" y, por lo tanto, no reactivo, en las condiciones especificadas; y así protegido, el compuesto se puede usar como un reactante que tiene efectivamente solo un grupo funcional reactivo. Una vez que se completa la reacción deseada (que implica al otro grupo funcional), el grupo protegido puede ser "desprotegido" para volverlo a su funcionalidad original.

Por ejemplo, un grupo hidroxilo puede ser protegido como un éter ($-\text{OR}$) o un éster ($-\text{OC}(=\text{O})\text{R}$), por ejemplo, como: un éter *t*-butílico; un éter de bencilo, benzhidrido (difenilmetilo) o tritilo (trifenilmetilo); un éter de trimetilsililo o *t*-butildimetilsililo; o un éster de acetilo ($-\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{OAc}$).

Por ejemplo, un grupo amina puede ser protegido, por ejemplo, como una amida ($-\text{NRCO}-\text{R}$) o un uretano ($-\text{NRCO}-\text{OR}$), por ejemplo, como: una metil amida ($-\text{NHCO}-\text{CH}_3$); una benciloxi amida ($-\text{NHCO}-\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, $-\text{NH}-\text{Cbz}$); como una *t*-butoxi amida ($-\text{NHCO}-\text{OC}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{NH}-\text{Boc}$); una 2-bifenil-2-propoxi amida ($-\text{NHCO}-\text{OC}(\text{CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4\text{C}_6\text{H}_5$, $-\text{NH}-$

Bpoc), como una 9-fluorenilmetoxi amida (-NH-Fmoc), como una 6-nitroveratiloxi amida (-NH-Nvoc) , como una 2-trimetilsililetiloxi amida (-NH-Teoc), como una 2,2,2-tricloroetiloxi amida (-NH-Troc), como una aliloxi amida (-NH-Alloc), como un 2 (-fenilsulfonil)etiloxi amida (-NH-Psec); o, en casos adecuados (p. ej., aminas cíclicas), como un radical nitróxido (>N-O•).

5 Síntesis química general

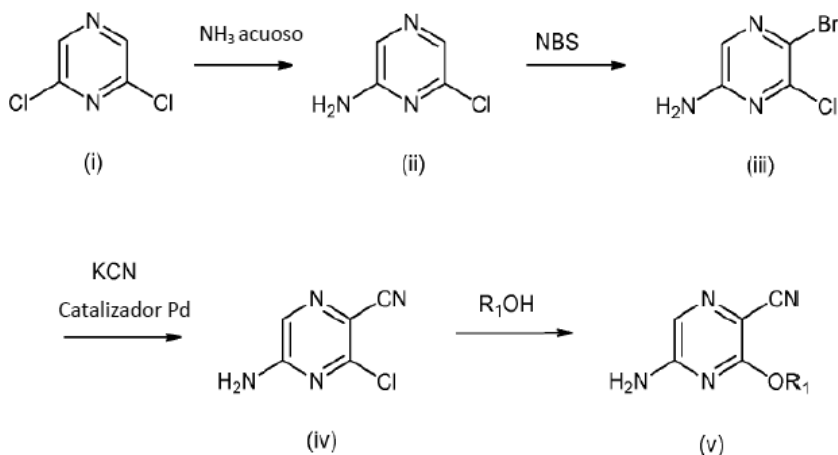
Se describen en la presente memoria varios métodos para la síntesis química de compuestos PAPC. Estos y/u otros métodos bien conocidos pueden ser modificados y/o adaptados de maneras conocidas para facilitar la síntesis de compuestos adicionales descritos en la presente memoria.

Síntesis química

10 Se describen en la presente memoria varios métodos para la síntesis química de los compuestos de piridil-amino-pirazina-carbonitrilo (PAPC) de la presente invención. Estos y/u otros métodos bien conocidos pueden ser modificados y/o adaptados de maneras conocidas para facilitar la síntesis de compuestos adicionales dentro del alcance de la presente invención.

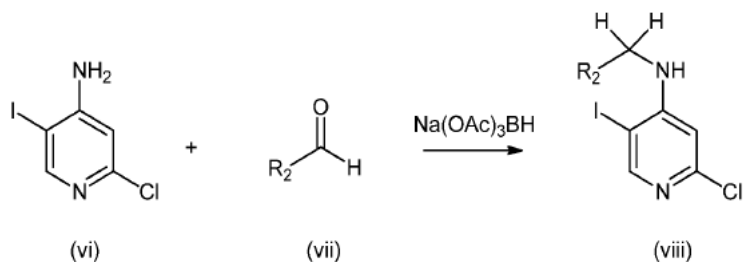
15 En una estrategia (Método general A), se preparan los compuestos de tipo (v) por un método ilustrado en el siguiente esquema. El compuesto (i) comercialmente disponible se hace reaccionar con una fuente de amoníaco, típicamente en solución acuosa con calentamiento, para dar aminopirazina (ii). La reacción posterior con un agente de bromación, tal como N-bromosuccinimida a 0 °C, da la bromopirazina (iii). La reacción posterior de la bromopirazina con una fuente de cianuro, típicamente cianuro de potasio, en condiciones de acoplamiento mediadas por paladio, da piritrina-carbonitrilo (iv). La reacción subsiguiente con un alcohol, típicamente en un disolvente aprótico tal como dioxano en presencia de una base tal como hidruro de sodio, típicamente con calentamiento, da los 2-aminopirazina-5-carbonitrilos 6-alcoxi-sustituídos requeridos (v).

Esquema 1



25 En otra estrategia (Método general B), los compuestos de tipo (viii) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. El compuesto (vi) comercialmente disponible se hace reaccionar con un aldehído (vii), por ejemplo paraformaldehído, en condiciones de aminación reductora utilizando un agente reductor, por ejemplo triacetoxiborohidruro de sodio, típicamente con calentamiento y en presencia de un ácido, para dar los compuestos requeridos (viii).

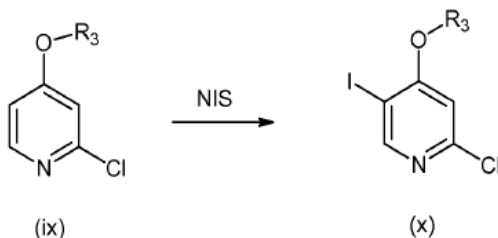
Esquema 2



30 En otra estrategia (Método general C), los compuestos de tipo (x) se preparan por un método ilustrado en el

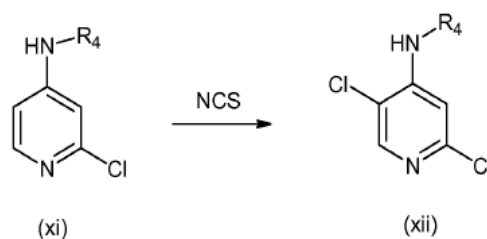
siguiente esquema. Los compuestos (ix) se hacen reaccionar con un agente de yodación, típicamente N-yodosuccinimida en ácido sulfúrico, para dar los compuestos requeridos (x).

Esquema 3



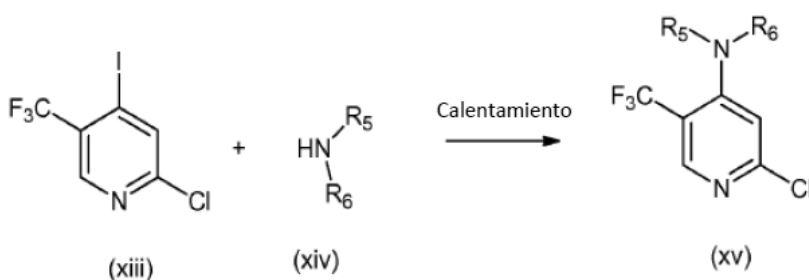
- 5 En otra estrategia (Método general D), los compuestos de tipo (xii) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. Los compuestos (xi) se hacen reaccionar con un agente de cloración, típicamente N-clorosuccinimida en ácido acético, para dar los compuestos requeridos (xii).

Esquema 4



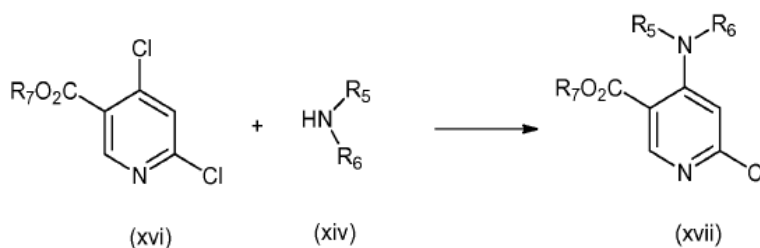
- 10 En otra estrategia (Método general E), los compuestos de tipo (xv) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. El compuesto (xiii) comercialmente disponible se hace reaccionar con una amina (xiv), por ejemplo, metilamina, típicamente con calentamiento en un reactor de microondas, para dar los compuestos requeridos (xv).

Esquema 5



- 15 En otra estrategia (Método general F), los compuestos de tipo (xvii) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. Los compuestos (xvi) se hacen reaccionar con una amina (xiv), por ejemplo dimetilamina, típicamente en acetonitrilo a temperatura ambiente o inferior, para dar los compuestos requeridos (xvii).

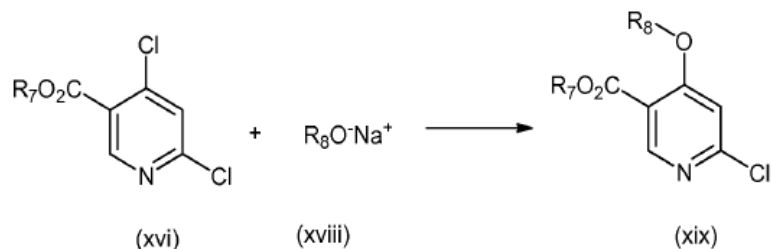
Esquema 6



- 20 En otra estrategia (Método general G), los compuestos de tipo (xix) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. Los compuestos (xvi) se hacen reaccionar con una sal de alcóxido (xviii), por ejemplo, metóxido

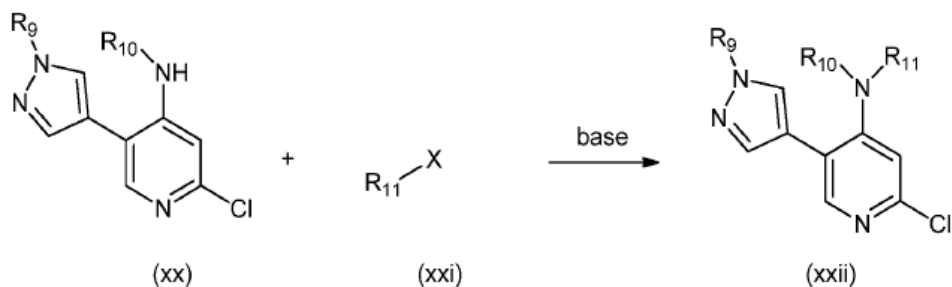
de sodio, en un disolvente aprótico tal como tetrahidrofurano a temperatura ambiente, para dar los compuestos requeridos (xix).

Esquema 7



- 5 En otra estrategia (Método general H), los compuestos de tipo (xxii) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. Los compuestos (xx) se hacen reaccionar con haloalcanos (xxi), por ejemplo yodometano, típicamente en un disolvente aprótico como DMF y en presencia de una base, tal como hidruro de sodio, para dar los compuestos requeridos (xxii).

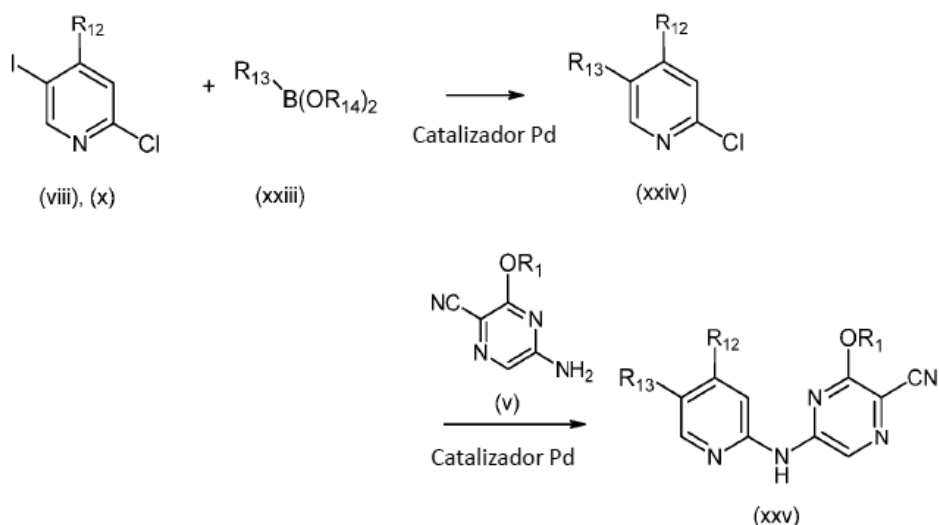
Esquema 8



- 10 En otra estrategia (Método general I), los compuestos de tipo (xxv) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. Las 5-yodo-2-cloropiridinas (viii) o (x) se acoplan con ácidos o ésteres borónicos (xxiii), por ejemplo 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol o 2-ciclopropil-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano, en condiciones de acoplamiento mediadas por paladio en un disolvente tal como acetonitrilo, típicamente con calentamiento en baño de aceite o microondas, y típicamente en presencia de una base de carbonato metálico, para proporcionar piridinas (xxiv). El tratamiento de los compuestos intermedios (xxiv) con compuestos de pirazina (v) en condiciones de aminación mediadas por paladio, típicamente con calentamiento por microondas o baño de aceite y en presencia de una base, tal como un carbonato metálico, da, después de la eliminación de cualquier grupo protector, los compuestos PAPC (xxv) requeridos.

- 20

Esquema 9

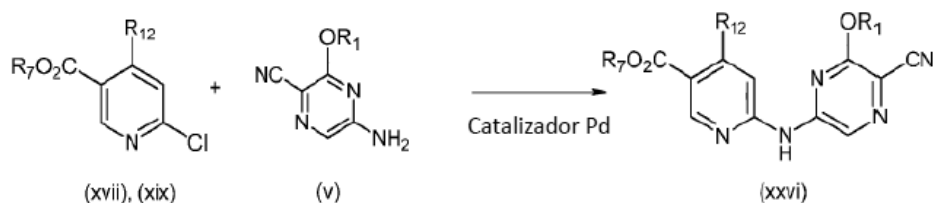


En otra estrategia (Método general J), los compuestos de tipo (xxvi) se preparan por un método ilustrado en el

siguiente esquema. Los ésteres de 2-cloropiridina-5-carboxilato (xvii) o (xix), se acoplan con compuestos de pirazina (v) en condiciones de aminación mediada por paladio, típicamente con calentamiento por microondas o baño de aceite y en presencia de una base, tal como un carbonato metálico, para dar, después de la eliminación de cualquier grupo protector, los compuestos PAPC requeridos (xxvi).

5

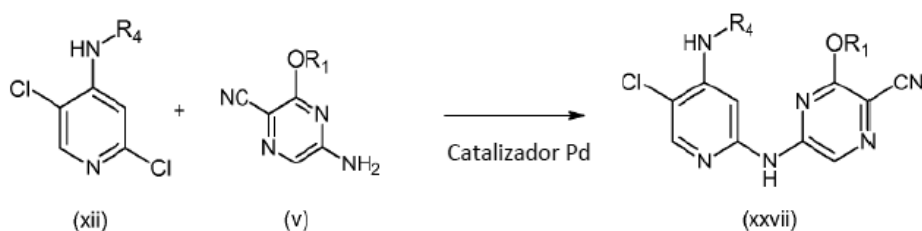
Esquema 10



En otra estrategia (Método general K), los compuestos de tipo (xxvii) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. Las 2,5-dicloropiridinas (xii) se acoplan con compuestos de pirazina (v) en condiciones de aminación mediada por paladio, típicamente con calentamiento por microondas o baño de aceite y en presencia de una base, tal como un carbonato metálico, para dar, después de la eliminación de cualquier grupo protector, los compuestos PAPC (xxvii) requeridos.

10

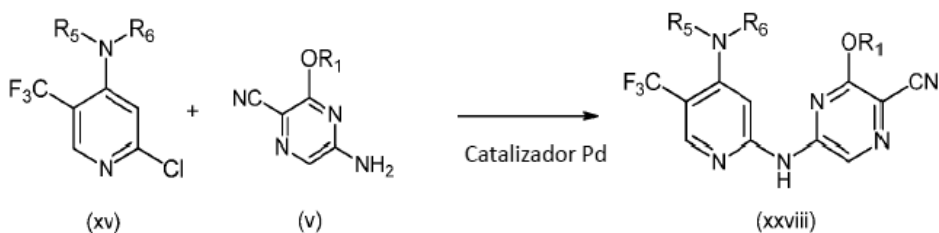
Esquema 11



En otra estrategia (Método general L), los compuestos de tipo (xxviii) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. Las 5-trifluorometil-2-cloropiridinas (xv) se acoplan con compuestos de pirazina (v) en condiciones de aminación mediadas por paladio, típicamente con calentamiento por microondas o baño de aceite y en presencia de una base, tal como un carbonato metálico, para dar, después de la eliminación de cualquier grupo protector, los compuestos PAPC (xxviii) requeridos.

15

Esquema 12



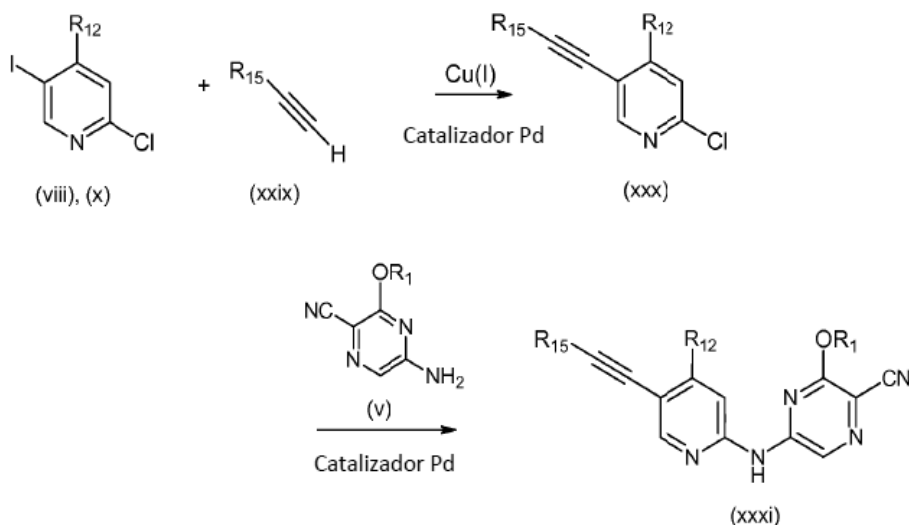
20

En otra estrategia (Método general M), los compuestos de tipo (xxxi) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. Las 5-yodo-2-cloropiridinas (viii) o (x) se acoplan con alquinos (xxix), por ejemplo etiniltrimetilsilano o trimetil(2-metilbut-3-in-2-ilo) silano en condiciones de acoplamiento mediadas por paladio en presencia de una sal de cobre (I), por ejemplo yoduro de cobre (I), en un disolvente tal como la DMF, típicamente con calentamiento en baño de aceite o microondas, y típicamente en presencia de una base, para proporcionar piridinas (xxx). El tratamiento de compuestos intermedios (xxx) con compuestos de pirazina (v) en condiciones de aminación mediada por paladio, típicamente con calentamiento por microondas o baño de aceite y en presencia de una base, tal como un carbonato metálico, da, después de la eliminación de cualquier grupo protector, los compuestos PAPC (xxxi) requeridos.

