

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 733 847**

51 Int. Cl.:

A61K 45/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.06.2015** **PCT/US2015/036137**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2015** **WO15195740**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.06.2015** **E 15750488 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2019** **EP 3157566**

54 Título: **Método para tratar cáncer usando una combinación de inhibidores de CHK1 y ATR**

30 Prioridad:

17.06.2014 US 201462013136 P

29.08.2014 US 201462043530 P

31.10.2014 US 201462073082 P

14.05.2015 US 201562161438 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.12.2019

73 Titular/es:

VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
(100.0%)

50 Northern Avenue, 15th Floor
Boston, MA 02210, US

72 Inventor/es:

HELLEDAY, THOMAS y
SANJIV, KUMAR

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 733 847 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

Método para tratar cáncer usando una combinación de inhibidores de CHK1 y ATR

5 **Antecedentes de la invención**

ATR ("Relacionado con ATM y Rad3") es un mediador clave de las respuestas celulares a una estructura de daño de ADN que se caracteriza por trectos de ADN monocatenario recubierto con proteína de replicación A (RPA). El ADN monocatenario recubierto con RPA surge comúnmente como resultado de estrés de replicación, que ocurre cuando una célula intenta replicar ADN a través de lesiones de daño de ADN no resueltas. Si no se repara el estrés de replicación, pueden producirse roturas letales de dos cadenas o mutaciones del ADN perjudiciales. ATR junto con sus sustratos coordina múltiples funciones celulares en respuesta a estrés de replicación incluyendo control del ciclo celular, replicación del ADN y la reparación del daño del ADN. Chk1 es un sustrato principal para ATR.

Las células cancerosas suelen tener altos niveles de estrés replicativo de fondo que pueden surgir de expresión de oncogén, hipoxia o defectos en otras vías de reparación por ejemplo reparación por escisión de base. Esto puede llevar a una dependencia de ATR para sobrevivir en algunas células cancerosas. Además, las células requieren ATR para resolver el estrés de replicación después de tratamiento con muchos fármacos que dañan el ADN y radiación ionizante, o de tratamiento con agentes que bloquean otras vías de reparación tales como los inhibidores de PARP, que bloquean la reparación por escisión de base.

Se ha demostrado que los inhibidores de la ruta de señalización de ATR reducen la supervivencia celular en algunas células cancerosas que expresan oncogenes tales como Ciclina E o Myc (ver Schoppy *et al.*, *J Clin Invest*, 2012, vol. 122, pág. 241-52); están en un ambiente hipóxico (véase Pires *et al.*, *Br J Cancer*, 2012, vol. 107, pág. 291-99); o que portan defectos en otras proteínas reparadoras de ADN tales como ERCC1 (Mohni *et al.*, *Cancer Res*, 2014, vol. 74, pág. 2835-45). Además, se ha demostrado que los inhibidores de la vía ATR sensibilizan algunas células cancerosas a efectos citotóxicos de múltiples fármacos que dañan el ADN y radiación ionizante, o a inhibidores de otras vías de reparación, por ejemplo, inhibidores de PARP. Por el contrario, se ha demostrado que las células normales toleran la inhibición de ATR, como agentes individuales o cuando se usan en combinación con otros agentes. Esto se atribuye a la activación de la señalización de reparación de ADN compensatoria en células normales, que a menudo no está disponible para células cancerosas.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a métodos para tratar cáncer en un paciente mediante la administración de un compuesto útil como inhibidor de proteína quinasa ATR en combinación con un compuesto útil como inhibidor de proteína quinasa Chk1. La combinación mencionada mostró un sorprendente efecto sinérgico en el tratamiento de cáncer a pesar de que las proteína quinasas seleccionadas se encuentran dentro de la misma vía biológica. Además, la presente invención también se refiere a métodos para tratar cáncer administrando un compuesto útil como inhibidor de la proteína quinasa ATR; administrar un compuesto útil como inhibidor de la proteína quinasa Chk1; así como administrar uno o más agentes que dañan el ADN a un paciente.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: gráfico que muestra la inducción de γ H2AX pan nuclear en una línea celular U2OS tratada sola y en combinación con AZD7762 y VE-821.

Figura 2a: gráfico que muestra la supervivencia clonogénica de un panel de líneas celulares tratadas solas y en combinación con AZD7762 y VE-821.

Figura 2b: gráfico que muestra la supervivencia clonogénica de un panel de líneas celulares tratadas con VE-821.

Figura 2c: gráfico que evalúa la supervivencia clonogénica de un panel de células que sobreexpresan el oncogén cMYC después del tratamiento solo y en combinación con AZD7762 y VE-821.

Figura 2d: evaluación gráfica supervivencia clonogénica de un panel de células con p53 y RB inactivos, y la sobreexpresión del oncogén H-RAS después de tratamiento solo y en combinación con AZD7762 y VE-821.

Figura 3a: gráfico que muestra el volumen del tumor de ratones xenoinjertos MX1 tratados solos y en combinación con AZD7762 y VE-822.

Figura 3b: gráfico que muestra una curva de supervivencia para ratones xenoinjertos MX1 tratados solos y en combinación con AZD7762 y VE-822.

Figura 4a: gráfico que muestra el volumen del tumor de ratones xenoinjertos con H460 tratados solos y en combinación con AZD7762 y VE-822.

Figura 4b: gráfico que muestra una curva de supervivencia para ratones xenoinjertados con H460 tratados solos y en combinación con AZD7762 y VE-822.

Figura 5: gráfico que muestra los niveles de Caspasa-3 escindida en células U2OS tratadas solas y en combinación con AZD7762 y VE-821.

Figura 6a: gráfico que muestra el impacto de la inhibición de Chk1 y la inhibición de ATR en los niveles de daño del ADN en las células cancerosas U2OS mediante la medición de la acumulación de γ H2AX pan-nuclear.

Figura 6b: gráfico que muestra el impacto de la inhibición de Chk1 y la inhibición de ATR en los niveles de daño del ADN en las células de fibroblastos normales VH-10 mediante la medición de acumulación de γ H2AX pannuclear.

Figura 6c: gráfico que muestra el impacto de la inhibición de Chk1 y la inhibición de ATR en los niveles de daño del ADN en las células cancerosas U2OS mediante la medición de la acumulación de γ H2AX pan-nuclear.

Figura 6d: gráfico que muestra el impacto de la inhibición de Chk1 y la inhibición de ATR en los niveles de daño del ADN en células cancerosas U2OS utilizando un ensayo de cometa alcalino.

Figura 7a: gráfico que muestra los niveles de ADNmc en células cancerosas U2OS después del tratamiento con un inhibidor de Chk1 y un inhibidor de ATR, solo y en combinación.

Figura 7b: gráfico que muestra los niveles de ADNmc en células de fibroblastos normales VH-10 después del tratamiento con un inhibidor de Chk1 y un inhibidor de ATR, solo y en combinación.

Figura 8a: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células cancerosas U2OS después del tratamiento de combinación con un inhibidor de Chk1 y un inhibidor de ATR.

Figura 8b: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células de fibroblastos normales VH-10 después del tratamiento de combinación con un inhibidor de Chk1 y un inhibidor de ATR.

Figura 8c: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células cancerosas H460 después del tratamiento de combinación con un inhibidor de Chk1 y un inhibidor de ATR.

Figura 8d: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células cancerosas MX-1 después del tratamiento de combinación con un inhibidor de Chk1 y un inhibidor de ATR.

Figura 8e: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células cancerosas HCT-116 después del tratamiento de combinación con un inhibidor de Chk1 y un inhibidor de ATR.

Figura 8f: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células cancerosas MCF7 después del tratamiento de combinación con un inhibidor de Chk1 y un inhibidor de ATR.