25

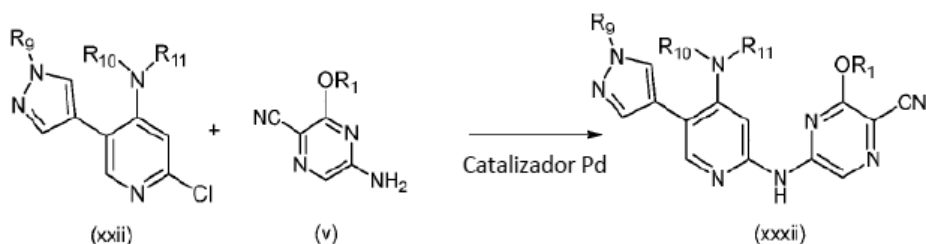
30

Esquema 13



5 En otra estrategia (Método general N), los compuestos de tipo (xxxii) se preparan por un método ilustrado en el siguiente esquema. Las 5-(pirazol-4-il)-2-cloropiridinas (xxii), se acoplan con compuestos de pirazina (v) en condiciones de aminación mediada por paladio, típicamente con calentamiento por microondas o baño de aceite y en presencia de una base, tal como un carbonato metálico, para dar, después de la eliminación de cualquier grupo protector, los compuestos PAPC (xxxii) requeridos.

Esquema 14



- 10 Composiciones
- Un aspecto de la presente invención se refiere a una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 15 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método para preparar una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende mezclar un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- En una realización preferida, la composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) es adecuada para administración oral a un sujeto.
- 20 Usos
- Los compuestos PAPC, como se describen en la presente memoria, son útiles, por ejemplo, en el tratamiento de trastornos (por ejemplo, enfermedades) que se mejoran por la inhibición de la función de la cinasa CHK1, como se describe en la presente memoria.
- Uso en métodos de inhibición de CHK1
- 25 Se describe también en la presente memoria un método para inhibir la función de la cinasa CHK1, *in vitro* o *in vivo*, que comprende poner en contacto una cinasa CHK1 con una cantidad eficaz de un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria.

Se describe también en la presente memoria un método para inhibir la función de la cinasa CHK1 en una célula, *in vitro* o *in vivo*, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad eficaz de un compuesto PAPC, como se describe en esta memoria.

- 5 En una realización, el método comprende además poner en contacto la célula con uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un inhibidor de antimitabolito o de timidilato sintasa (TS); (d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.

Los ensayos adecuados para determinar la inhibición de la función de la cinasa CHK1 se describen en la presente memoria y/o son conocidos en la técnica.

En una realización, el método se lleva a cabo *in vitro*.

- 10 En una realización, el compuesto PAPC se proporciona en forma de una composición farmacéuticamente aceptable.

Cualquier tipo de célula puede ser tratada, incluyendo pero sin limitarse a, tejido adiposo, pulmón, gastrointestinal (incluyendo, por ejemplo, intestino, colon), mama (mamario), ovario, próstata, hígado (hepático), riñón (renal), vejiga, páncreas, cerebro y piel.

- 15 Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente si un compuesto candidato inhibe o no la función de la cinasa CHK1. Por ejemplo, en la presente memoria se describen ensayos adecuados.

Uso en métodos de inhibición de la proliferación celular, etc.

Los compuestos PAPC descritos en la presente memoria, por ejemplo, (a) regulan (por ejemplo, inhiben) la proliferación celular; (b) inhiben la progresión del ciclo celular; (c) promueven la apoptosis celular; o (d) una combinación de una o más de ellas.

- 20 Se describe también en la presente memoria un método para regular (por ejemplo, inhibir) la proliferación celular (por ejemplo, la proliferación de una célula), inhibir la progresión del ciclo celular, promover la apoptosis celular, o una combinación de una o más de ellas, *in vitro* o *in vivo*, que comprende poner en contacto una célula con una cantidad eficaz de un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria.

- 25 En una realización, el método es un método para regular (por ejemplo, inhibir) la proliferación celular (por ejemplo, la proliferación de una célula), *in vitro* o *in vivo*, que comprende poner en contacto una célula con una cantidad eficaz de un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria.

En una realización, el método comprende además poner en contacto la célula con uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña al ADN; (c) un antimitabolito o inhibidor de TS; (d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.

- 30 En una realización, el método se lleva a cabo *in vitro*.

En una realización, el compuesto PAPC se proporciona en forma de una composición farmacéuticamente aceptable.

Se puede tratar cualquier tipo de célula, incluyendo pero sin limitarse a, pulmón, tejido gastrointestinal (incluyendo, por ejemplo, intestino, colon), mama (mamario), ovario, próstata, hígado (hepático), riñón (renal), vejiga, páncreas, cerebro y piel.

- 35 Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente si un compuesto candidato regula o no (por ejemplo, inhibe) la proliferación celular, etc. Por ejemplo, en la presente memoria se describen ensayos que se pueden usar convenientemente para evaluar la actividad ofrecida por un compuesto particular. .

- 40 Por ejemplo, se puede cultivar *in vitro* una muestra de células (por ejemplo, de un tumor) y poner en contacto un compuesto con dichas células, y se puede observar el efecto del compuesto sobre esas células. Como un ejemplo de "efecto", se puede determinar el estado morfológico de las células (por ejemplo, vivas o muertas, etc.). Cuando se encuentra que el compuesto ejerce una influencia sobre las células, esto se puede usar como un marcador de pronóstico o diagnóstico de la eficacia del compuesto en los métodos de tratamiento de un paciente que es portador de células del mismo tipo celular.

Uso en métodos de terapia

- 45 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, para uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, para uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia por administración oral.

- 50 En una realización, el método de tratamiento comprende tratamiento con ambos (i) un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, y (ii) uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-

topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña al ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.

- 5 Otro aspecto de la presente invención se refiere a (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña al ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); o d) un agente dirigido a los microtúbulos como se describe en la presente memoria para uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia, en donde el método de tratamiento comprende el tratamiento con ambos (i) un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, y (a) el inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) el agente que daña al ADN; (c) el antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS), o d) el agente dirigido a los microtúbulos.

Uso en la fabricación de medicamentos

- 10 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, en la fabricación de un medicamento para uso en tratamiento.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento por administración oral.

En una realización, el medicamento comprende el compuesto PAPC.

- 15 En una realización, el tratamiento comprende tratamiento con ambos (i) un medicamento que comprende un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, y (II) uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.

- 20 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II, (b) un agente que daña el ADN, (c) un antimetabolito o inhibidor del TS, o (d) un agente dirigido a los microtúbulos, como se describe en la presente memoria, en la fabricación de un medicamento para uso en un tratamiento, en donde el tratamiento comprende el tratamiento con ambos (i) un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, y (a) el inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II, (b) el agente que daña el ADN, (c) el antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS), o (d) el agente dirigido a los microtúbulos.

- 25 Métodos de tratamiento

Se describe también en la presente memoria un método de tratamiento que comprende administrar a un paciente que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, preferiblemente en la forma de una composición farmacéutica.

- 30 Se describe también en la presente memoria un método de tratamiento que comprende administrar oralmente a un paciente que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, preferiblemente en la forma de una composición farmacéutica.

En una realización, el método comprende además administrar al sujeto uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.

- 35 Afecciones tratadas - afecciones mediadas por CHK1

En una realización (por ejemplo, de uso en métodos de terapia, de uso en la fabricación de medicamentos, de métodos de tratamiento), el tratamiento es tratamiento de una enfermedad o afección que es mediada por CHK1.

Afecciones tratadas - afecciones mejoradas por la inhibición de la función de la cinasa CHK1

- 40 En una realización (por ejemplo, de uso en métodos de terapia, de uso en la fabricación de medicamentos, de métodos de tratamiento), el tratamiento es tratamiento de: una enfermedad o afección que se mejora por la inhibición de la función de la cinasa CHK1.

Trastornos tratados - afecciones proliferativas

En una realización (por ejemplo, de uso en métodos de terapia, de uso en la fabricación de medicamentos, de métodos de tratamiento), el tratamiento es tratamiento de: una afección proliferativa.

- 45 El término "afección proliferativa", como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una proliferación celular no deseada o incontrolada de células excesivas o anormales que es un crecimiento no deseado, tal como el crecimiento neoplásico o hiperplásico.

- 50 En una realización, el tratamiento es tratamiento de: una afección proliferativa caracterizada por la proliferación celular benigna, pre-maligna, o maligna, incluyendo por ejemplo: neoplasmas, hiperplasias, y tumores (p. ej., histiocitoma, glioma, astrocitoma, osteoma), cánceres (véase más adelante), psoriasis, enfermedades óseas,

trastornos fibroproliferativos (por ejemplo, de tejidos conjuntivos), fibrosis pulmonar, aterosclerosis, proliferación de células musculares lisas en los vasos sanguíneos, tal como estenosis o reestenosis después de angioplastia.

Trastornos tratados - cáncer

5 En una realización (por ejemplo, de uso en métodos de terapia, de uso en la fabricación de medicamentos, de métodos de tratamiento), el tratamiento es tratamiento del cáncer.

10 En una realización, el tratamiento es tratamiento del cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer gastrointestinal, cáncer de estómago, cáncer de intestino, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, cáncer de tiroides, cáncer de mama, cáncer de ovarios, cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer testicular, cáncer de hígado, cáncer de riñón, carcinoma de células renales, 10 cáncer de vejiga, cáncer pancreático, cáncer cerebral, neuroblastoma, glioma, sarcoma, osteosarcoma, cáncer de huesos, cáncer nasofaríngeo (p. ej., cáncer de cabeza, cáncer de cuello), cáncer de piel, cáncer escamoso, sarcoma de Kaposi, melanoma, melanoma maligno, linfoma o leucemia.

En una realización, el tratamiento es tratamiento de:

15 un carcinoma, por ejemplo un carcinoma de vejiga, de mama, de colon (p. ej., carcinomas colorrectales tales como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), de riñón, epidérmico, de hígado, de pulmón (p. ej., adenocarcinoma, cáncer de pulmón de células pequeñas y carcinomas de pulmón de células no pequeñas), de esófago, de vesícula biliar, de ovarios, pancreático (p. ej., carcinoma pancreático exocrino), de estómago, de cuello uterino, de tiroides, de próstata, de piel (p. ej., carcinoma de células escamosas);

20 un tumor hematopoyético de linaje linfoide, por ejemplo leucemia, leucemia linfocítica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no-Hodgkin, linfoma de células peludas, o linfoma de Burkett; un tumor hematopoyético de linaje mielóide, por ejemplo leucemias mielógenas agudas y crónicas, síndrome mielodisplásico, o leucemia promielocítica;

un tumor del origen mesenquimal, por ejemplo fibrosarcoma o haddomiosarcoma;

25 un tumor del sistema nervioso central o periférico, por ejemplo astrocitoma, neuroblastoma, glioma o Schwannoma;

melanoma; seminoma; teratocarcinoma; osteosarcoma; xenoderoma pigmentoum; queratoacantoma; cáncer folicular tiroideo; o sarcoma de Kaposi.

En una realización, el tratamiento es tratamiento de cáncer de tumor sólido.

30 En una realización, el tratamiento es tratamiento de cáncer de cabeza; cáncer de cuello; cáncer del sistema nervioso; cáncer cerebral; neuroblastoma; cáncer de pulmón/mediastino; cáncer de mama; cáncer de esófago; cáncer de estómago; cáncer de hígado; cáncer de tracto biliar; cáncer pancreático; cáncer de intestino delgado; cáncer de intestino grueso; cáncer colorrectal; cáncer ginecológico; cáncer genito-urinario; cáncer de ovarios; cáncer de la glándula tiroides; cáncer de las glándulas suprarrenales; cáncer de piel; melanoma; sarcoma óseo; sarcoma de tejidos blandos; tumor maligno pediátrico; enfermedad de Hodgkin; linfoma no Hodgkin; mieloma; leucemia; o 35 metástasis desde un sitio primario desconocido.

En una realización, el cáncer se caracteriza por, o se caracteriza además por, ser un cáncer deficiente en p53. En una realización, el cáncer es cáncer deficiente en p53.

En una realización, el tratamiento es tratamiento de la metástasis cancerosa.

40 El efecto anti-cáncer puede surgir a través de uno o más mecanismos, incluyendo pero sin limitarse a, la regulación de la proliferación celular, la inhibición de la progresión del ciclo celular, la inhibición de la angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos), la inhibición de la metástasis (dispersión de un tumor desde su origen), la inhibición de la migración celular (dispersión de las células cancerosas a otras partes del cuerpo), la inhibición de la invasión (dispersión de las células tumorales en estructuras normales vecinas), o la promoción de la apoptosis celular (muerte celular programada). Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en el tratamiento de los 45 cánceres descritos en esta memoria, independientemente de los mecanismos expuestos en la presente memoria.

Tratamiento

50 El término "tratamiento", como se utiliza en la presente memoria en el contexto de tratamiento de un trastorno, se refiere generalmente al tratamiento de un ser humano o de un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en el cual se logra algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso del trastorno, e incluye una reducción en la tasa de progreso, un alto en la tasa de progreso, alivio de los síntomas del trastorno, mejoría del trastorno y cura del trastorno. También se incluye el tratamiento como una medida profiláctica (es decir, profilaxis). Por ejemplo, el uso con pacientes que aún no han desarrollado el trastorno, pero que están en riesgo de desarrollar el trastorno, está englobado en el término "tratamiento".

Por ejemplo, el tratamiento incluye la profilaxis del cáncer, reduciendo la incidencia de cáncer, aliviando los síntomas del cáncer, etc.

5 El término "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en la presente memoria, se refiere a la cantidad de un compuesto, o de un material, composición o forma farmacéutica que comprende un compuesto, que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado, acorde con una relación razonable beneficio/riesgo, cuando se administra de acuerdo con un régimen de tratamiento deseado.

Terapias de combinación

10 El término "tratamiento" incluye tratamientos de combinación y terapias, en las que se combinan dos o más tratamientos o terapias, por ejemplo, secuencial o simultáneamente. Por ejemplo, los compuestos descritos en la presente memoria también se pueden usar en terapias de combinación, por ejemplo, en conjunción con otros agentes. Ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero no se limitan a, la quimioterapia (administración de agentes activos, incluyendo, por ejemplo, fármacos, anticuerpos (por ejemplo, como en la inmunoterapia), profármacos (por ejemplo, como en la terapia fotodinámica, GDEPT, ADEPT, etc.); cirugía; radioterapia; terapia fotodinámica; terapia génica; y dietas controladas.

15 También se describe aquí un compuesto como se describe en la presente memoria, en combinación con uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, etc.), agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo agentes o terapias que regulan el crecimiento o la supervivencia o la diferenciación celular a través de un mecanismo diferente, tratando así varios rasgos característicos del desarrollo del cáncer.

20 La combinación particular debe ser a discreción del médico que debe seleccionar las dosis utilizando su conocimiento general común y regímenes de dosificación conocidos por un médico experto.

25 Los agentes (es decir, el compuesto descrito en la presente memoria, más uno o más de otros agentes) se pueden administrar simultánea o secuencialmente, y se pueden administrar en programas de dosis que varían individualmente y a través de distintas vías. Por ejemplo, cuando se administran secuencialmente, los agentes se pueden administrar a intervalos poco espaciados (por ejemplo, durante un período de 5-10 minutos) o a intervalos más largos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o más horas de separación, o incluso períodos más largos de separación cuando sea necesario), siendo adecuado el régimen de dosificación exacto a las propiedades del agente o agentes terapéuticos.

30 Los agentes (es decir, el compuesto descrito en la presente memoria, más uno o más de otros agentes) se pueden formular juntos en una sola forma farmacéutica, o alternativamente, los agentes individuales se pueden formular por separado y presentarse juntos en forma de un kit, opcionalmente con instrucciones para su uso.

Terapias de combinación que emplean agentes que dañan el ADN

35 Como se expone en la presente memoria, en algunas realizaciones, el compuesto PAPC se emplea en combinación con (p.ej., en conjunción con) uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); d) un agente dirigido a los microtúbulos; y (e) una radiación ionizante.

Cuando se emplean ambos, un compuesto PAPC y uno o más de otros agentes, se pueden utilizar (p.ej., poner en contacto, administrar, etc.) en cualquier orden. Además, se pueden utilizar (p.ej., poner en contacto, administrar, etc.) juntos, como parte de una sola formulación, o por separado, como formulaciones separadas.

40 Por ejemplo, con respecto a los métodos de tratamiento que emplean ambos, un compuesto PAPC y uno o más de otros agentes, el tratamiento con (por ejemplo, la administración de) el compuesto PAPC puede ser anterior a, concurrente con o puede seguir al tratamiento con (por ejemplo, la administración de) el uno o más de otros agentes, o una combinación de los mismos.

En una realización, el tratamiento con (por ejemplo, la administración de) un compuesto PAPC es concurrente con, o sigue al tratamiento con (por ejemplo, la administración de) uno o más de otros agentes.

45 En una realización, el uno o más de otros agentes es un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; por ejemplo, etopósido, topotecán, camptotecina, irinotecán, SN-38, doxorubicina, o daunorubicina.

En una realización, el uno o más de otros agentes es un agente que daña el ADN; por ejemplo, agentes alquilantes, agentes de platino o compuestos que generan radicales libres; por ejemplo, temozolomida, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, mitomicina C, ciclofosfamida, BCNU, CCNU o bleomicina.

50 En una realización, el uno o más de otros agentes es un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); por ejemplo, 5-fluorouracilo, hidroxiurea, gemcitabina, arabinosilcitosina, fludarabina, tomudex, o ZD9331.

En una realización, el uno o más de otros agentes es un agente dirigido a los microtúbulos; por ejemplo, paclitaxel, docetaxel, vincristina, o vinblastina.

En una realización, el uno o más de otros agentes es la radiación ionizante (por ejemplo, como parte de la radioterapia).

Otros usos

5 Los compuestos PAPC descritos en la presente memoria también pueden ser utilizados como aditivos de cultivo celular para inhibir la función de la cinasa CHK1, por ejemplo, para inhibir la proliferación celular, etc.

Los compuestos PAPC descritos en la presente memoria también pueden ser utilizados como parte de un ensayo *in vitro*, por ejemplo, con el fin de determinar si es probable o no que un hospedante candidato se beneficie del tratamiento con el compuesto en cuestión.

10 Los compuestos PAPC descritos en la presente memoria también pueden ser utilizados como un estándar, por ejemplo, en un ensayo, con el fin de identificar otros compuestos, otros inhibidores de la función de la cinasa CHK1, otros agentes anti-proliferativos, otros agentes anti-cáncer, etc.

Kits

15 Se describe también en la presente memoria un kit que comprende (a) un compuesto PAPC como se describe en la presente memoria, o una composición que comprende un compuesto PAPC como se describe en la presente memoria, por ejemplo, preferiblemente en un recipiente adecuado y/o con empaquetado adecuado; y (b) Instrucciones de uso, por ejemplo, instrucciones escritas sobre cómo administrar el compuesto o composición.

En una realización, el kit comprende además uno o más de otros agentes seleccionados de: (a) un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II; (b) un agente que daña el ADN; (c) un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS); y d) un agente dirigido a los microtúbulos.

20 Las instrucciones escritas pueden incluir también una lista de indicaciones para las cuales el ingrediente activo es un tratamiento adecuado.

Vías de administración

25 El compuesto PAPC o la composición farmacéutica que comprende el compuesto PAPC se puede administrar a un sujeto por cualquier vía de administración conveniente, ya sea sistémica/periférica o tópicamente (es decir, en el lugar de acción deseado).

30 Las vías de administración incluyen, pero no se limitan a, oral (p.ej., por ingestión); bucal; sublingual; transdérmica (incluyendo, por ejemplo, mediante un parche, escayola, etc.); transmucosal (incluyendo, p.ej., mediante un parche, escayola, etc.); intranasal (p.ej., por pulverización nasal); ocular (p.ej., por gotas oftálmicas); pulmonar (p.ej., por terapia de inhalación o insuflación utilizando, p.ej., un aerosol, p.ej., a través de la boca o la nariz); rectal (p.ej., por supositorio o enema); vaginal (p.ej., por pesario); parenteral, por ejemplo, por inyección, incluyendo subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intratecal, intraespinal, intracapsular, subcapsular, intraorbital, intraperitoneal, intratraqueal, subcuticular, intraarticular, subaracnoidea e intraesternal; por implante de un depósito o reservorio, por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular.

35 Preferiblemente, la vía de administración es oral, y el compuesto PAPC o composición farmacéutica que comprende el compuesto PAPC se administra a un sujeto por vía oral.

El sujeto/paciente

40 El sujeto/paciente puede ser un cordado, un vertebrado, un mamífero, un mamífero placentario, un marsupial (p.ej., canguro, wombat), un roedor (p.ej., un cobaya, un hámster, una rata, un ratón), un murino (p.ej., un ratón), un lagomorfo (p.ej., un conejo), un ave (p.ej., un pájaro), un canino (p.ej., un perro), un felino (p.ej., un gato), un equino (p.ej., un caballo), un porcino (p.ej., un cerdo), un ovino (p.ej., una oveja), un bovino p.ej., una vaca), un primate, simio (p.ej., un mono o un mono sin cola), un mono (p.ej., tití, babuino), un mono sin cola (p.ej., gorila, chimpancé, orangután, gibón) o un ser humano.

Además, el sujeto/paciente puede estar en cualquiera de sus formas de desarrollo, por ejemplo, un feto.

En una realización preferida, el sujeto/paciente es un ser humano.

45 Formulaciones

50 Aunque es posible que un compuesto PAPC sea administrado solo, es preferible presentarlo como una formulación farmacéutica (por ejemplo, composición, preparación, medicamento) que comprende al menos un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, junto con uno o más de otros ingredientes farmacéuticos aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, vehículos farmacéuticamente aceptables, diluyentes, excipientes, adyuvantes, cargas, tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos (por ejemplo, agentes humectantes), agentes enmascarantes, agentes colorantes,

agentes aromatizantes y agentes edulcorantes. La formulación puede comprender además otros agentes activos, por ejemplo, otros agentes terapéuticos o profilácticos.

5 Así, la presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas, como se han definido anteriormente, y métodos para preparar una composición farmacéutica que comprenden mezclar al menos un compuesto PAPC, como se describe en la presente memoria, junto con uno o más de otros ingredientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, vehículos, diluyentes, excipientes, etc. Si se formulan como unidades discretas (por ejemplo, comprimidos, etc.), cada unidad contiene una cantidad predeterminada (dosis) del compuesto.

10 El término "farmacéuticamente aceptable", como se utiliza en la presente memoria, se refiere a compuestos, ingredientes, materiales, composiciones, formas farmacéuticas, etc., que son, dentro del alcance de un buen criterio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ejemplo, un ser humano) sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable. Cada vehículo, diluyente, excipiente, etc. también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación.

15 Los vehículos, diluyentes, excipientes, etc. adecuados se pueden encontrar en los textos farmacéuticos estándar, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, Mack Publishing Company, Easton, PA., 1990; y Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5th edition, 2005.

20 Las formulaciones pueden ser preparadas por cualquier método bien conocido en la técnica de la farmacia. Tales métodos incluyen la etapa de poner en asociación el compuesto con un vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo en asociación de manera uniforme e íntima el compuesto con los vehículos (por ejemplo, vehículos líquidos, vehículo sólido finamente dividido, etc.), y después dando forma al producto, si es necesario.

La formulación se puede preparar para proporcionar una liberación rápida o lenta; liberación inmediata, retardada, controlada o sostenida; o una combinación de las mismas.

25 Las formulaciones pueden estar adecuadamente en forma de líquidos, soluciones (p. ej., acuosas, no acuosas), suspensiones (p. ej., acuosas, no acuosas), emulsiones ((p. ej., aceite-en-agua, agua-en-aceite), elixires, jarabes, electuarios, colutorios, gotas, comprimidos (incluyendo, p. ej., comprimidos recubiertos), gránulos, polvos, comprimidos para chupar, pastillas, cápsulas (incluyendo, por ejemplo, cápsulas de gelatina duras y blandas), sellos, píldoras, ampollas, bolos, supositorios, pesarios, tinturas, geles, pastas, pomadas, cremas, lociones, aceites, espumas, pulverizaciones, nieblas o aerosoles.

30 Las formulaciones se pueden proporcionar adecuadamente como un parche, escayola adhesiva, vendaje, apósito, o similar que está impregnado con uno o más compuestos y opcionalmente uno o más de otros ingredientes farmacéuticamente aceptables, incluyendo, por ejemplo, potenciadores de la penetración, permeación y absorción. Las formulaciones también pueden ser proporcionadas adecuadamente en la forma de un depósito o reservorio.

35 El compuesto se puede disolver, suspender o mezclar con uno o más de otros ingredientes farmacéuticamente aceptables. El compuesto se puede presentar en un liposoma u otro sistema microparticulado que es diseñado para dirigir el compuesto, por ejemplo, a los componentes de la sangre o a uno o más órganos.

40 Las formulaciones adecuadas para administración oral (p. ej., por ingestión) incluyen líquidos, soluciones (p. ej., acuosas, no acuosas), suspensiones (p. ej., acuosas, no acuosas), emulsiones (p. ej., aceite-en-agua, agua-en-aceite), elixires, jarabes, electuarios, comprimidos, gránulos, polvos, cápsulas, sellos, píldoras, ampollas, bolos.

45 Las formulaciones adecuadas para administración bucal incluyen enjuagues bucales, comprimidos para chupar, pastillas, así como parches, escayolas adhesivas, depósitos y reservorios. Los comprimidos para chupar comprenden típicamente el compuesto en una base con sabor, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto. Las pastillas comprenden típicamente el compuesto en una matriz inerte, como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábica. Los enjuagues bucales comprenden típicamente el compuesto en un vehículo líquido adecuado.

Las formulaciones adecuadas para administración sublingual incluyen comprimidos, comprimidos para chupar, pastillas, cápsulas, y píldoras.

50 Las formulaciones adecuadas para la administración transmucosal oral incluyen líquidos, soluciones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), suspensiones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), emulsiones (por ejemplo, aceite en agua, agua en aceite), enjuagues bucales, comprimidos para chupar, pastillas, así como parches, escayolas adhesivas, depósitos y reservorios.

55 Las formulaciones adecuadas para administración transmucosal no oral incluyen líquidos, soluciones (p. ej., acuosas, no acuosas), suspensiones (p. ej., acuosas, no acuosas), emulsiones (p. ej., aceite-en-agua, agua-en-aceite), supositorios, pesarios, geles, pastas, pomadas, cremas, lociones, aceites, así como parches, escayolas adhesivas, depósitos y reservorios.

Las formulaciones adecuadas para administración transdérmica incluyen geles, pastas, pomadas, cremas, lociones y aceites, así como parches, escayolas adhesivas, vendajes, apósitos, depósitos y reservorios.

5 Los comprimidos se pueden fabricar por medios convencionales, por ejemplo, compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos de compresión se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el compuesto en una forma fluida tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con uno o más aglutinantes (por ejemplo, povidona, gelatina, goma arábica, sorbitol, tragacanto, hidroxipropilmetil celulosa); rellenos o diluyentes (p. ej., lactosa, celulosa microcristalina, hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (p. ej., estearato de magnesio, talco, sílice); disgregantes (por ejemplo, glicolato sódico de almidón, povidona reticulada, carboximetilcelulosa sódica reticulada); agentes tensoactivos o dispersantes o humectantes (por ejemplo, lauril sulfato sódico); conservantes (p. ej., p-hidroxibenzoato de metilo, p-hidroxibenzoato de propilo, ácido sórbico); sabores, agentes que mejoran el sabor y edulcorantes. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto pulverizado humedecido con un diluyente líquido inerte. Opcionalmente, los comprimidos pueden ser recubiertos o ranurados y se pueden formular de forma que proporcionen una liberación lenta o controlada del compuesto a partir de los mismos utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para obtener el perfil de liberación deseado. Los comprimidos se pueden proporcionar opcionalmente con un recubrimiento, por ejemplo, que afecte a la liberación, por ejemplo un recubrimiento entérico, para proporcionar la liberación en partes del intestino distintas del estómago.

Las pomadas se preparan típicamente a partir del compuesto y una base de pomada parafínica o miscible con agua.

20 Las cremas se preparan típicamente a partir del compuesto y una base de crema de aceite en agua. Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos aproximadamente el 30 % p/p de un alcohol polihidroxilado, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tales como propilenglicol, butano-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que mejora la absorción o penetración del compuesto a través de la piel u otras áreas afectadas. Los ejemplos de dichos potenciadores de la penetración dérmica incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

30 Las emulsiones se preparan típicamente a partir del compuesto y una fase oleosa, que opcionalmente puede comprender simplemente un emulsionante (también conocido como un emulgente), o puede comprender una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o con ambos, una grasa y un aceite. Preferiblemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como un estabilizante. También es preferible incluir ambos, un aceite y una grasa. Juntos, el emulsionante o emulsionantes con o sin estabilizante o estabilizantes forman la llamada cera emulsionante, y la cera, junto con el aceite y/o la grasa, forman la llamada base de pomada emulsionante que forma la fase dispersa oleosa de las formulaciones de crema.

35 Los emulgentes y estabilizantes de la emulsión adecuados incluyen Tween 60, Span 80, alcohol cetosteárico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y laurilsulfato de sodio. La elección de aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en lograr las propiedades cosméticas deseadas, ya que la solubilidad del compuesto en la mayoría de los aceites que probablemente se usarán en formulaciones de emulsión farmacéutica puede ser muy baja. Por lo tanto, la crema debe ser preferiblemente un producto no graso, que no manche y lavable con una consistencia adecuada para evitar fugas de los tubos u otros recipientes. Se pueden usar ésteres alquílicos monobásicos o dibásicos de cadena lineal o ramificada, tales como di-isoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocida como Crodamol CAP, siendo preferidos los tres últimos ésteres. Estos se pueden usar solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Alternativamente, se pueden usar lípidos de alto punto de fusión tales como parafina blanda blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

45 Las formulaciones adecuadas para administración intranasal, donde el vehículo es un líquido, incluyen, por ejemplo, pulverización nasal, gotas nasales, o por administración de aerosol por nebulizador, incluyen soluciones acuosas u oleosas del compuesto.

50 Las formulaciones adecuadas para administración intranasal, donde el vehículo es un sólido, incluyen, por ejemplo, las que se presentan como un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 20 a aproximadamente 500 micras, que se administra de la misma manera que el rapé, es decir, por inhalación rápida a través del pasaje nasal desde un recipiente con el polvo que se mantiene cerca de la nariz.

55 Las formulaciones adecuadas para administración pulmonar (p. ej., por terapia de inhalación o insuflación) incluyen las que se presentan como una pulverización en aerosol desde un envase presurizado, con el uso de un propelente adecuado, tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, dicloro-tetrafluoroetano, dióxido de carbono u otros gases adecuados

Las formulaciones adecuadas para administración ocular incluyen gotas oculares en las que el compuesto está disuelto o suspendido en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el compuesto.

Las formulaciones adecuadas para administración rectal se pueden presentar como un supositorio con una base

adecuada que comprende, por ejemplo, aceites naturales o endurecidos, ceras, grasas, polioles semilíquidos o líquidos, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato; o como una solución o suspensión para tratamiento por enema.

5 Las formulaciones adecuadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones para pulverización que contienen además del compuesto, aquellos vehículos que se conoce en la técnica que son apropiados.

10 Las formulaciones adecuadas para administración parenteral (por ejemplo, por inyección), incluyen líquidos estériles acuosos o no acuosos, isotónicos, libres de pirógenos (por ejemplo, soluciones, suspensiones), en los que el compuesto se disuelve, se suspende o se proporciona de otro modo (por ejemplo, en un liposoma u otro sistema microparticulado). Dichos líquidos pueden contener adicionalmente otros ingredientes farmacéuticamente aceptables, tales como antioxidantes, tampones, conservantes, estabilizantes, bacteriostáticos, agentes de suspensión, agentes espesantes y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre (u otro líquido corporal relevante) del recipiente previsto. Los ejemplos de excipientes incluyen, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales y similares. Ejemplos de vehículos isotónicos adecuados para uso en tales formulaciones incluyen cloruro de sodio para inyección, solución de Ringer, o solución de Ringer lactato para inyección. Típicamente, la concentración del compuesto en el líquido es de aproximadamente 1 ng/mL a aproximadamente 10 µg/mL, por ejemplo, desde aproximadamente 10 ng/mL hasta aproximadamente 1 µg/mL. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes sellados de dosis unitarias o de dosis múltiples, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden ser almacenadas en un estado desecado por congelación (liofilizado) que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones extemporáneas para inyección se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

Dosificación

25 Los expertos en la técnica apreciarán que las dosis apropiadas de los compuestos PAPC, y las composiciones que comprenden los compuestos PAPC, pueden variar de un paciente a otro. La determinación de la dosis óptima generalmente implicará el equilibrio del nivel de beneficio terapéutico frente a cualquier riesgo o efectos secundarios perjudiciales. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen, pero no se limitan a, la actividad del compuesto PAPC particular, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto PAPC, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación, la gravedad del trastorno y la especie, el sexo, la edad, el peso, la afección, la salud general y el historial médico anterior del paciente. La cantidad de compuesto PAPC y la vía de administración serán finalmente a criterio del médico, veterinario o clínico, aunque generalmente la dosis se seleccionará para lograr concentraciones locales en el sitio de acción que logren el efecto deseado sin causar sustanciales efectos secundarios perjudiciales o nocivos.

35 La administración se puede efectuar en una dosis, de forma continua o intermitente (por ejemplo, en dosis divididas a intervalos apropiados) a lo largo del tratamiento. Los métodos para determinar los medios más eficaces y la dosis de administración son bien conocidos por los expertos en la técnica y variarán con la formulación utilizada para la terapia, el propósito de la terapia, la célula o células diana a tratar y el sujeto a tratar. Las administraciones únicas o múltiples se pueden realizar con el nivel de dosis y el patrón seleccionado por el médico, veterinario o clínico responsable del tratamiento.

45 En general, una dosis adecuada del compuesto PAPC está en el intervalo de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 250 mg (más típicamente de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 25 mg) por kilogramo de peso corporal del sujeto al día. Cuando el compuesto es una sal, un éster, una amida, un profármaco o similar, la cantidad administrada se calcula sobre la base del compuesto original y, por lo tanto, el peso real que se utiliza se incrementa proporcionalmente.

Ejemplos

Síntesis química

Los siguientes ejemplos se proporcionan únicamente para ilustrar la presente invención.

Procedimientos sintéticos generales

50 Las reacciones se llevaron a cabo bajo N₂. Las reacciones con microondas se realizaron utilizando reactores de microondas Biotage Initiator 60 o CEM. La cromatografía rápida sobre sílice se realizó utilizando el gel de sílice Merck 60 (0,025-0,04 mm). La cromatografía de intercambio iónico se realizó utilizando cartuchos de resina Isolute Flash SCX-II (ácido) o Flash NH₂ (básico). La cromatografía de gradiente se llevó a cabo en un sistema de purificación de cromatografía rápida automatizado Biotage SP1. Los espectros ¹H NMR fueron registrados en un instrumento Bruker AMX500 a 500 MHz o en un instrumento Bruker Avance a 400 MHz utilizando cerraduras internas de deuterio. Los desplazamientos químicos (δ) se registran con relación a TMS (δ = 0) y/o con referencia al disolvente en el que se midieron. Las constantes de acoplamiento (J) se registran en Hz. Se registraron los análisis

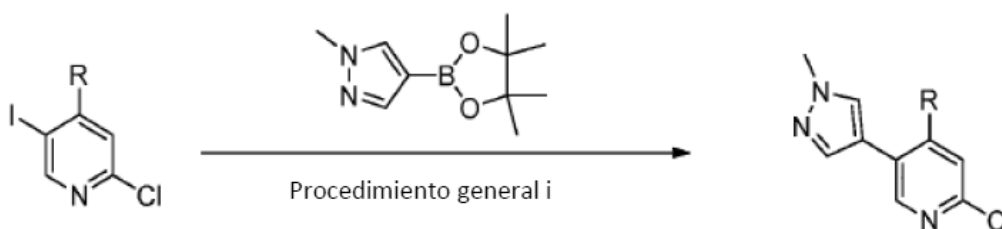
combinados de HPLC-MS utilizando uno de los siguientes:

- 5 1. (LCT) un módulo de separaciones Waters Alliance 2795 y un detector de masas Water/Micromass LCT con ionización por electronebulización (modo de iones + o - como se indique) con HPLC realizada utilizando columnas Supelco DISCOVERY C18, 50 mm × 4,6 mm o 30 mm × 4,6 mm de diámetro interno (i.d.), o Agilent 6210 TOF HPLC-MS con una columna Fenomenex Gemini 3 μm C18 (3 cm × 4,6 mm i.d.). Ambas funcionaron a una temperatura de 22 °C con gradiente de elución de 10-90 % de MeOH/0,1 % de ácido fórmico acuoso a un caudal de 1 mL/min y un tiempo de recorrido de 3,5 o 4 minutos como se indica. La detección UV se hizo a 254 nm y la ionización fue por electronebulización de iones positivos o negativos. El intervalo de barrido del peso molecular fue de 50-1000 Amu.
- 10 2. (ZQ) un espectrómetro de masas Micromass ZQ/HPLC Waters Alliance 2795 HT con una columna Fenomenex Gemini 5 μm, C18, 30 mm × 4,6 mm i.d. o Waters X-Bridge C18, 2,5 μm, 3,0 × 30 mm. Ambas funcionaron a una temperatura de 35 °C con un gradiente de elución de 5-95 % (amoníaco al 0,1 % en acetonitrilo)/(amoníaco al 0,1 %, acetonitrilo al 5 % y formiato de amonio al 0,063 % en agua) a un caudal de 2 mL/min y un tiempo de recorrido de 4 o 6 minutos como se indica. La detección UV se hizo a 220-400 nm utilizando un detector ultravioleta de matriz de fotodiodos Waters 996 y la ionización fue por electronebulización de iones positivos o negativos. El intervalo de barrido del peso molecular fue de 80-1000 Amu.

Procedimiento general i:

Acoplamiento de los intermedios de 5-yodo-2-cloropiridina a 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol

20 Esquema 1

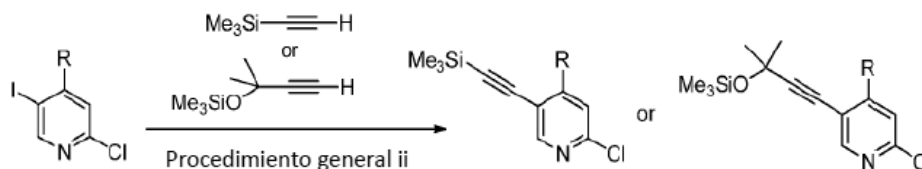


25 Se disolvió el intermedio de 5-yodo-2-cloropiridina adecuado I-8, o I-9 (1 equivalente) en acetonitrilo (7 mL de disolvente por 1 mmol de compuesto). Se añadieron 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (1 equivalente), tetrakis-(trifenilfosfina)paladio(0) (5 % en moles) y carbonato de sodio (1,5 equivalentes) y se calentó la mezcla en un reactor de microondas a 100 °C durante 30 minutos (intermedio I-8) o durante 15 minutos (intermedio I-9). La mezcla de reacción se concentró a vacío sobre gel de sílice. Por cromatografía de gradiente (1-5 % de MeOH:CH₂Cl sobre 15 volúmenes de la columna y 5-10 % sobre 8 volúmenes de la columna) se obtuvo el producto 5-sustituido requerido.

Procedimiento general ii

30 Acoplamiento de los intermedios de 5-yodo-2-cloropiridina a etiniltrimetilsilano o trimetil((2-metilbut-3-in-2-il)oxi)silano

Esquema 2



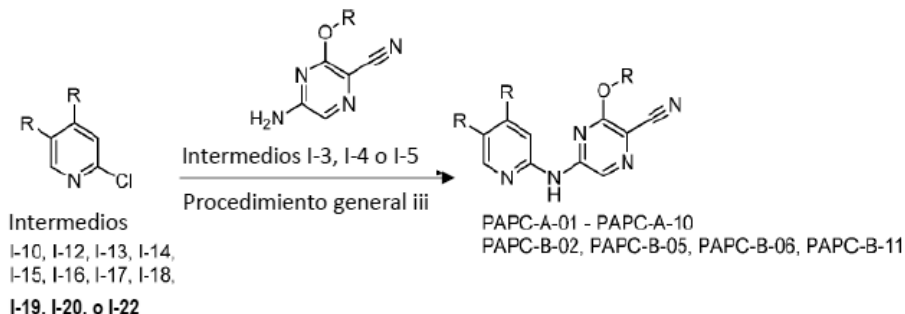
35 El intermedio de 5-yodo-2-cloropiridina apropiado seleccionado de los intermedios I-8, o I-9 (1 equivalente) 0,365 mmol se disolvió en DMF (0,9 mL por 1 mmol de compuesto). Se añadió trimetil((2-metilbut-3-in-2-il)oxi)silano o etiniltrimetilsilano (1,3 equivalente) según corresponda. Se añadieron diclorobis(trifenilfosfina)paladio(II) (6 % en moles), yoduro de cobre(I) (6 % en moles) y trietilamina (18 equivalentes). Se calentó la mezcla en un reactor de microondas a 120 °C durante 10 minutos. Se enfrió la mezcla y se evaporó a sequedad. Por cromatografía rápida de columna de gel de sílice, eluyendo con mezclas de acetato de etilo-hexano, se obtuvo el producto 5-sustituido requerido.