Figura 8 g: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células endoteliales normales HUVAC después del tratamiento de combinación con un inhibidor de Chk1 y un inhibidor de ATR.

Figura 8h: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células cancerosas HL60 después del tratamiento de combinación con un inhibidor de Chk1 y un inhibidor de ATR.

Figura 9: gráfico que muestra el impacto de la inhibición de Chk1 y la inhibición de ATR en los niveles de daño del ADN en las células de fibroblastos normales VH-10 midiendo la acumulación de γ H2AX pan-nuclear y midiendo la acumulación de focos discretos de γ H2AX y 53BP1.

Figura 10a: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células cancerosas HT-29 después del tratamiento de combinación con el inhibidor de ATR VE-822 y el inhibidor de Chk1 AZD-7762.

Figura 10b: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células cancerosas HT-29 después del tratamiento de combinación con el inhibidor de ATR VE-822 y el inhibidor de Chk1 LY-2603618.

Figura 10c: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células cancerosas HT-29 después del tratamiento de combinación con el inhibidor de ATR VE-822 y el inhibidor de Chk1 PF-477736.

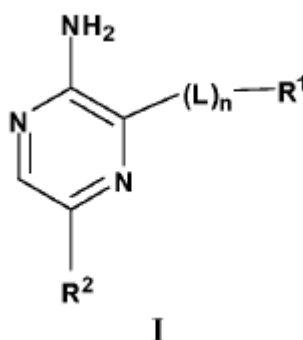
Figura 10d: gráfico que muestra la viabilidad celular de las células cancerosas HT-29 después del tratamiento de combinación con el inhibidor de ATR VE-822 y el inhibidor de Chk1 SCH-900776.

Descripción detallada de la invención

Uno o más aspectos de la presente invención proporcionan un método para tratar cáncer en un paciente que comprende administrar un primer compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y administrar un segundo compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1. Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para tratar cáncer en un paciente que comprende administrar un primer compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; administrar un segundo compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1; y administrar uno o más agentes terapéuticos adicionales.

Compuestos

En otro aspecto de la presente invención, el compuesto que inhibe proteína quinasa ATR está representado por la Fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 es un anillo de arilo o heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre, en donde dicho anillo de arilo o heteroarilo monocíclico está opcionalmente fusionado con otro anillo para formar un anillo de arilo o heteroarilo bicíclico de 8-10 miembros que tiene 0-6 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre; cada R^1 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos J^1 ;

R^2 es un anillo de arilo o heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre, en donde dicho anillo de arilo o heteroarilo monocíclico está opcionalmente fusionado con otro anillo para formar un anillo de arilo o heteroarilo bicíclico de 8-10 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre; cada R^2 está opcionalmente sustituido con 1-5 grupos J^2 ;

L es $-C(O)NH-$ o $-C(O)N(\text{alquilo } C_{1-6})-$;

n es 0 o 1;

cada J^1 y J^2 es independientemente halo, $-CN$, $-NO_2$, $-V^1-R$, o $-(V^2)_m-Q$;

V^1 es una cadena alifática C_{1-10} en donde 0-3 unidades de metileno están reemplazadas opcional e independientemente con O, NR'' , S, $C(O)$, $S(O)$, o $S(O)_2$; V^1 está opcionalmente sustituido con 1-6 apariciones de J^{V1} ;

V^2 es una cadena alifática C_{1-10} en donde 0-3 unidades de metileno están reemplazadas opcional e independientemente con O, NR'' , S, $C(O)$, $S(O)$, o $S(O)_2$; V^2 está opcionalmente sustituido con 1-6 apariciones de J^{V2} ;

m es 0 o 1;

Q es un anillo monocíclico saturado o insaturado de 3-8 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo bicíclico saturado o insaturado de 9-10 miembros que tiene 0-6 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre; cada Q está opcionalmente sustituido con 0-5 J^Q ;

cada J^{V1} o J^{V2} es independientemente halógeno, CN, NH_2 , NO_2 , alifático C_{1-4} , $NH(\text{alifático } C_{1-4})$, $N(\text{alifático } C_{1-4})_2$, OH, $O(\text{alifático } C_{1-4})$, CO_2H , $CO_2(\text{alifático } C_{1-4})$, $C(O)NH_2$, $C(O)NH(\text{alifático } C_{1-4})$, $C(O)N(\text{alifático } C_{1-4})_2$, $NHCO(\text{alifático } C_{1-4})$, $N(\text{alifático } C_{1-4})CO(\text{alifático } C_{1-4})$, $SO_2(\text{alifático } C_{1-4})$, $NHSO_2(\text{alifático } C_{1-4})$, o $N(\text{alifático } C_{1-4})SO_2(\text{alifático } C_{1-4})$, en donde dicho alifático C_{1-4} está opcionalmente sustituido con halo;

R es H o alifático C_{1-6} en donde dicho alifático C_{1-6} está opcionalmente sustituido con 1-4 apariciones de NH_2 , $NH(\text{alifático } C_{1-4})$, $N(\text{alifático } C_{1-4})_2$, halógeno, alifático C_{1-4} , OH, $O(\text{alifático } C_{1-4})$, NO_2 , CN, CO_2H , $CO_2(\text{alifático } C_{1-4})$, $CO(\text{alifático } C_{1-4})$, $O(\text{haloalifático } C_{1-4})$, o haloalifático C_{1-4} ;

cada J^Q es independientemente halo, oxo, CN, NO_2 , XR, o $-(X)_p-Q^4$;

p es 0 o 1;

X es alifático C_{1-10} ; en donde 1-3 unidades de metileno de dicho alifático C_{1-6} están opcionalmente reemplazadas con $-NR$, $-O-$, $-S-$, $C(O)$, $S(O)_2$, o $S(O)$; en donde X está opcional e independientemente sustituido con 1-4 apariciones de NH_2 , $NH(\text{alifático } C_{1-4})$, $N(\text{alifático } C_{1-4})_2$, halógeno, alifático C_{1-4} , OH, $O(\text{alifático } C_{1-4})$, NO_2 , CN, $CO(\text{alifático } C_{1-4})$, CO_2H , $CO_2(\text{alifático } C_{1-4})$, $C(O)NH_2$, $C(O)NH(\text{alifático } C_{1-4})$, $C(O)N(\text{alifático } C_{1-4})_2$, $SO(\text{alifático } C_{1-4})$, en donde dicho alifático C_{1-4} está opcionalmente sustituido con halo;

C_{1-4}), SO_2 (alifático C_{1-4}), SO_2NH (alifático C_{1-4}), SO_2N (alifático C_{1-4})₂, $NHC(O)$ (alifático C_{1-4}), N (alifático C_{1-4}) $C(O)$ (alifático C_{1-4}), en donde dicho alifático C_{1-4} está opcionalmente sustituido con 1-3 apariciones de halo;

Q^4 es un anillo monocíclico saturado o insaturado de 3-8 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre, o un anillo bicíclico saturado o insaturado de 8-10 miembros que tiene de 0-6 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno o azufre; cada Q^4 está opcionalmente sustituido con 1-5 J^{Q4} ;

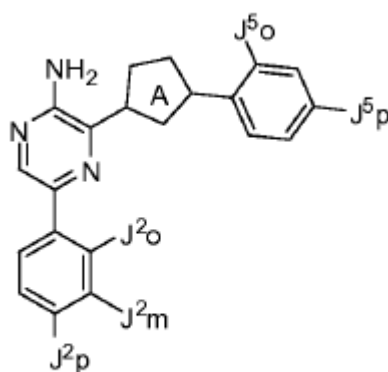
J^{Q4} es halo, CN, o alquilo C_{1-4} en donde hasta 2 unidades de metileno están reemplazadas opcionalmente con O, NR^* , S, $C(O)$, $S(O)$, o $S(O)_2$;

R es H o alquilo C_{1-4} en el que dicho alquilo C_{1-4} está opcionalmente sustituido con 1-4 halo;

R' , R'' , y R^* son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-4} , o está ausente; en donde dicho alquilo C_{1-4} está opcionalmente sustituido con 1-4 halo.