40

Procedimiento general iii:

Acoplamiento de los intermedios de 2-aminopirazina I-3, I-4 o I-5 a intermedios de 2-cloropiridina

Esquema 3

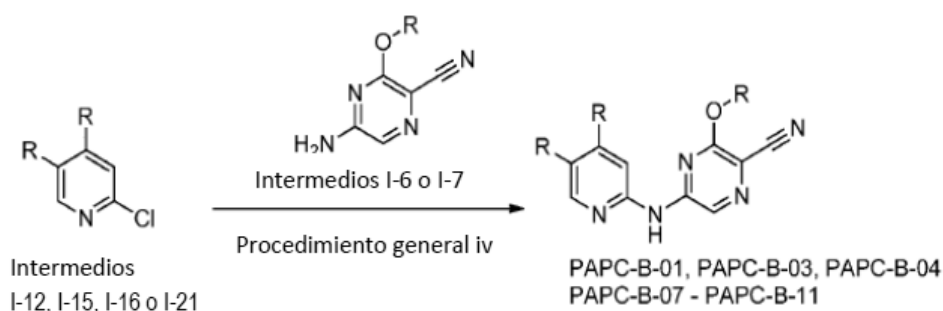


- 5 El intermedio de 2-cloropiridina apropiado seleccionado de los intermedios I-10, I-12, I-13, I-14, I-15, I-16, I-17, I-18, I-19, I-20, o I-22 (1 equivalente) se disolvió en tolueno o en dioxano (10 mL de disolvente por 1 mmol de compuesto). Se añadió el intermedio de 2-aminopirazina apropiado seleccionado de los intermedios I-3, I-4, o I-5 (1 equivalente). Se añadieron Xantphos (20 % en moles), carbonato de cesio (2 equivalentes) y tris(dibencilidienacetona)-dipaladio(0) (10 % en moles). Se calentó la mezcla en el microondas a 130 °C durante 60 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con MeOH (10 mL) y se cargó en una columna de intercambio de iones ácidos SCX-2 de 2 g. Se hizo pasar por la columna MeOH (4 × 20 mL), seguido de una solución de amoníaco en MeOH (2 M; 4 × 20 mL). El eluato básico se concentró a vacío sobre el gel de sílice. La cromatografía de gradiente (1-10 % de MeOH: 1 % de NH₃ en CH₂Cl₂ sobre 15 volúmenes de la columna) dio el producto acoplado requerido. Si fue necesaria más purificación para eliminar el exceso de material de partida de pirazina, entonces el material se sometió a TLC preparativa graduada (2-10 % de MeOH: 1 % de NH₃ en CH₂Cl₂).

Procedimiento general iv

Acoplamiento de los intermedios de 2-aminopirazina I-6 o I-7 a los intermedios de 2-cloropiridina con la desprotección de N-BOC

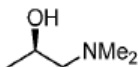
Esquema 4



- 20 El intermedio de 2-cloropiridina apropiado seleccionado de los intermedios I-12, I-15, I-16, o I-21 (1 equivalente) se disolvió en tolueno o en dioxano (10 mL de disolvente por 1 mmol de compuesto). Se añadió el intermedio de 2-aminopirazina apropiado seleccionado de los intermedios I-6 o I-7 (1 equivalente). Se añadieron Xantphos (20 % en moles), carbonato de cesio (2 equivalentes) y tris(dibencilidienacetona)-dipaladio(0) (10 % en moles). Se calentó la mezcla en el microondas a 130 °C durante 60 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con MeOH (10 mL) y se cargó en una columna de intercambio de iones ácidos SCX-2 de 2 g. Se hizo pasar por la columna MeOH (4 × 20 mL), seguido de una solución de amoníaco en MeOH (2 M; 4 × 20 mL). El eluato básico se concentró a vacío sobre gel de sílice y se sometió a cromatografía de gradiente (1-10 % de MeOH: 1 % de NH₃ en CH₂Cl₂ sobre 15 volúmenes de la columna) para dar el producto acoplado protegido con N-BOC. El producto acoplado protegido con N-BOC (1 equivalente) se disolvió en CH₂Cl₂ (140 mL de disolvente por 1 mmol de compuesto). Se añadió ácido trifluoroacético (470 equivalentes) en una porción y se agitó la solución a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se concentró la solución a vacío sobre el gel de sílice. La cromatografía de gradiente (5 % MeOH: 1 % de NH₃ en CH₂Cl sobre 5 volúmenes de la columna, después 5-20 % sobre 15 volúmenes de la columna) dio el producto desprotegido en N requerido. Cuando fue necesario, el producto se purificó adicionalmente por cromatografía en capa fina preparativa graduada (2-10 % de MeOH: 1 % de NH₃ en CH₂Cl₂).

Intermedio I-1

(R)-1-(dimetilamino)propan-2-ol

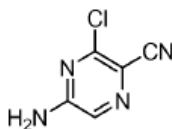


5 Se añadió lentamente dimetilamina al 40 % en agua (11,39 mL, 90 mmol) a (R)-óxido de propileno (5,25 mL, 74,9 mmol) que había sido enfriado en un baño de hielo. Esta solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas antes de ser extraída con CH_2Cl_2 (4 \times 5 mL). Las capas orgánicas reunidas se secaron sobre Na_2SO_4 y se aisló (R)-1-(dimetilamino)propan-2-ol puro (5,12 g, 49,6 mmol, 40 % de rendimiento) como un aceite transparente por destilación a presión reducida (50 mbar).

10 ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 3,82-3,76 (m, 1H), 3,40 (brs, 1H), 2,27 (s, 6H), 2,25-2,21 (M, 1H), 2,16-2,12 (M, 1H), 1,12 (d, $J = 6,0$, 3H).

Intermedio I-2

5-Amino-3-cloropirazina-2-carbonitrilo



15 Se agitó 2,6-dicloropirazina (2,89 g, 19,4 mmol) en NH_3 acuoso (28 %, 10 mL) y se calentó a 100 °C en un tubo sellado durante 18 horas. Se enfrió la mezcla de reacción y se filtró el precipitado resultante. La trituración con agua y después con éter dio 6-cloropirazin-2-amina como un sólido blanco (2,28 g, 17,6 mmol, 91 % de rendimiento).

^1H NMR (D_6 -DMSO, 400 MHz) δ 6,9 (brs, 2H), 7,70 (d, $J = 0,4$, 1H), 7,80 (d, $J = 0,4$, 1H); LC-MS (ZQ, 6 minutos) $R_t = 1,05$ minutos; m/z (ESI +) 130 (M + H).

20 Se agitó 6-cloropirazin-2-amina (2,50 g, 19,3 mmol) en CH_2Cl_2 (60 mL) a 0 °C. Se añadió N-bromosuccinimida (2,92 g, 16,4 mmol) lentamente y se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 60 minutos. Se filtró la mezcla de reacción a través de Celita y se concentró para dar un aceite pardo. La purificación por cromatografía rápida, eluyendo con 0-25 % de EtOAc-hexano, dio 5-bromo-6-cloropirazin-2-amina como un sólido amarillo (1,69 g, 8,16 mmol, 42 % de rendimiento).

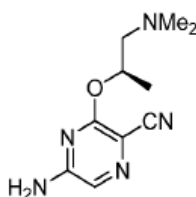
25 ^1H NMR (D_6 -DMSO, 400 MHz) δ 7,1 (brs, 2H), 7,65 (s, 1H); LC-MS (ZQ, 4 minutos) $R_t = 1,46$ minutos; m/z (ESI-) 205 (M-H).

30 Se suspendió una mezcla de 5-bromo-6-cloropirazin-2-amina (1,00 g, 4,8 mmol), yoduro de cobre(I) (914 mg, 4,8 mmol), 18-Crown-6 (95 mg, 0,36 mmol) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (83 mg, 0,072 mmol) en DMF seca (20 mL) y se pasó una corriente de nitrógeno durante 5 minutos. Se añadió cianuro de potasio (312 mg, 4,8 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos, después se mantuvo a reflujo a 200 °C durante 3 horas. Se enfrió la mezcla, se diluyó con EtOAc y se absorbió en gel de sílice (10 g). Se eliminó la DMF por evaporación. El producto se purificó por cromatografía rápida, eluyendo con EtOAc-hexano 1:1, para obtener 5-amino-3-cloropirazina-2-carbonitrilo como un sólido amarillo (607 mg, 3,93 mmol, 82 % de rendimiento).

^1H NMR (D_6 DMSO, 400 MHz) δ 7,87 (s, 1H), 8,1 (brs, 2H); LC-MS (ZQ, 4 minutos) $R_t = 1,20$ minutos; m/z (ESI-) 153 (M-H).

35 Intermedio I-3

(R)-5-Amino-3-((1-(dimetilamino)propan-2-il)oxi)pirazina-2-carbonitrilo



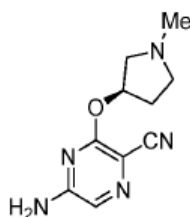
Se añadió (R)-1-(dimetilamino)propan-2-ol (0,667 g, 6,47 mmol) gota a gota a una suspensión de NaH (al 60 % en

- aceite; 0,388 g, 9,71 mmol) en dioxano (16,2 mL) y se agitó durante 30 minutos. Se añadió 5-amino-3-cloropirazina-2-carbonitrilo (intermedio I-2) (1,00 g, 6,47 mmol) en una porción y se calentó la mezcla a 90 °C durante 14 horas. Después de enfriar, se añadió agua (200 mL) y se extrajo la solución con Et₂O (4 × 100 mL), se secó sobre MgSO₄, y se eliminaron los compuestos volátiles a vacío. La cromatografía de columna en gradiente eluyendo con MeOH: NH₃ al 1 % en CH₂Cl₂, dio (R)-5-amino-3-((1-(dimetilamino)propan-2-il)oxi)pirazina-2-carbonitrilo (0,558 g, 2,52 mmol, 39 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,54 (s, 1H), 5,42-5,35 (m, 1H), 5,31 (brs, 2H), 2,76 (dd, J=7,5, 13,5, 1H), 2,52 (dd, J=4,0, 13,5, 1H), 2,37 (s, 6H), 1,35 (d, J=6,5, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt=0,80 minutos; m/z (ESI) 222 (M+H).

Intermedio I-4

- 10 (R)-5-Amino-3-((1-metilpirrolidin-3-il)oxi)pirazina-2-carbonitrilo

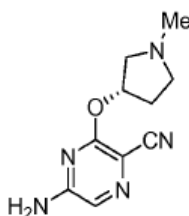


Se preparó como se ha descrito para el intermedio I-3 reemplazando el (R)-1-(dimetilamino)propan-2-ol con (R)-1-metilpirrolidin-3-ol.

- 15 ¹H NMR (500 MHz, D₆-DMSO) δ 7,60 (brs, 2H), 7,51 (s, 1H), 5,36-1,850 (m, 1H), 2,76 (dd, J = 10,8, 6,1, 1H), 2,69 (ddd, J = 8,2, 8,2, 5,3, 1H), 2,62 (dd, J = 10,8, 2,8, 1H), 2,37-2,21 (m, 2H), 2,26 (s, 3H), 1,85-1,77 (m, 1H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) RT = 0,62 minutos; m/z (ESI) 220 (M + H).

Intermedio I-5

- (S)-5-Amino-3-((1-metilpirrolidin-3-il)oxi)pirazina-2-carbonitrilo

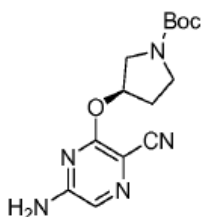


- 20 Se preparó como se ha descrito para el intermedio I-3 reemplazando (R)-1-(dimetilamino)propan-2-ol con (S)-1-metilpirrolidin-3-ol.

¹H NMR (500 MHz, D₆-DMSO) δ 7,60 (brs, 2H), 7,51 (s, 1H), 5,36-1,850 (m, 1H), 2,76 (dd, J = 10,8, 6,1, 1H), 2,69 (ddd, J = 8,2, 8,2, 5,3, 1H), 2,62 (dd, J = 10,8, 2,8, 1H), 2,37-2,21 (m, 2H), 2,26 (s, 3H), 1,85-1,77 (m, 1H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt = 0,62 minutos; m/z (ESI) 220 (M + H).

- 25 Intermedio I-6

(R)-3-((6-Amino-3-cianopirazin-2-il)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo

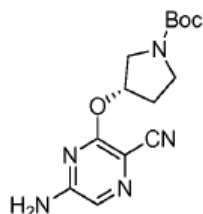


Se preparó como se ha descrito para el intermedio I-3 reemplazando (R)-1-(dimetilamino)propan-2-ol con (R)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo.

Se aisló como una mezcla de rotámeros. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7,61-7,58 (m, 1H), 4,50-4,29 (m, 1H), 3-5,30 (m, 2H), 3,03-3,65 (m, 1H), 1-3,50 (m, 3H), 2,28-2,11 (m, 2H), 1,46 (s, 9H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $\text{RT} = 2,67$ minutos; M/z (ESI) 328 (M + Na).

Intermedio I-7

- 5 (S)-3-((6-Amino-3-cianopirazin-2-il)oxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo

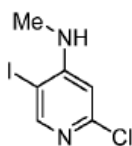


Se preparó como se ha descrito para el intermedio I-3 reemplazando (R)-1-(dimetilamino)propan-2-ol con (S)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo.

- 10 Se aisló como una mezcla de rotámeros. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7,61-7,58 (m, 1H), 5,49-5,44 (m, 1H), 5,35-5,30 (m, 2H), 3,69-3,65 (m, 1H), 3,63-3,50 (m, 3H), 2,28-2,11 (m, 2H), 1,46 (s, 9H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $\text{Rt}=2,67$ minutos; m/z (ESI) 328 (M+Na).

Intermedio I-8

2-Cloro-5-yodo-N-metilpiridin-4-amina

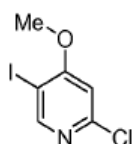


- 15 Se disolvieron 2-cloro-5-yodopiridin-4-amina (2,0 g, 7,86 mmol) y paraformaldehído (0,472 g, 15,7 mmol) en AcOH (56,1 mL) y se agitaron durante 2,5 horas a 40 °C. Se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (3,66 g, 17,3 mmol) y se agitó la mezcla a 40 °C durante 1,5 horas. Se añadió más triacetoxiborohidruro de sodio (3,66 g, 17,3 mmol) y se agitó la mezcla durante 19 horas más. La mezcla de reacción se redujo a la mitad de volumen por evaporación al vacío. Se añadió agua a la mezcla, seguido por alcalinización con NaHCO_3 . Se extrajo la mezcla con EtOAc (3x70 mL) y las capas orgánicas reunidas se secaron sobre MgSO_4 . Se añadió sílice y se concentró la solución. La cromatografía en gradiente, eluyendo con 5-10 % de EtOAc en c-Hex para 4 volúmenes de columna y después 10 % de EtOAc en c-Hex para 11 volúmenes más de columna, dio la 2-cloro-5-yodo-N-metilpiridin-4-amina (1,65 g, 6,14 mmol, 78 % de rendimiento) como un polvo cristalino blanco.

- 25 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8,27 (s, 1H), 6,41 (s, 1H), 4,85 (brs, 1H), 2,93 (d, $J=5,0$, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $\text{Rt}=1,90$ minutos; m/z (ESI) 268 (M+H).

Intermedio I-9

2-Cloro-5-yodo-4-metoxipiridina

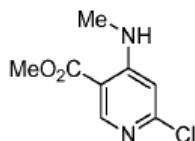


- 30 Se añadió a una solución de 2-cloro-4-metoxipiridina (0,5 g, 3,48 mmol) en ácido sulfúrico (2,5 mL) N-yodosuccinimida (0,825 g, 3,48 mmol) en porciones a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla a 55 °C durante 2 horas. Se vertió la mezcla de reacción en agua con hielo (10 mL) y se añadió lentamente NaOH 8 M (20 mL), tras lo cual la solución de color marrón oscuro se volvió de color amarillo pálido. Se extrajo la capa acuosa con CH_2Cl_2 (2 x 20 mL). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (10 mL) y se concentraron al vacío sobre gel de sílice. La cromatografía rápida seca, eluyendo con EtOAc al 25 %:c-Hex, dio 2-cloro-5-yodo-4-metoxipiridina en forma de un sólido cristalino blanco (0,169 g, 0,760 mmol, 22 % de rendimiento).

- 35 $^1\text{H RMN}$ (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,52 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 3,96 (s, 3H); LC-MS (LCT, 4 minutos) $\text{Rt} = 2,56$ minutos; m/z (ESI) 270 (M + H).

Intermedio I-10

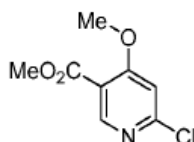
6-Cloro-4-(metilamino)nicotinato de metilo



- 5 Se añadió lentamente metilamina al 40 % en agua (0,847 mL, 9,78 mmol) durante 5 minutos a 0 °C a una solución de 4,6-dicloronicotinato de metilo (0,40 g, 1,94 mmol) en MeCN (6 mL). La solución se agitó a 0 °C durante 30 minutos y después a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío sobre gel de sílice. La cromatografía en gradiente, eluyendo con 5 % de EtOAc:c-Hex sobre 5 volúmenes de columna y 5-50 % sobre 15 volúmenes de columna, dio 6-cloro-4-(metilamino)nicotinato de metilo (278 mg, 1,386 mmol, 71,4 % de rendimiento) como un sólido blanco.
- 10 ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 8,65 (s, 1H), 8,10 (brs, 1H), 6,54 (s, 1H), 3,88 (s, 3H), 2,92 (d, J = 5,1, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt = 2,35 minutos; m/z (ESI) 201 (M + H).

Intermedio I-11

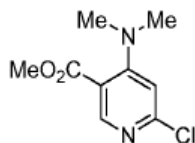
6-Cloro-4-metoxinicotinato de metilo



- 15 Se añadió lentamente metóxido de sodio en polvo (0,136 g, 2,52 mmol) a una solución en agitación de 4,6-dicloronicotinato de metilo (0,40 g, 1,94 mmol) en THF (4 mL) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 18 horas, después se concentró al vacío en gel de sílice. La cromatografía en gradiente, eluyendo con 5 % de EtOAc: c-Hex sobre 5 volúmenes de columna y 5-50 % sobre 15 volúmenes de columna, dio 6-cloro-4-metoxinicotinato de metilo (218 mg, 1,08 mmol, 56 % de rendimiento) como un sólido cristalino blanco.
- 20 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,71 (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,90 (s, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt = 2,13 minutos; m/z (ESI) 202 (M+H).

Intermedio I-12

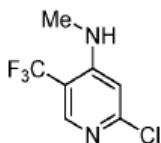
6-Cloro-4-(dimetilamino)nicotinato de metilo



- 25 Se añadió lentamente dimetilamina (1,23 mL, 9,71 mmol) a una solución en agitación de 4,6-dicloronicotinato de metilo (0,40 g, 1,94 mmol) en MeCN (6 mL) a temperatura ambiente. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y luego se concentró al vacío sobre gel de sílice. La cromatografía en gradiente, eluyendo con 5 % de EtOAc:c-Hex sobre 5 volúmenes de columna y 5-50 % sobre 15 volúmenes de columna, dio 6-cloro-4-(dimetilamino)nicotinato de metilo (335 mg, 1,56 mmol, 80 % de rendimiento) como un sólido blanco.
- 30 ^1H RMN (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,21 (s, 1H), 6,85 (s, 1H), 3,83 (s, 3H), 2,90 (s, 6H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt = 2,23 minutos; m/z (ESI) 215 (M + H).

Intermedio I-13

2-Cloro-N-metil-5-(trifluorometil)piridin-4-amina

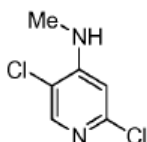


- 5 Se añadió metilamina 2 M en MeOH (11,6 mL, 23,2 mmol) a 2-cloro-4-yodo-5-(trifluorometil)piridina (357 mg, 1,16 mmol) y se calentó la mezcla en un reactor de microondas a 130 °C durante 1 hora. Se concentró la mezcla al vacío. La cromatografía preparativa en capa fina, eluyendo con EtOAc al 20 %:hexano, dio 2-cloro-N-metil-5-(trifluorometil)piridin-4-amina (77 mg, 0,353 mmol, 31 % de rendimiento).

^1H RMN (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,17 (s, 1H), 6,90 (brs, 1H), 6,74 (s, 1H), 2,81 (d, J = 5, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt = 1,98 minutos; m/z (ESI) 211 (M + H).

10 Intermedio I-14

2,5-Dicloro-N-metilpiridin-4-amina

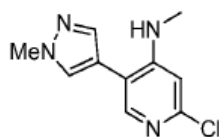


- 15 Se añadió N-clorosuccinimida (0,623 g, 4,67 mmol) a 2-cloro-N-metil-piridin-4-amina (0,50 g, 3,89 mmol) y acetato de potasio (0,763 g, 7,78 mmol) en AcOH (25 mL) y se agitó la mezcla a 80 °C durante 1,25 horas. Se enfrió la mezcla y se concentró al vacío. La mezcla concentrada se diluyó con agua, se neutralizó con NaOH acuoso y se extrajo con EtOAc (x3). Los extractos orgánicos se evaporaron sobre gel de sílice. La cromatografía en gradiente, eluyendo con EtOAc al 10-50 %:c-Hex, dio 2,5-dicloro-N-metilpiridin-4-amina (0,114 g, 0,699 mmol, 18 % de rendimiento).

- 20 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,02 (s, 1H), 6,52 (s, 1H), 4,95 (brs, 1H), 2,96 (d, J=5, 3H); LC-MS (LCT, 4 minutos) Rt=2,17 minutos; m/z (ESI) 177 (M+H).

Intermedio I-15

2-Cloro-N-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-amina

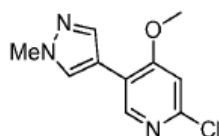


- 25 Se preparó a partir del intermedio I-8 y 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol siguiendo el Procedimiento general i.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,83 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 4,68 (brs, 1H), 3,96 (s, 3H), 2,84 (d, J=5,1, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt=1,09 minutos; m/z (ESI) 223 (M+H).

Intermedio I-16

2-Cloro-4-metoxi-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridina

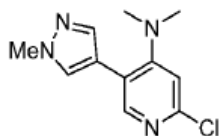


- 30 Se preparó a partir del intermedio I-9 y 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol siguiendo el Procedimiento general i.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,83 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 4,68 (brs, 1H), 3,96 (s, 3H), 2,84 (d, $J=5,1$, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,09$ minutos; m/z (ESI) 224 (M+H).

Intermedio I-17

2-Cloro-N,N-dimetil-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-amina



5

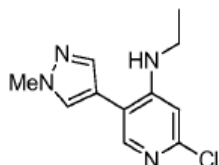
Se añadió lentamente DMF (2,99 mL) a hidruro de sodio en agitación (al 60 % en aceite; 51 mg, 1,28 mmol) y 2-cloro-N-metil-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-amina (Intermedio I-15) (104 mg, 0,467 mmol) a temperatura ambiente. Se calentó la mezcla a 80 °C durante 10 minutos, seguido por la adición de yodometano (0,035 mL, 0,560 mmol). Se agitó la mezcla a 80 °C durante 30 minutos, después se enfrió y se diluyó con NaHCO_3 acuoso saturado (45 mL) y acetato de etilo (70 mL). Después de agitar durante 10 minutos, se separó la capa orgánica y se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (2 x 70 mL). Las capas orgánicas reunidas se evaporaron sobre gel de sílice. La cromatografía en gradiente, eluyendo con 1-10 % de MeOH:1 % de NH_3 en CH_2Cl_2 sobre 10 volúmenes de columna, dio 2-cloro-N,N-dimetil-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-amina (102 mg, 0,431 mmol, 92 % de rendimiento).

10

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,03 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 3,96 (s, 3H), 2,72 (s, 6H).

15 Intermedio I-18

2-Cloro-N-etil-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-amina



20

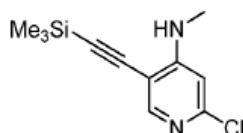
Se agitó a 40 °C durante 15 minutos una mezcla de 2-cloro-5-yodopiridin-4-amina (262 mg, 1,03 mmol), exceso de paraformaldehído (618 mg, 21 mmol) y AcOH (10,3 mL), seguido por la adición de exceso de triacetoxiborohidruro de sodio (4,8 g, 23 mmol). Después de agitar durante 2,5 horas, se añadieron más paraformaldehído (236 mg, 7,86 mmol) y triacetoxiborohidruro de sodio (1,83 g, 8,63 mmol). Después de 18 horas, se diluyó la mezcla con agua y se basificó con NaHCO_3 . Se extrajo la mezcla con EtOAc (3 x 30 mL). Los extractos orgánicos reunidos se secaron y se evaporaron sobre sílice. La cromatografía en gradiente, eluyendo con 5-10 % de EtOH: CH_2Cl_2 sobre 17 volúmenes de columna, dio 2-cloro-N-etil-5-yodopiridin-4-amina (291 mg, 1,03 mmol, 100 % de rendimiento). LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t = 2,56$ minutos; m/z (ESI) 282 (M + H). El material se hizo reaccionar con 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol siguiendo el Procedimiento general i para dar 2-cloro-N-etil-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-4-amina.

25

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,84 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 6,50 (s, 1H), 4,60 (brs, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,19 (2H, q, $J=7,2$), 1,25 (t, $J=7,2$, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,35$ minutos; m/z (ESI) 237 (M+H).

30 Intermedio I-19

2-Cloro-N-metil-5-((trimetilsilil)etnil)piridin-4-amina



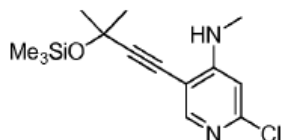
Se preparó a partir del intermedio I-8 y etiniltrimetilsilano siguiendo el Procedimiento general ii.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,11 (s, 1H), 6,47 (s, 1H), 5,15 (brs, 1H), 2,97 (d, $J=5$, 3H), 0,3 (9H, s); LC-MS (LCT, 4 minutos) $R_t=3,13$ minutos; m/z (ESI) 239 (M+H).

35

Intermedio I-20

2-Cloro-N-metil-5-(3-metil-3-((trimetilsilil)oxi)but-1-in-1-il)piridin-4-amina

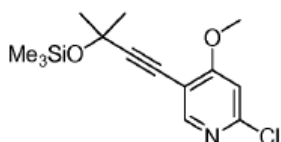


Se preparó a partir del intermedio I-8 y trimetil(2-metilbut-3-in-2-iloxi)silano siguiendo el Procedimiento general ii.

- 5 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,04 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 5,00 (brs, 1H), 2,94 (d, $J=5$, 3H), 1,62 (6H, s), 0,22 (s, 9H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=2,81$ minutos; m/z (ESI) 297 (M+H).

Intermedio I-21

2-Cloro-4-metoxi-5-(3-metil-3-((trimetilsilil)oxi)but-1-in-1-il)piridina

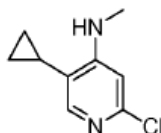


- 10 Se preparó a partir del intermedio I-9 y trimetil(2-metilbut-3-in-2-iloxi)silano siguiendo el Procedimiento general ii.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,25 (s, 1H), 6,82 (s, 1H), 3,92 (s, 3H), 1,60 (6H, s), 0,23 (s, 9H); LC-MS (LCT, 4 minutos) $R_t=3,23$ minutos; m/z (ESI) 298 (M+H).

Intermedio I-22

2-Cloro-5-ciclopropil-N-metilpiridin-4-amina

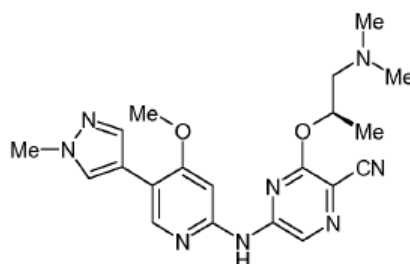


- 15 Se añadieron 2-cloro-5-yodo-N-metilpiridin-4-amina (Intermedio I-8) (30 mg, 0,112 mmol), tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (6,5 mg, 5,59 μ mol) y solución acuosa 0,5 M de carbonato de sodio (290 μ L, 0,145 mmol) a 2-ciclopropil-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (61 μ L, 0,335 mmol) en MeCN. Se calentó la mezcla a 130 $^\circ\text{C}$ en un reactor de microondas durante 1 hora. Se concentró la mezcla al vacío. La cromatografía preparativa en capa fina, eluyendo con 1 % de NH_3 , 6 % de MeOH en CH_2Cl_2 , dio 2-cloro-5-ciclopropil-N-metilpiridin-4-amina (10 mg, 0,055 mmol, 49 % de rendimiento) como un polvo blanco.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,72 (s, 1H), 6,34 (s, 1H), 4,82 (brs, 1H), 2,85 (s, 3H), 1,37-1,34 (m, 1H), 0,85-0,82 (m, 2H), 0,49-0,46 (m, 2H); LC-MS (LCT, 4 minutos) $R_t=1,23$ minutos; m/z (ESI) 183 (M+H).

Compuesto PAPC-A-01

- 25 (R)-3-((1-(Dimetilamino)propan-2-il)oxi)-5-((4-metoxi-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2-il)amino)pirazina-2-carbonitrilo



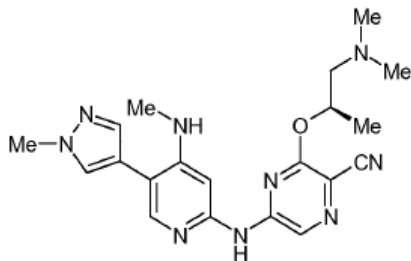
Se preparó a partir del intermedio I-16 y el intermedio I-3 siguiendo el Procedimiento general iii.

ES 2 709 003 T3

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD) δ 9,14 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,06 (s, 1H), 5,87-5,75 (m, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,94 (s, 3H), 3,35 (dd, J=13,7, 6,7, 1H), 3,21 (d, J=13,7, 1H), 2,87 (s, 6H), 1,53 (d, J=6,4, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt=2,11 minutos; m/z (ESI) 409 (M+H).

Compuesto PAPC-A-02

- 5 (R)-3-((1-(Dimetilamino)propan-2-il)oxi)-5-((5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-4-(metilamino)piridin-2-il)amino)pirazina-2-carbonitrilo

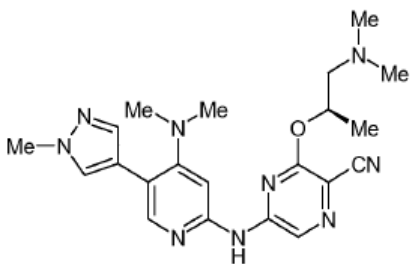


Se preparó a partir del intermedio I-15 y el intermedio I-3 siguiendo el Procedimiento general iii.

- 10 ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,23 (brs, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 5,48-5,37 (m, 1H), 4,72 (q, J=5, 1H), 3,98 (s, 3H), 2,90 (d, J=5, 3H), 2,74 (dd, J=13,4, 7,2, 1H), 2,51 (dd, J=13,4, 4,4, 1H), 2,31 (s, 6H), 1,41 (d, J=6,3, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt=1,09 minutos; m/z (ESI) 408 (M+H).

Compuesto PAPC-A-03

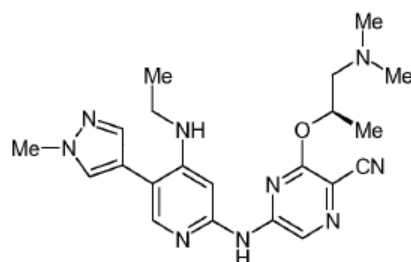
(R)-5-((4-(Dimetilamino)-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2-il)amino)-3-((1-(dimetilamino)propan-2-il)oxi)pirazina-2-carbonitrilo



- 15 Se preparó a partir del intermedio I-17 y el intermedio I-3 siguiendo el Procedimiento general iii.
- ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,61 (brs, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 5,50-5,39 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 2,76 (s, 6H), 2,73 (dd, J=13,4, 7,3, 1H), 2,50 (dd, J=13,4, 4,4, 1H), 2,30 (s, 6H), 1,40 (d, J=6,3, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt=1,59 minutos; m/z (ESI) 418 (M+H).

20 Compuesto PAPC-A-04

(R)-3-((1-(Dimetilamino)propan-2-il)oxi)-5-((4-(etilamino)-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2-il)amino)pirazina-2-carbonitrilo

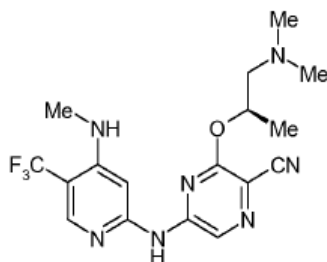


Se preparó a partir del intermedio I-18 y el intermedio I-3 siguiendo el Procedimiento general iii.

- 25 ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,29 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 5,50-5,47 (m, 1H), 4,63-4,61 (m, 1H), 4,02 (s, 3H), 3,27-3,23 (m, 2H), 2,84-2,80 (m, 1H), 2,62-2,59 (m, 1H), 2,39 (s, 6H), 1,43 (d, J=6,3, 3H), 1,30 (t, J=7,3, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) Rt=1,22 minutos; m/z (ESI) 422 (M+H).

Compuesto PAPC-A-05

(R)-3-((1-(Dimetilamino)propan-2-il)oxi)-5-((4-(metilamino)-5-(trifluorometil)piridin-2-il)amino)pirazina-2-carbonitrilo

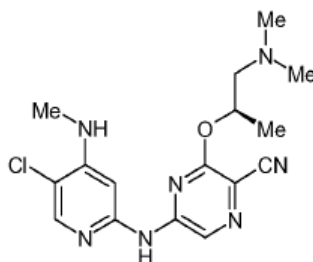


Se preparó a partir del intermedio I-13 y el intermedio I-3 siguiendo el Procedimiento general iii.

- 5 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8,60 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 6,98 (s, 1H), 5,59-5,53 (m, 1H), 2,94 (s, 3H), 2,82 (dd, $J=13,7, 8, 1\text{H}$), 2,51 (dd, $J=13,7, 5, 1\text{H}$), 2,33 (s, 6H), 1,42 (d, $J=6, 3\text{H}$); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,75$ minutos; m/z (ESI) 396 (M+H).

Compuesto PAPC-A-06

(R)-5-((5-Cloro-4-(metilamino)piridin-2-il)amino)-3-((1-(dimetilamino)propan-2-il)oxi)pirazina-2-carbonitrilo



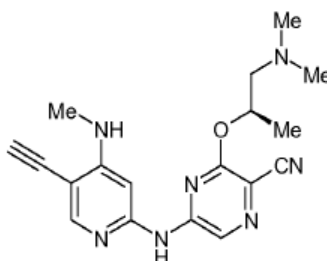
10

Se preparó a partir del intermedio I-14 y el intermedio I-3 siguiendo el Procedimiento general iii.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,22 (s, 1H), 8,02 (brs, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 5,48-5,36 (m, 1H), 4,97 (brq, $J=4,2, 1\text{H}$), 2,98 (d, $J=5,1, 3\text{H}$), 2,74 (dd, $J=13,3, 7,3, 1\text{H}$), 2,51 (dd, $J=13,3, 4,3, 1\text{H}$), 2,31 (s, 6H), 1,41 (d, $J=6,3, 3\text{H}$); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,77$ minutos; m/z (ESI) 362 (M+H).

15 Compuesto PAPC-A-07

(R)-3-((1-(Dimetilamino)propan-2-il)oxi)-5-((5-etinil-4-(metilamino)piridin-2-il)amino)pirazina-2-carbonitrilo

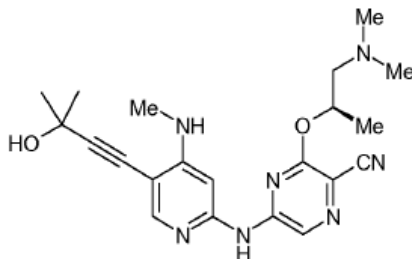


Se preparó a partir del intermedio I-19 y el intermedio I-3 siguiendo el Procedimiento general iii.

- 20 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,28 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,80 (brs, 1H), 6,94 (s, 1H), 5,45-5,40 (m, 1H), 5,21-5,19 (m, 1H), 3,49 (s, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,76-2,73 (m, 1H), 2,54-2,52 (m, 1H), 2,34 (s, 6H), 1,43 (d, $J=6, 3\text{H}$); LC-MS (LCT, 4 minutos) $R_t=1,53$ minutos; m/z (ESI) 352 (M+H).

Compuesto PAPC-A-08

(R)-3-((1-(Dimetilamino)propan-2-il)oxi)-5-((5-(3-hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)-4-(metilamino)piridin-2-il)amino)pirazina-2-carbonitrilo

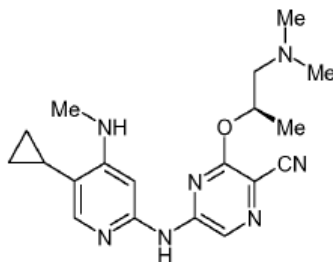


- 5 Se preparó a partir del intermedio I-20 y el intermedio I-3 siguiendo el Procedimiento general iii.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8,46 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 5,59-5,55 (m, 1H), 2,97 (s, 3H), 2,85 (dd, $J=13, 10$, 1H), 2,60 (dd, $J=13, 5$, 1H), 2,35 (s, 6H), 1,61 (s, 6H), 1,43 (d, $J=6$, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,43$ minutos; m/z (ESI) 410 (M+H).

Compuesto PAPC-A-09

- 10 (R)-5-((5-Ciclopropil-4-(metilamino)piridin-2-il)amino)-3-((1-(dimetilamino)propan-2-il)oxi)pirazina-2-carbonitrilo

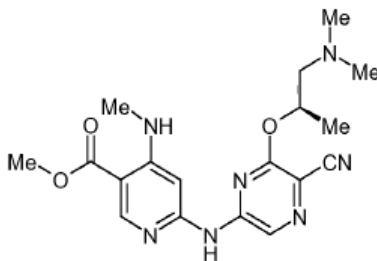


Se preparó a partir del intermedio I-22 y el intermedio I-3 siguiendo el Procedimiento general iii.

- 15 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,11 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 5,39-5,37 (m, 1H), 4,92 (brs, 1H), 2,93-2,29 (m, 3H), 2,73-2,68 (m, 1H), 2,49 (dd, $J=13,3, 3,9$, 1H), 2,27 (s, 6H), 1,40-1,38 (m, 1H), 1,35 (d, $J=6$, 3H), 0,86-0,84 (m, 2H), 0,50-0,48 (m, 2H); LC-MS (LCT, 4 minutos) $R_t=1,40$ minutos; m/z (ESI) 368 (M+H).

Compuesto PAPC-A-10

(R)-6-((5-ciano-6-((1-(dimetilamino)propan-2-il)oxi)pirazin-2-il)amino)-4-(metilamino)nicotinato de metilo

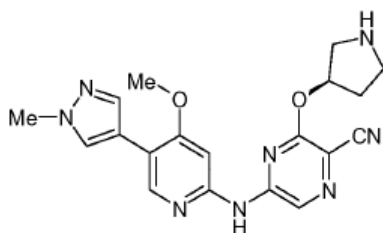


Se preparó a partir del intermedio I-10 y el intermedio I-3 siguiendo el Procedimiento general iii.

- 20 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,68 (s, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,15 (d, $J=5$, 1H), 7,03 (s, 1H), 5,50-5,39 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 2,97 (d, $J=5$, 3H), 2,78 (dd, $J=13,4, 7,3$, 1H), 2,55 (dd, $J=13,4, 4,2$, 1H), 2,34 (s, 6H), 1,42 (d, $J=6,3$, 3H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,84$ minutos; m/z (ESI) 386 (M+H).

Compuesto PAPC-B-01

(R)-5-((4-Metoxi-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2-il)amino)-3-(pirrolidin-3-iloxi)pirazina-2-carbonitrilo

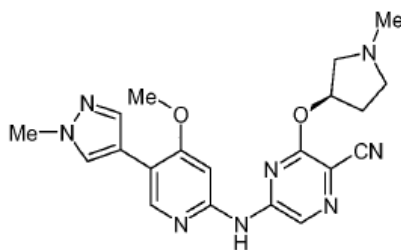


Se preparó a partir del intermedio I-16 y el intermedio I-6 siguiendo el Procedimiento general iv.

- 5 ^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,51 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,93 (d, $J=0,6$, 1H), 7,60 (s, 1H), 5,61-5,56 (m, 1H), 3,98 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 3,23 (dd, $J=12,7$, 5,5, 1H), 3,06-2,97 (m, 2H), 2,94-2,87 (m, 1H), 2,16-2,09 (m, 1H), 1,99-1,92 (m, 1H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=2,02$ minutos; m/z (ESI) 393 (M+H).

Compuesto PAPC-B-02

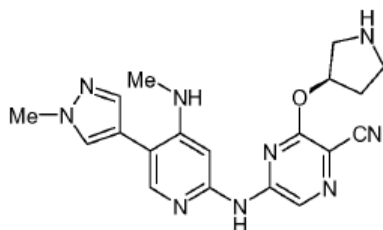
(R)-5-((4-Metoxi-5-(1-metil-1H-pirazol-4-il)piridin-2-il)amino)-3-((1-metilpirrolidin-3-il)oxi)pirazina-2-carbonitrilo



- 10 Se preparó a partir del intermedio I-16 y el intermedio I-4 siguiendo el Procedimiento general iii.
- ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,39 (brs, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 5,51-5,47 (m, 1H), 4,01 (s, 3H), 3,96 (s, 3H), 3,15 (dd, $J=10,7$, 6,3, 1H), 2,73-2,62 (m, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,38-2,30 (m, 1H), 2,12-2,05 (m, 1H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=2,01$ minutos; m/z (ESI) 407 (M+H).

15 Compuesto PAPC-B-03

(R)-5-((5-(1-Metil-1H-pirazol-4-il)-4-(metilamino)piridin-2-il)amino)-3-(pirrolidin-3-iloxi)pirazina-2-carbonitrilo

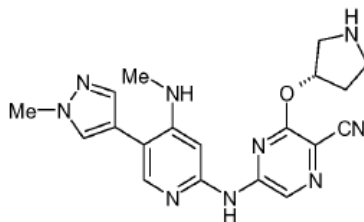


Se preparó a partir del intermedio I-15 y el intermedio I-6 siguiendo el Procedimiento general iv.

- 20 ^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 10,46 (brs, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 5,84 (q, $J=4,7$, 1H), 5,61-5,55 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,25 (dd, $J=12,7$, 5,5, 1H), 3,07-3,00 (m, 2H), 2,93 (ddd, $J=10,9$, 8,1, 4,7, 1H), 2,78 (d, $J=4,8$, 3H), 2,17-2,10 (m, 1H), 2,01-1,93 (m, 1H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,24$ minutos; m/z (ESI) 392 (M+H).

Compuesto PAPC-B-04

(S)-5-((5-(1-Metil-1H-pirazol-4-il)-4-(metilamino)piridin-2-il)amino)-3-(pirrolidin-3-iloxi)pirazina-2-carbonitrilo

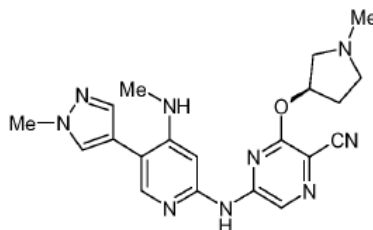


Se preparó a partir del intermedio I-15 y el intermedio I-7 siguiendo el Procedimiento general iv.

- 5 ^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 10,46 (brs, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 5,84 (q, $J=4,7$, 1H), 5,61-5,55 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,25 (dd, $J=12,7$, 5,5, 1H), 3,07-3,00 (m, 2H), 2,93 (ddd, $J=10,9$, 8,1, 4,7, 1H), 2,78 (d, $J=4,8$, 3H), 2,17-2,10 (m, 1H), 2,01-1,93 (m, 1H), LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,24$ minutos; m/z (ESI) 392 (M+H).

Compuesto PAPC-B-05

- 10 (R)-5-((5-(1-Metil-1H-pirazol-4-il)-4-(metilamino)piridin-2-il)amino)-3-((1-metilpirrolidin-3-il)oxi)pirazina-2-carbonitrilo

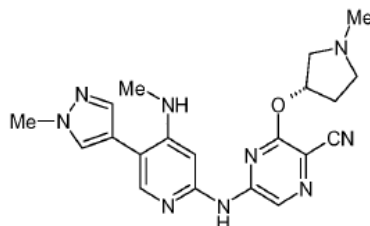


Se preparó a partir del intermedio I-15 y el intermedio I-4 siguiendo el Procedimiento general iii.

- 15 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8,49 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 6,85 (s, 1H), 5,62-5,60 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,05-3,02 (m, 1H), 2,88 (3H, s), 2,87-2,85 (m, 2H), 2,59-2,55 (m, 1H), 2,48-2,43 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,10-2,08 (m, 1H); LC-MS (LCT, 4 minutos) $R_t=1,20$ minutos; m/z (ESI) 406 (M+H).

Compuesto PAPC-B-06

(S)-5-((5-(1-Metil-1H-pirazol-4-il)-4-(metilamino)piridin-2-il)amino)-3-((1-metilpirrolidin-3-il)oxi)pirazina-2-carbonitrilo

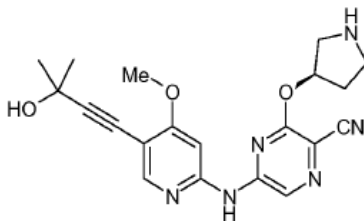


Se preparó a partir del intermedio I-15 y el intermedio I-5 siguiendo el Procedimiento general iii.

- 20 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,33 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 6,98 (s, 1H), 5,56-5,54 (m, 1H), 4,78-4,77 (m, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,29 (dd, $J=11$, 6,2, 1H), 2,92 (s, 3H), 2,80-2,78 (m, 1H), 2,74 (dd, $J=11$, 3,5, 1H), 2,47 (s, 3H), 2,41-2,37 (m, 1H), 2,16-2,14 (m, 1H); LC-MS (LCT, 4 minutos) $R_t=1,20$ minutos; m/z (ESI) 406 (M+H).

Compuesto PAPC-B-07

(R)-5-((5-(3-Hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)-4-metoxipiridin-2-il)amino)-3-(pirrolidin-3-iloxi)pirazina-2-carbonitrilo

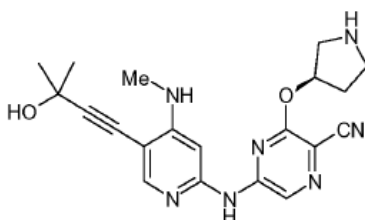


Se preparó a partir del intermedio I-21 y el intermedio I-6 siguiendo el Procedimiento general iv.

- 5 ^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,51 (s, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 5,62 (ddd, $J=5,5, 5,5, 2,8$, 1H), 5,41 (brs, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,38 (dd, $J=13, 5,3$, 1H), 3,25 (d, $J=13$, 1H), 3,18-3,09 (m, 2H), 2,25-2,16 (m, 1H), 2,14-2,07 (m, 1H), 1,47 (s, 6H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,84$ minutos; m/z (ESI) 395 (M+H).

Compuesto PAPC-B-08

(R)-5-((5-(3-Hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)-4-(metilamino)piridin-2-il)amino)-3-(pirrolidin-3-iloxi)pirazina-2-carbonitrilo



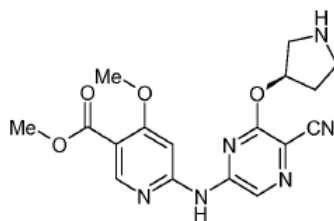
10

Se preparó a partir del intermedio I-20 y el intermedio I-6 siguiendo el Procedimiento general iv.

^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,62 (s, 1H), 7,96 (s, 1H), 6,71 (s, 1H), 5,76 (brs, 1H), 3,49-3,48 (m, 2H), 3,45-3,35 (m, 1H), 2,95 (s, 3H), 2,35-2,32 (m, 2H), 1,60 (s, 6H) (2H oscurecido por agua); LC-MS (LCT, 4 minutos) $R_t=1,59$ minutos; m/z (ESI) 394 (M+H).

15 Compuesto PAPC-B-09

(R)-6-((5-Ciano-6-(pirrolidin-3-iloxi)pirazin-2-il)amino)-4-(metoxi)nicotinato de metilo

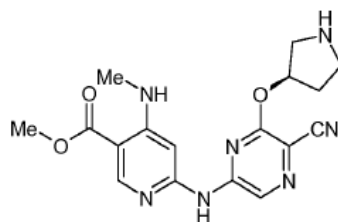


Se preparó a partir del intermedio I-11 y el intermedio I-6 siguiendo el Procedimiento general iv.

- 20 ^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,63 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 5,62-5,60 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,18-2,98 (m, 4H), 2,21-2,12 (m, 1H), 2,07-1,99 (m, 1H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=2,04$ minutos; m/z (ESI) 371 (M+H).

Compuesto PAPC-B-10

(R)-6-((5-Ciano-6-(pirrolidin-3-iloxi)pirazin-2-il)amino)-4-(metilamino)nicotinato de metilo

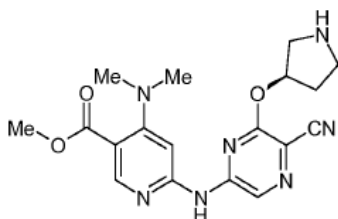


Se preparó a partir del intermedio I-10 y el intermedio I-6 siguiendo el Procedimiento general iv.

- 5 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,58 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,01 (q, $J=4,7$, 1H), 7,22 (s, 1H), 5,62-5,51 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,18 (dd, $J=12,6$, 5,5, 1H), 3,01-2,92 (m, 2H), 2,90 (d, $J=4,9$, 3H), 2,85 (ddd, $J=10,8$, 8,0, 4,8, 1H), 2,14-2,03 (m, 1H), 1,95-1,87 (m, 1H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,64$ minutos; m/z (ESI) 370 (M+H).

Compuesto PAPC-B-11

(R)-6-((5-Ciano-6-(pirrolidin-3-iloxi)pirazin-2-il)amino)-4-(dimetilamino)nicotinato de metilo



- 10 Se preparó a partir del intermedio I-12 y el intermedio I-6 siguiendo el Procedimiento general iv.
- $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,56 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 5,68-5,59 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,39 (dd, $J=13,1$, 5,2, 1H), 3,31 (bs, 1H), 3,27 (d, $J=13,1$, 1H), 3,19-3,12 (m, 2H), 2,91 (s, 6H), 2,23-2,18 (m, 1H), 2,15-2,08 (m, 1H); LC-MS (LCT, 3,5 minutos) $R_t=1,70$ minutos; m/z (ESI) 384 (M+H).

15 Métodos biológicos

Ensayo 1A: Determinación de la potencia del inhibidor frente a CHK1 en formato de ensayo DELFIA

- La función de la cinasa CHK1 se midió en un ensayo DELFIA® con el fin de monitorizar la fosforilación de un péptido CDC25C utilizando un anticuerpo anti-fosfo específico. La reacción enzimática se llevó a cabo en placas de polipropileno (Greiner) utilizando una mezcla de reacción (25 μL) que contenía una mezcla de enzimas y péptidos (CHK1, 1 nM; Biotin-KKVSRSGLYRSPSPENLNRP, 1 μM o 15 μL), ATP (30 μM o 5 μL) y o bien DMSO (2,5 %) o bien compuesto de ensayo (5 μL) diluido para dar un intervalo de concentraciones (de 0 a 100 μM en DMSO al 2,5 %, concentraciones finales) en tampón de ensayo (Tris 40 mM, NaCl 40 mM, MgCl_2 2 mM, DTT 1 mM y Tween 20 al 0,1 %). La mezcla de reacción se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente y después se detuvo mediante la adición de tampón (125 μL) que contenía EDTA 40 mM, Tween 20 al 0,05 %, BSA al 0,1 % en TBS (concentrado 10 x, Sigma). Se transfirió una alícuota (100 μL) de la mezcla de reacción parada a una placa negra recubierta con neutravidina (Perbio) y se incubó durante 1 hora en un agitador (Titertek, Flow Laboratories) a temperatura ambiente. Se lavaron las placas cuatro veces con tampón de lavado (Tris 25 mM (pH 8), NaCl 150 mM y Tween 20 al 0,1 %) (WellWash4, Thermo Life Sciences) y se incubaron durante 1 hora como antes con una mezcla de anticuerpos (100 μL) que consiste en anti-fosfo CDC25C (1,25 nM, #9528, Cell Signaling Technology) e IgG anti-conejo marcada con europio (0,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, AD0105, PerkinElmer Life Sciences) diluida en tampón de ensayo DELFIA (PerkinElmer Life Sciences). Las placas se lavaron cuatro veces más con tampón de lavado antes de la adición de la solución de potenciación (100 $\mu\text{L}/\text{pocillo}$, PerkinElmer Life Sciences). Se leyó la placa en un contador Victor2 1420 multilabel (Perkin Elmer Life Sciences) utilizando un modo de medida de resolución temporal leyendo la fluorescencia a 615 nm. Se calculó la concentración de compuesto de ensayo requerida para inhibir la actividad de la enzima en un 50 % (IC_{50}).

Ensayo 1B: Determinación de la potencia del inhibidor frente a CHK1 en formato de ensayo Caliper

- La actividad de la cinasa CHK1 se midió en un ensayo microfluídico que monitoriza la separación de un producto fosforilado de su sustrato. El ensayo se realizó en un EZ Reader II (Caliper Life Sciences Ltd, Runcorn, UK) utilizando un tampón de separación (# 760367 Caliper LS) que contenía CR-8 (500 nM, # 760278, Caliper LS). Se utilizó un dispensador acústico ECHO® 550 (Labcyte Inc™) para generar curvas de dilución duplicadas de 8 puntos

directamente en 384 placas de ensayo de polipropileno (Greiner Bio-One, Gloucestershire, UK). Para cada compuesto de ensayo se usó una concentración stock de 50 μM en DMSO al 100 %. La cantidad total de DMSO dispensada por pocillo fue de 250 nL para dar una concentración final de ensayo de DMSO del 2,5 % y concentraciones del compuesto de ensayo en el intervalo de 0,5-1000 nM. Se añadieron a esta placa de ensayo, 6 μL de CHK1 (concentración final 2 nM, preparación de proteína interna), 2 μL de péptido 10 (5-FAM-KKKVSRSGLYRSPSPMPENLNRPR-COOH, concentración final 1,5 μM , # 760354 Caliper LS) y 2 μL de ATP (concentración final 90 μM) diluido todo en tampón de cinasa (HEPES 50 mM, Na_3N al 0,02 %, BSA al 0,01 %, ortovanadato de sodio 0,1 mM, DTT 1 mM, MgCl_2 2 mM, Tween 20 al 0,1 %). La placa se selló y se centrifugó (1 minuto, 1000 rpm) antes de la incubación durante una hora a temperatura ambiente. La reacción se detuvo mediante la adición de un tampón de separación (90 μL). Se leyó la placa en un EZ Reader II, utilizando un chip de 12 sipper (760137-0372R, Caliper LS) con ajustes del instrumento de - 10,34 kPa (1,5 psi) y 1750 ΔV . El porcentaje de conversión de producto procedente del sustrato se generó automáticamente y el porcentaje de inhibición se calculó con respecto a los pocillos del blanco (que no contienen enzima y contienen DMSO al 2,5 %) y los pocillos totales (que contienen todos los reactivos y DMSO al 2,5 %). Los valores de IC_{50} se calcularon en GraphPad Prism5 utilizando un ajuste de regresión no lineal del registro (inhibidor) frente a la respuesta con la ecuación de pendiente variable.

Ensayo 2: Determinación de la selectividad del inhibidor para la inhibición de CHK1 frente a CHK2

La actividad de la cinasa CHK2 *in vitro* se midió en un ensayo DELFIA® que monitoriza la fosforilación de un péptido CDC25C utilizando un anticuerpo anti-fosfo específico. La reacción enzimática se llevó a cabo en placas de polipropileno de 96 pocillos (Greiner). La mezcla de reacción (volumen total 25 μL) contenía una mezcla de enzima y péptido (15 μL) (que contenía CHK2, preparada internamente, 1 nM; Biotina-KKKVSRSGLYRSPSPMPENLNRPR, 1 μM), ATP (30 μM , 5 μL) y o bien DMSO (2,5 %) o bien compuesto de ensayo (5 μL) diluido para dar un intervalo de concentraciones (0-100 μM en DMSO al 2,5 %, concentraciones finales) en tampón de ensayo (HEPES 40 mM (pH 7,4), KCl 40 mM, MgCl_2 2 mM, DTT 10 mM y Tween 20 al 0,02 %). La mezcla de reacción se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente y se detuvo mediante la adición de un tampón (125 μL) que contenía EDTA 40 mM, Tween 20 al 0,05 %, BSA al 0,1 % en TBS (concentrado 10 x, Sigma). Se transfirió una alícuota (100 μL) de la mezcla de reacción a una placa negra de 96 pocillos recubierta con neutravidina (Perbio) y se incubó durante 1 hora en un agitador (Titertek, Flow Laboratories) a temperatura ambiente. Se lavaron las placas cuatro veces con tampón de lavado (Tris 25 mM (pH 8), NaCl 150 mM y Tween 20 al 0,1 %) (WellWash4, Thermo Life Sciences) y se incubaron durante 1 hora como antes con una mezcla de anticuerpos (100 μL) que consistía en anti-fosfo CDC25C (diluido 1/4000 equivalente a 0,35 nM-1,25 nM, # 9528, Cell Signalling Technology) y IgG de conejo marcada con europio, (0,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, AD0105, PerkinElmer Life Sciences) diluida en tampón de ensayo DELFIA® (PerkinElmer Life Sciences). Se lavaron las placas cuatro veces más con tampón de lavado antes de la adición de la solución de potenciación (100 $\mu\text{L}/\text{pocillo}$, PerkinElmer Life Sciences). Se leyó la placa en un contador Victor2 1420 multilabel (PerkinElmer Life Sciences) usando un modo de medida en función del tiempo leyendo la fluorescencia a 615 nM. Se calculó la concentración de compuesto de ensayo requerida para inhibir la actividad de la enzima en un 50 % (IC_{50}).

Para cada compuesto de ensayo, se usó la relación de la IC_{50} del ensayo de actividad de la cinasa CHK2 frente a la IC_{50} del ensayo de la actividad de la cinasa CHK1 (es decir, IC_{50} de CHK2/ IC_{50} de CHK1) para definir la selectividad para la inhibición de CHK1 frente a CHK2.

Ensayo 3: Ensayo de inhibición de la mitosis (MIA)

La anulación del punto de control por los inhibidores de la función de la cinasa CHK1 en combinación con agentes genotóxicos se evaluó utilizando un ensayo ELISA basado en europio diseñado para cuantificar el número de células atrapadas en la mitosis después del tratamiento con un agente genotóxico (para inducir la detención de G2) seguido por un compuesto de ensayo en combinación con nocodazol para anular esta detención. Se sembraron células HT29 a 104 células por pocillo en placas de 96 pocillos en un volumen de 160 μL y se dejó que se unieran durante 36 horas. Se diluyó etopósido (stock 10 mM en DMSO) en medio hasta 250 μM y después se añadieron 40 μL a los pocillos apropiados para obtener una concentración final de 50 μM y se incubaron durante 1 hora. Este tratamiento se había optimizado previamente para inducir una detención de G2 en el 80 % de las células 16 horas después del tratamiento. Después de la exposición al fármaco genotóxico, se eliminó el medio y se reemplazó por medio nuevo (160 μL). Las células o bien no se trataron (control no tratado o pre-tratamiento con etopósido solo), se expusieron a nocodazol después del pre-tratamiento con etopósido o a nocodazol solo (concentración final de 100 ng/mL), o bien se expusieron a concentraciones crecientes del compuesto de ensayo (concentración final de 200 μM a 0,01 nM) en combinación con nocodazol (concentración final de 100 ng/mL). Los compuestos de ensayo se añadieron en alícuotas de 40 μL utilizando pocillos por cuadruplicado para cada dosis. Después de 21 horas de exposición, se retiró el medio y se fijaron las células en formaldehído al 4 % en solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 7,4, enfriada previamente a 4 °C) durante 30 minutos a 4 °C, seguido por metanol al 100 % (pre-enfriado a -20 °C) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se lavaron los pocillos con PBS y se bloquearon con leche en polvo al 5 % (Marvel) en solución salina tamponada con Tris (TBS, pH 7,4) a 37 °C durante 30 minutos. Cada pocillo se lavó tres veces con agua que contenía Tween 20 al 0,1 %. Se añadió a cada pocillo anticuerpo primario (MPM-2, Upstate cat # 05-368, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en leche al 5 % en TBS) y se incubó durante la noche con agitación a 4 °C. Se eliminó el anticuerpo primario y se lavaron los pocillos con agua que contenía Tween 20 al 0,1 %. Se añadió a cada pocillo el

anticuerpo secundario (anti-ratón marcado con europio, Perkin-Elmer cat# AD0124, 333 ng/mL en el tampón de ensayo Perkin-Elmer cat# 1244-111) y se incubó a 37 °C durante 1 hora. Cada pocillo se lavó con agua que contenía Tween 20 al 0,1 % y se trató con solución de potenciación (Perkin-Elmer cat# 1244-105). Las emisiones de europio se contaron en un contador Wallac, Victor2 (Perkin-Elmer, Bucks UK). Se incluyeron los controles apropiados y los resultados se expresaron como la concentración de compuesto de ensayo requerida para permitir que el 50 % de las células entren en mitosis (MIA IC₅₀).

Estimación de la biodisponibilidad oral comparativa por muestreo limitado en estudio farmacocinético *in vivo*

Se mantuvieron ratones hembra BALB/c (6 semanas de edad) (Charles River UK Ltd, Margate, UK) en un ambiente controlado con alimentos y agua esterilizada disponibles *ad libitum*. Los animales pesaban 20 ± 2 g en el momento del experimento. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con las directrices locales y nacionales para la experimentación con animales. Las soluciones de dosificación se prepararon disolviendo los compuestos de ensayo en DMSO al 10 % y Tween 20 al 5 % en solución salina al 85 %. Los compuestos de ensayo se administraron por vía oral (p.o.) mediante sonda oral. Se recogió la sangre en puntos de tiempo seleccionados mediante punción cardíaca bajo anestesia en jeringas heparinizadas, se transfirió a tubos de microcentrifuga y se centrifugó a 4500 × g durante 2 minutos para obtener plasma. El análisis cuantitativo se realizó mediante cromatografía de líquidos de alta resolución en tandem con espectrometría de masas en un instrumento de triple cuadrupolo (Agilent 6410) utilizando una monitorización de reacción múltiple de transiciones seleccionadas con olomoucina utilizada como estándar interno. La cuantificación se realizó frente a una curva estándar que varía desde concentraciones de 2 nM hasta 1000 nM en la matriz medida. Se incluyeron controles de calidad a nivel de 25, 250 y 750 nM. Cuando fue necesario, se diluyeron las muestras en la matriz de interés. Las concentraciones plasmáticas de los compuestos de ensayo se midieron 1 hora después de la dosis oral y se expresaron en relación con una dosis de 10 mg/kg para proporcionar una estimación comparativa del grado de biodisponibilidad oral.

Datos biológicos

Actividad de CHK1

Se analizaron los siguientes compuestos utilizando el Ensayo 1A (Determinación de la potencia del inhibidor frente a CHK1 en formato de ensayo DELFIA) o el Ensayo 1B (Determinación de la potencia del inhibidor frente a CHK1 en formato de ensayo Caliper):

PAPC-A-01, PAPC-A-02, PAPC-A-03, PAPC-A-04, PAPC-A-05, PAPC-A-06, PAPC-A-07, PAPC-A-08, PAPC-A-09, PAPC-A-10, PAPC-B-01, PAPC-B-02, PAPC-B-03, PAPC-B-04, PAPC-B-05, PAPC-B-06, PAPC-B-07, PAPC-B-08, PAPC-B-09, PAPC-B-10, PAPC-B-11.

Todos los compuestos tienen una IC₅₀ de CHK1 inferior a 0,1 µM (100 nM).

Los siguientes compuestos tienen una IC₅₀ de CHK1 inferior a 0,02 µM (20 nM):

PAPC-A-01, PAPC-A-02, PAPC-A-03, PAPC-A-08, PAPC-A-10, PAPC-B-01, PAPC-B-02, PAPC-B-03, PAPC-B-04, PAPC-B-05, PAPC-B-06, PAPC-B-08, PAPC-B-10, PAPC-B-11,

Selectividad para CHK1 frente a CHK2

Los siguientes compuestos se analizaron también utilizando el Ensayo 2 (Determinación de la selectividad del inhibidor para la inhibición de CHK1 frente a CHK2)

PAPC-A-01, PAPC-A-02, PAPC-A-03, PAPC-A-07, PAPC-A-08, PAPC-A-09, PAPC-B-02, PAPC-B-03, PAPC-B-04, PAPC-B-06, PAPC-B-10, PAPC-B-11.

Todos los compuestos tienen una selectividad de CHK1 frente a CHK2 de al menos 100 veces (esto es, IC₅₀ de CHK2/IC₅₀ de CHK1 > 100)

Actividad MIA

Los siguientes compuestos se ensayaron utilizando el Ensayo 3 (ensayo de inhibición de la mitosis (MIA))

PAPC-A-01, PAPC-A-02, PAPC-A-03, PAPC-A-04, PAPC-A-05, PAPC-A-06, PAPC-A-07, PAPC-A-08, PAPC-A-09, PAPC-A-10, PAPC-B-01, PAPC-B-02, PAPC-B-03, PAPC-B-04, PAPC-B-05, PAPC-B-06, PAPC-B-07, PAPC-B-08, PAPC-B-09, PAPC-B-10, PAPC-B-11.

Los siguientes compuestos tienen una IC₅₀ en MIA inferior a 0,5 µM:

PAPC-A-01, PAPC-A-02, PAPC-A-03, PAPC-A-04, PAPC-A-05, PAPC-A-06, PAPC-A-07, PAPC-A-08, PAPC-A-09, PAPC-A-10, PAPC-B-01, PAPC-B-02, PAPC-B-03, PAPC-B-04, PAPC-B-05, PAPC-B-06, PAPC-B-08, PAPC-B-10, PAPC-B-11.

Biodisponibilidad oral

Los siguientes compuestos se evaluaron en cuanto a biodisponibilidad oral utilizando el método descrito anteriormente:

- 5 PAPC-A-01, PAPC-A-02, PAPC-A-05, PAPC-A-07, PAPC-A-09, PAPC-B-01, PAPC-B-02, PAPC-B-03, PAPC-B-04, PAPC-B-05, PAPC-B-06, PAPC-B-08, PAPC-B-10.

Todos los compuestos tienen una biodisponibilidad oral (concentración plasmática, 1 hora después de 10 mg/kg p.o.) de al menos 2 nM.

Los siguientes compuestos tienen una biodisponibilidad oral (concentración plasmática, 1 hora después de 10 mg/kg p.o.) de al menos 10 nM.

- 10 PAPC-A-01, PAPC-A-02, PAPC-A-05, PAPC-A-07, PAPC-A-09, PAPC-B-02, PAPC-B-05, PAPC-B-06, PAPC-B-08, PAPC-B-10.

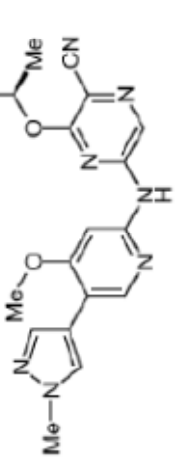
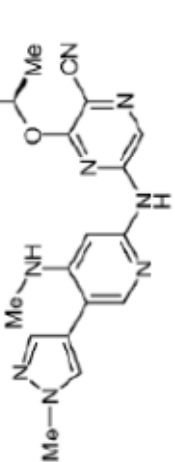
Los siguientes compuestos tienen una biodisponibilidad oral (concentración plasmática, 1 hora después de 10 mg/kg p.o.) de al menos 100 nM.

PAPC-A-01, PAPC-A-02, PAPC-A-05, PAPC-A-07, PAPC-B-02, PAPC-B-05:

- 15 Los siguientes compuestos tienen una biodisponibilidad oral (concentración plasmática, 1 hora después de 10 mg/kg p.o.) de al menos 500 nM.

PAPC-A-01, PAPC-A-02, PAPC-A-05.

A continuación se resumen los datos de dos compuestos especialmente preferidos:

Compuesto	PAPC-A-01	PAPC-A-02
Estructura		
CHK1 IC ₅₀ (µM)	0,006	0,008
Selectividad CHK1 vs. CHK2	540 veces	>1250 veces
MIA IC ₅₀ (µM)	0,0273	0,029
Bioidisponibilidad oral (concentración plasmática, 1 hora después de 10 mg/kg p.o.) (nM)	555	1214

Estudio 1 *in vivo*: PAPC-A-01 en modelo de neuroblastoma impulsado por MYCN transgénico

- 5 Los neuroblastomas espontáneos que surgen en ratones hemicígotos transgénicos para TH-MYCN (MYCN humano bajo el control del promotor de tirosina hidroxilasa de rata) se detectaron mediante palpación abdominal. Se distribuyeron aleatoria y secuencialmente animales con tumores bien establecidos (30-70 días de edad) para recibir el compuesto de ensayo (PAPC-A-01) o el vehículo hasta que se acumularon 8-9 ratones por grupo. El compuesto de ensayo (PAPC-A-01) se administró como un agente único a 100 mg/kg p.o. al día durante 7 días consecutivos

mediante sonda oral (100 µL/10 g de peso corporal) y los controles recibieron un volumen equivalente de vehículo (10 % de DMSO, 5 % de Tween 20, 85 % de solución salina). El tamaño del neuroblastoma se evaluó mediante MRI y por la masa de los tumores disecados de la cavidad abdominal al final de la terapia.

5 La ¹H MRI se realizó en un sistema de microimagen de agujero horizontal 7T Bruker (Bruker Instruments, Ettlingen, Alemania) utilizando una bobina de jaula de pájaros de 3 cm. Se indujo la anestesia con una combinación de citrato de fentanilo (0,315 mg/mL) más fluanisona (10 mg/mL) (Hypnorm, Janssen Pharmaceutical, Oxford, UK) y midazolam (5 mg/mL) (Roche, Welwyn Garden City, UK) y agua (1:1:2). La temperatura corporal del animal se mantuvo mediante un soplador de aire caliente a través del agujero del imán.

10 Se obtuvieron imágenes anatómicas coronales y transversales ponderadas en T2 a partir de veinte cortes coronales contiguos de 1 mm de espesor a través del abdomen del ratón, utilizando una rápida adquisición con una secuencia de ecos de reorientación (RAR) con 4 promedios de etapas de codificación de 128 fases en un campo de visión de 3 × 3 cm, dos ecos de 36 y 132 ms, un TR de 4,5 s y un factor RARE de 8. Después de la RMI, se dejó que los ratones se recuperaran en una estera térmica durante 24 horas. Se midieron los volúmenes de los tumores utilizando la segmentación de las regiones de interés dibujadas sobre cada corte a partir de las imágenes coronales
15 ponderadas en T2 que contienen tumores usando un software interno (ImageView, trabajando bajo IDL, ITT, Boulder, Colorado, USA). Las imágenes de RM en ratones individuales, antes del tratamiento y el día 7, mostraron regresión del tumor durante el período de tratamiento de 7 días. Véase la figura 1 y la figura 2.

El peso medio de los tumores en los ratones control al final del estudio fue de 2,1 ± 0,7 g (media ± SD) y en el grupo tratado fue de 0,3 ± 0,2 g, lo que dio como resultado una T/C de 13,4 %.

20 Estudio 2 *in vivo*: PAPC-A-01 en combinación con gemcitabina en xenoinjerto de carcinoma de colon humano HT29

Se mantuvieron ratones atímicos hembras CrTac:NCr-Foxn1nu (6-8 semanas de edad) (Charles River UK Ltd., Margate, UK) en un ambiente controlado en jaulas maximizadoras con lecho estéril, alimentos y agua disponibles *ad libitum*. Los animales pesaban 20,3 ± 2,0 g al inicio del estudio. La manipulación y todos los procedimientos experimentales se realizaron en condiciones estériles en campanas de flujo laminar de acuerdo con las directrices éticas nacionales y locales de UK Home Office.
25

Se recogieron células de carcinoma de colon HT29 de la American Type Culture Collection (ATCC, LGC Promochem, Middlessex, UK) de matraces de cultivo de tejidos y se inyectaron subcutáneamente en los flancos derechos de los ratones (3 millones de células por sitio). Una vez que se establecieron los tumores (diámetro medio de 0,55 ± 0,05 cm), se asignaron los ratones aleatoriamente a grupos de tratamiento (n = 6) para recibir (a) compuesto de ensayo (PAPC-A-01) (75 mg/kg), (b) gemcitabina (100 mg/kg), (c) una combinación (PAPC-A-01) (75 mg/kg) y gemcitabina (100 mg/kg), o (d) vehículos relevantes.
30

El hidrocloreuro de gemcitabina de grado clínico (GEMZAR, Eli Lilly, Newmarket, UK) se reconstituyó en cloruro de sodio estéril al 0,9 % y se congelaron alícuotas a -20 °C. La gemcitabina se administró por vía intravenosa una vez por semana a través de una vena lateral de la cola los días 0 (día 5 después del implante de la célula tumoral), 7 y 14. El compuesto de ensayo (PAPC-A-01) se disolvió en DMSO al 10 % y se diluyó en Tween 20 al 5 %, solución salina al 85 %. El compuesto de ensayo (PAPC-A-01) se administró por sonda oral los días 1, 2, 8, 9, 15 y 16. Los animales control recibieron ambos vehículos por la vía apropiada en los días designados. Los compuestos se administraron en un volumen de 100 µL por 10 g de peso corporal.
35

Se observaron los animales diariamente y se midieron el peso corporal y los tumores tres veces por semana. Se utilizaron dos diámetros perpendiculares del tumor para calcular los volúmenes utilizando la fórmula: $V = 4/3 \pi [(d1 + d2)/4]^3$.
40

Los valores de T/C (volúmenes de tumores tratados frente a los controles) se calcularon con respecto a los tumores de control con vehículo o frente a los tratados con gemcitabina solo, expresados como un porcentaje.

El día 24 después del inicio de la terapia, los resultados fueron como sigue:

Grupo	Volumen medio del tumor (cm ³ , media ±SEM)	T/C vs. controles con vehículo	T/C vs. gemcitabina
Controles con vehículo	1,099 ± 0,304	-	-
Gemcitabina	0,888 ± 0,188	80,8	-
PAPC-A-01	1,114 ± 0,257	101,4	-
Combinación	0,406 ± 0,066	36,9	45,7

45

La gemcitabina sola, cerca de la dosis máxima tolerada recomendada, inhibió el crecimiento del tumor aproximadamente un 20 %. El compuesto de ensayo (PAPC-A-01) solo no produjo ninguna inhibición del crecimiento. La terapia de combinación de la gemcitabina con el compuesto de ensayo (PAPC-A-01) inhibió el crecimiento del tumor un 63 % en relación con los controles, y un 54 % en relación con la gemcitabina sola.

5 Referencias

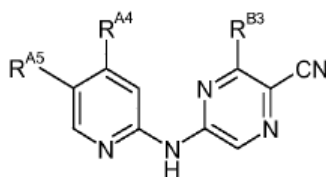
Se citan en la presente memoria una serie de publicaciones para describir más completamente la invención y el estado de la técnica a la que pertenece la invención. Citas completas para estas referencias se proporcionan a continuación.

- 10 Almeida *et al.*, 2008, "Pyrazolyl-amino-substituted pyrazines and their use for the treatment of cancer", international (PCT) patent publication number WO 2008/117050 A1 published 2 Oct. 2008.
- Balain and Vousden, 2001, "Activation and activities of the p53 tumour suppressor protein," *Br. J. Cancer*, Vol. 85, pp. 1813-1823.
- Bartek and Lukas, 2003, "Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer," *Cancer Cell*, Vol. 3, pp. 421-429.
- 15 Brooks *et al.*, 2012, "A potent chk1 inhibitor is selectively toxic in melanomas with high levels of replicative stress," *Oncogene*, doi:10.1038/onc.2012.72.
- Carson and Lois, 1995, "Cancer progression and p53," *Lancet*, Vol. 346, pp. 1009-1011.
- Cavelier *et al.*, 2009, "Constitutive activation of the DNA damage signaling pathway in acute myeloid leukemia with complex karyotype: Potential importance for checkpoint targeting therapy," *Cancer Res.*, Vol. 69, pp. 8652-8661.
- 20 Cole *et al.*, 2011 "RNAi screen of the protein kinome identifies checkpoint kinase 1 (chk1) as a therapeutic target in neuroblastoma," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 108, pp. 3336-3341.
- Collins *et al.*, 2009a, "Pyrazin-2-yl-2-yl-amine and pyrazin-2-yl-pyrimidin-4-yl-amine compounds and their use", international (PCT) patent publication number WO 2009/044162 A1 published 9 Apr. 2009.
- Collins *et al.*, 2009b, "Bicyclaryl-aryl-amine compounds and their use", international (PCT) patent publication number WO 2009/103966 A1 published 27 Aug. 2009.
- 25 Davies *et al.*, 2011, "Single-agent inhibition of chk1 is antiproliferative in human cancer cell lines *in vitro* and inhibits tumor xenograft growth *in vivo*," *Oncol. Res.*, Vol. 19, pp. 349-363.
- Di Micco *et al.*, 2006, "Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication," *Nature*, Vol. 444, pp. 638-642.
- 30 Dixon and Norbury, 2002, "Therapeutic exploitation of checkpoint defects in cancer cells lacking p53 function," *Cell Cycle*, Vol. 1, pp. 362-368.
- Ferrao *et al.*, 2011, "Efficacy of chk inhibitors as single agents in myc-driven lymphoma cells," *Oncogene*, doi:10.1038/onc.2011.358.
- 35 Greenblatt *et al.*, 1994, "Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis," *Cancer Res.*, Vol. 54, pp. 4855-4878.
- Guzi *et al.*, 2011, "Targeting the replication checkpoint using SCH 900776, a potent and functionally selective CHK1 inhibitor identified via high content screening," *Mol. Cancer Ther.*, Vol. 10, pp. 591-602.
- Höglund *et al.*, 2011, "Therapeutic Implications for the Induced Levels of Chk1 in Myc-Expressing Cancer Cells," *Clin. Cancer Res.*, Vol. 17, pp. 7067-7079.
- 40 Ioannidis *et al.*, 2009, "Discovery of pyrazol-3-ylamine pyrazines as novel JAK2 inhibitors", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, Vol. 19, pp. 6524-6528.
- Lainchbury *et al.*, 2012, "Discovery of 3-akloxyamino-5-(pyridin-2-ylamino)pyrazine-2-carbonitriles as selective, orally bioavailable CHK1 inhibitors", *J. Med. Chem.*, apparently published online on 19 Oct. 2012, dx.doi.org/10.1021/jm3012933.
- 45 Li *et al.*, 2007, "Synthesis and in-vitro biological activity of macrocyclic urea CHK1 inhibitors", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, Vol. 17, pp. 6499-6504.
- Lin *et al.*, 2005, "Macrocyclic kinase inhibitors", US patent publication number US 2005/0215556 A1 published 29 Sep. 2005.

- Liu *et al.*, 2000, "Chk1 is an essential kinase that is regulated by Atr and required for the G(2)/M DNA damage checkpoint," *Genes Dev.*, Vol. 14, pp. 1448-1459.
- Murga *et al.*, 2011, "Exploiting oncogene-induced replicative stress for the selective killing of Myc-driven tumors," *Nat. Struct. Mol. Biol.*, Vol. 18, pp. 1331-1335.
- 5 Sanchez *et al.*, 1997, "Conservation of the Chk1 checkpoint pathway in mammals: linkage of DNA damage to Cdk regulation through Cdc25," *Science*, Vol. 277, pp. 1497-1501.
- Sorensen *et al.*, 2005, "Cell-cycle checkpoint kinase Chk1 is required for mammalian homologous recombination repair," *Nat. Cell Biol.*, Vol 7, pp. 195-201.
- 10 Tao *et al.*, 2005, "Macrocyclic kinase inhibitors", international (PCT) patent publication number WO 2005/047294 A1 published 26 May 2005.
- Tao *et al.*, 2006, "Chk1 inhibitors for novel cancer treatment," *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, Vol. 6, pp. 377-388.
- 15 Tao *et al.*, 2007a, "Macrocyclic ureas as potent and selective CHK1 inhibitors: an improved synthesis, kinome profiling, structure-activity relationships, and preliminary pharmacokinetics," *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, Vol. 17, pp. 6593-6601.
- Tao *et al.*, 2007b, "Structure-based design, synthesis, and biological evaluation of potent and selective macrocyclic checkpoint kinase 1 inhibitors," *J. Med. Chem.*, Vol. 50, pp. 1514-1527.
- Walton *et al.*, 2010, "The preclinical pharmacology and therapeutic activity of the novel CHK1 inhibitor SAR-020106," *Mol. Cancer. Ther.*, Vol. 9, No. 1, pp. 89-100.
- 20 Walton *et al.*, 2012, "CCT244747 is a novel potent and selective CHK1 inhibitor with oral efficacy alone and in combination with genotoxic anticancer drugs", *Clin. Cancer Research*, Vol. 18, No. 20, pp. 5650-5661.
- Wang *et al.*, 1996, "UCN-01: a potent abrogator of G2 checkpoint function in cancer cells with disrupted p53," *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol. 8, pp. 956-965.
- 25 Weinert and Hartwell, 1989, "Control of G2 delay by the rad9 gene of *Saccharomyces cerevisiae*," *J. Cell Sci. Suppl.*, Vol. 12, pp. 145-148.
- Xiao *et al.*, 2006, "Differential roles of checkpoint kinase 1, checkpoint kinase 2, and mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 in mediating DNA damage-induced cell cycle arrest: implications for cancer therapy," *Mol. Cancer. Ther.*, Vol. 5, pp. 1935-1943.
- 30 Zachos *et al.*, 2003, "Chk1-deficient tumour cells are viable but exhibit multiple checkpoint and survival defects," *EMBO J.*, Vol. 22, pp. 713-723.
- Zhao *et al.*, 2002, "Disruption of the checkpoint kinase 1/cell division cycle 25A pathway abrogates ionizing radiation-induced S and G2 checkpoints," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 99, pp. 14795-14800.

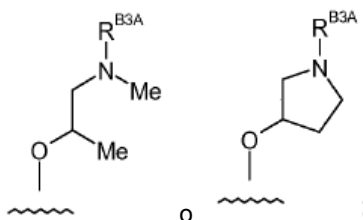
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

5 -R^{B3} es independientemente:



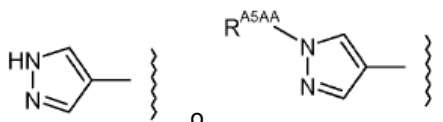
cada -R^{B3A} es independientemente -H o alquilo C₁₋₃ alifático saturado;

-R^{A4} es independientemente -NHR^{A4A}, -NR^{A4A}₂ o -OR^{A4A};

cada -R^{A4A} es independientemente alquilo C₁₋₃ alifático saturado;

10 -R^{A5} es independientemente -R^{A5A}, -R^{A5B}, -R^{A5C}, -R^{A5D}, -R^{A5E}, o -R^{A5F};

-R^{A5A} es independientemente:



-R^{A5AA} es alquilo C₁₋₃ alifático saturado;

-R^{A5B} es -CF₃;

15 -R^{A5C} es independientemente -F, -Cl, -Br o -I;

-R^{A5D} es independientemente -C≡CH, -C≡C-R^{A5DA}, o -C≡C-R^{A5DB}-OH;

-R^{A5DA} es un alquilo C₁₋₄ alifático saturado;

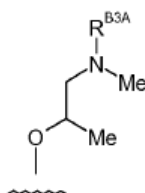
-R^{A5DB} es alquileno C₁₋₄ alifático saturado;

-R^{A5E} es independientemente cicloalquilo C₃₋₆ saturado;

20 -R^{A5F} es -C(=O)O-R^{A5FA}; y

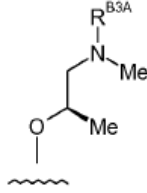
-R^{A5FA} es alquilo C₁₋₃ alifático saturado.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde -R^{B3} es:



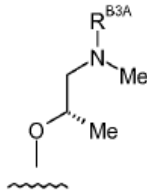
y $-R^{B3A}$ es -Me.

3. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde $-R^{B3}$ es:



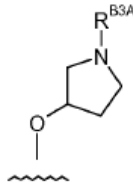
y $-R^{B3A}$ es -Me.

5 4. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde $-R^{B3}$ es:



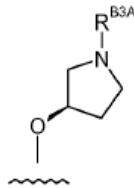
y $-R^{B3A}$ es -Me.

5. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde $-R^{B3}$ es:



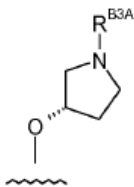
10 y $-R^{B3A}$ es H o -Me.

6. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde $-R^{B3}$ es:



y $-R^{B3A}$ es H o -Me.

7. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde $-R^{B3}$ es:



15

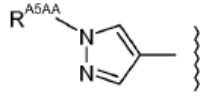
y $-R^{B3A}$ es H o -Me.

8. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde $-R^{A4}$ es independientemente $-NHR^{A4A}$ o $-NR^{A4A}_2$; y cada $-R^{A4A}$ es -Me.

9. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde $-R^{A4}$ es $-OR^{A4A}$ y $-R^{A4A}$ es -Me.

20 10. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5A}$.

11. Un compuesto según la reivindicación 10, en donde $-R^{A5A}$ es:



y $-R^{A5AA}$ es -Me.

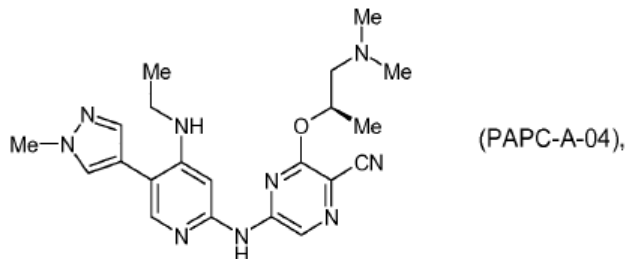
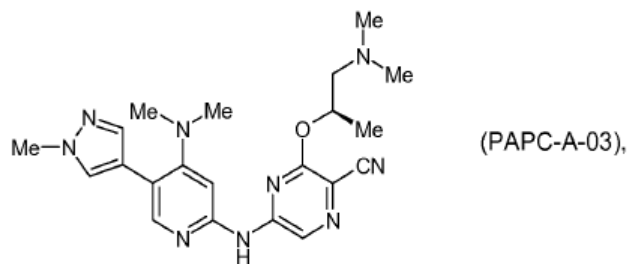
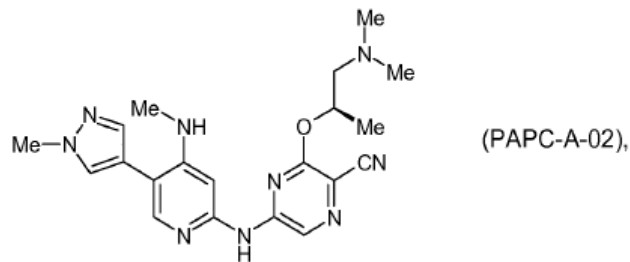
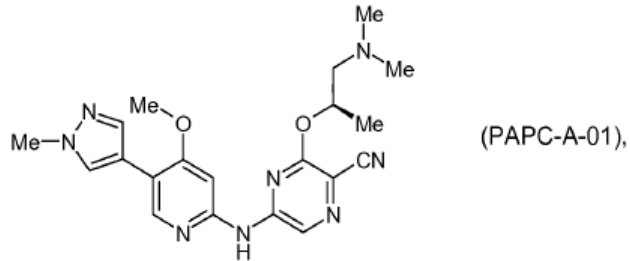
12. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5B}$.

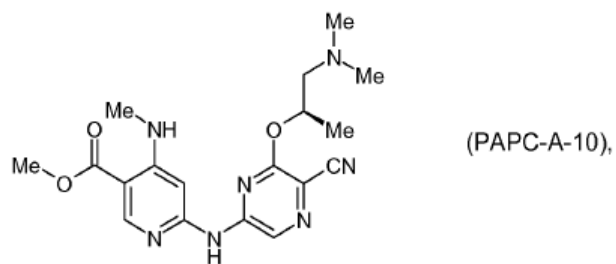
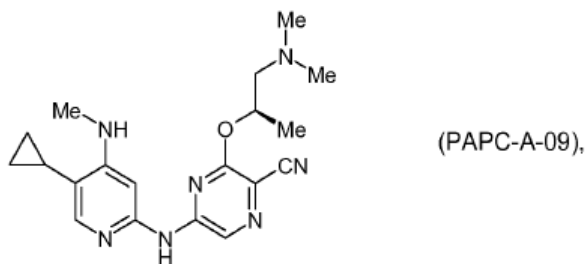
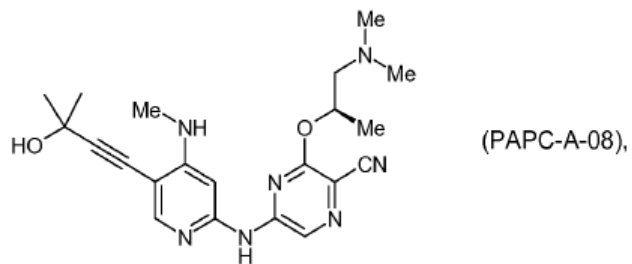
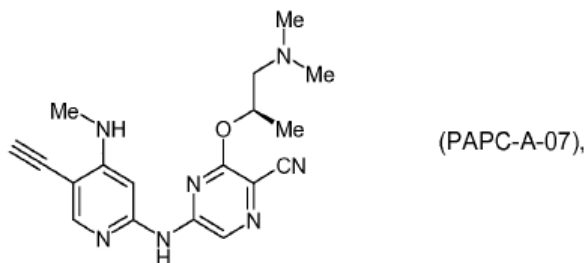
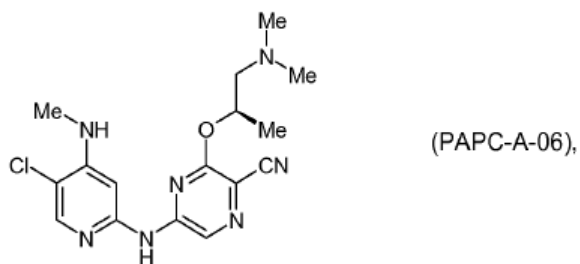
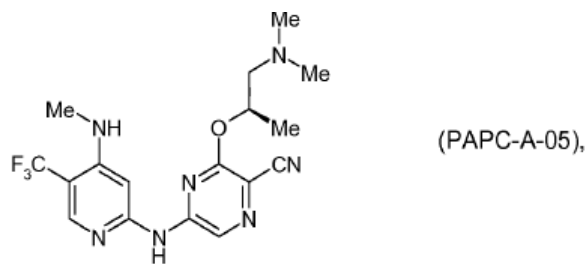
5 13. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5C}$.

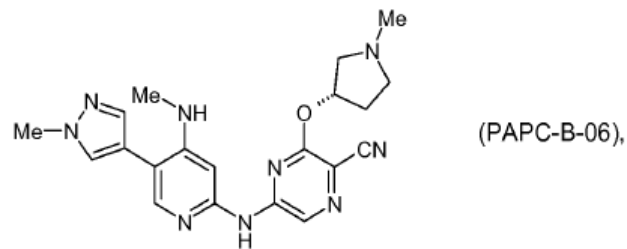
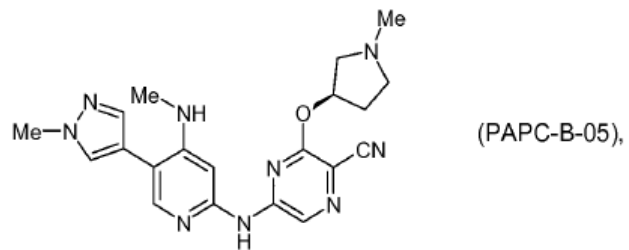
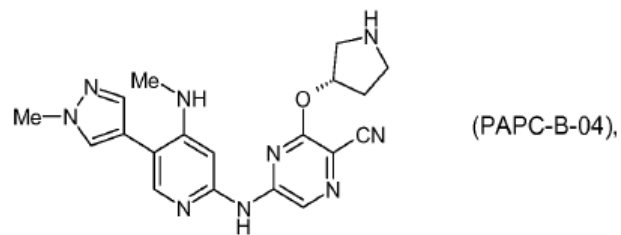
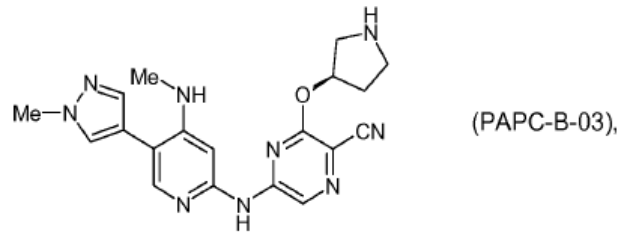
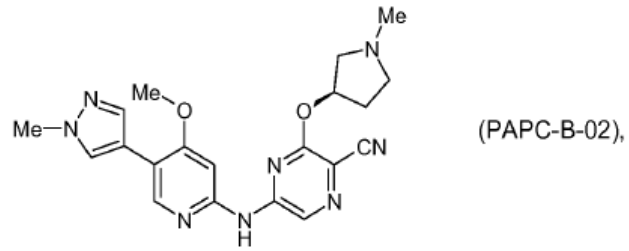
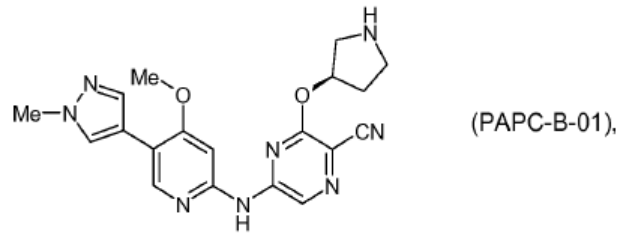
14. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5E}$.

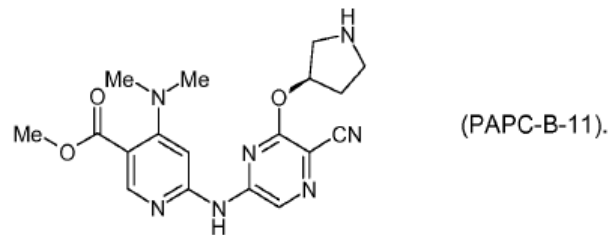
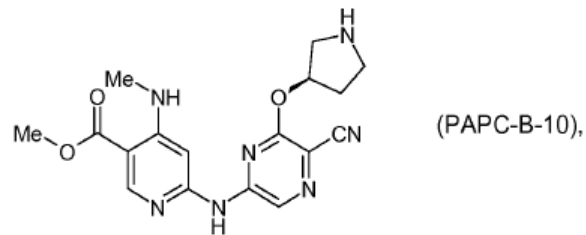
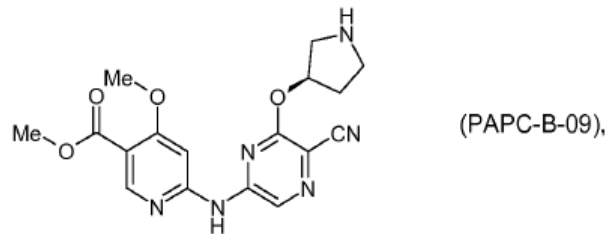
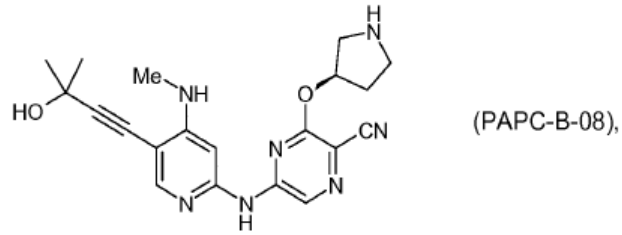
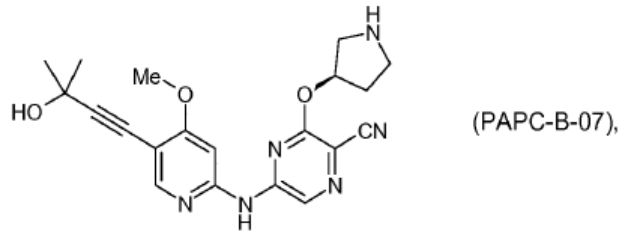
15. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde $-R^{A5}$ es $-R^{A5F}$.

16. Un compuesto según la reivindicación 1, que es uno de los compuestos de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



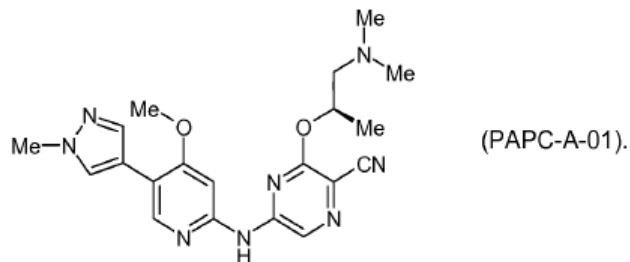






5

17. Un compuesto según la reivindicación 1, que es un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



10

18. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

19. Un método para preparar una composición farmacéutica que comprende la etapa de mezclar un compuesto

según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

20. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

21. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para uso en el tratamiento del cáncer.

5 22. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para uso en el tratamiento del cáncer de cabeza; cáncer de cuello; cáncer del sistema nervioso; cáncer cerebral; neuroblastoma; cáncer de pulmón/mediastino; cáncer de mama; cáncer de esófago; cáncer de estómago; cáncer de hígado; cáncer del tracto biliar; cáncer pancreático; cáncer de intestino delgado; cáncer de intestino grueso; cáncer colorrectal; cáncer ginecológico; cáncer genitourinario; cáncer de ovarios; cáncer de la glándula tiroides; cáncer de las glándulas
10 suprarrenales; cáncer de piel; melanoma; sarcoma óseo; sarcoma de tejidos blandos; tumor maligno pediátrico; enfermedad de Hodgkin; linfoma no Hodgkin; mieloma; leucemia; o metástasis desde un sitio primario desconocido.

23. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para uso en el tratamiento del cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de ovarios, cáncer colorrectal, melanoma, glioma o neuroblastoma.

15 24. Un compuesto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 23, en donde el tratamiento comprende además tratamiento con un inhibidor de la ADN-topoisomerasa I o II.

25. Un compuesto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 23, en donde el tratamiento comprende además tratamiento con un agente que daña el ADN.

26. Un compuesto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 23, en donde el tratamiento comprende además tratamiento con un antimetabolito o inhibidor de la timidilato sintasa (TS).

20 27. Un compuesto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 23, en donde el tratamiento comprende además tratamiento con un agente dirigido a los microtúbulos.

28. Un compuesto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 23, en donde el tratamiento comprende además tratamiento con radiación ionizante

FIGURA 1

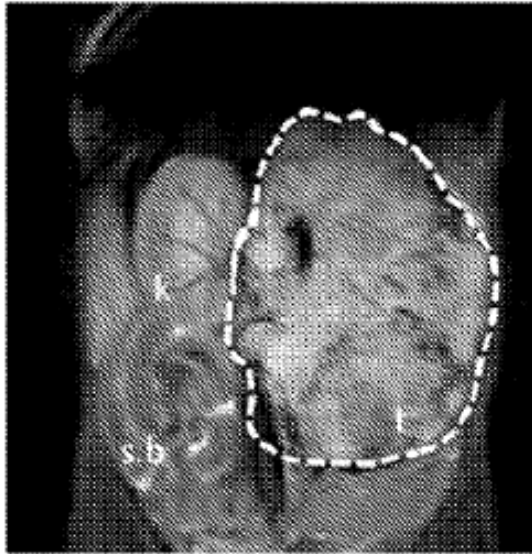


FIGURA 2