En algunas realizaciones, L es $-C(O)NH-$; y R^1 y R^2 son fenilo.

En otra realización, el compuesto que inhibe quinasa ATR está representado por la Fórmula I-a:



I-a

en donde

20

el Anillo A es o ;
 J^{5o} es H, F, Cl, alifático C_{1-4} , O(alifático C_{1-3}), u OH;

;
 J^{5p} es J^{5p2} ;

J^{5p1} es H, alifático C_{1-4} , oxetaniolo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo; en donde J^{5p1} está opcionalmente sustituido con 1-2 apariciones de OH o halo;

25

J^{5p2} es H, metilo, etilo, CH_2F , CF_3 , o CH_2OH ;

J^{2o} es H, CN, o SO_2CH_3 ;

J^{2m} es H, F, Cl o metilo;

J^{2p} es $-SO_2$ (alquilo C_{1-6}), $-SO_2$ (cicloalquilo C_{3-6}), $-SO_2$ (heterociclilo de 4-6 miembros), $-SO_2$ (alquilo C_{1-4}) N (alquilo C_{1-4})₂ o $-SO_2$ (alquilo C_{1-4})-(heterociclilo de 4-6 miembros), en donde dicho heterociclilo contiene 1 heteroátomo seleccionado entre oxígeno, nitrógeno o azufre; y en el que dicho J^{2p} está opcionalmente sustituido con 1-3 apariciones halo, OH, u O (alquilo C_{1-4}).

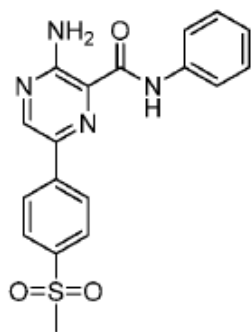
30

En algunas realizaciones, el Anillo A es .

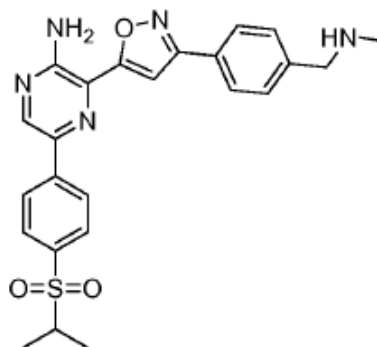
35

En otras realizaciones, el Anillo A es .

En algunas realizaciones, el compuesto que inhibe quinasa ATR se selecciona de:

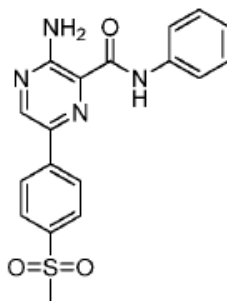


VE-821



VE-822.

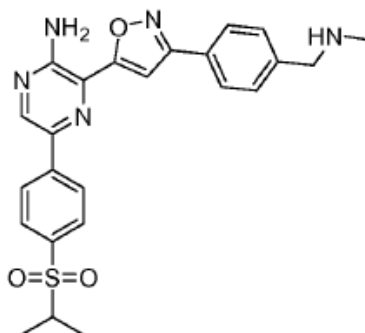
En determinadas realizaciones, el compuesto que inhibe quinasa ATR es:



VE-821.

5

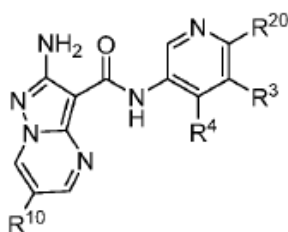
En otra realización, el compuesto que inhibe quinasa ATR es:



VE-822.

10

En otro aspecto de la presente invención, el compuesto que inhibe proteína quinasa ATR está representado por la Fórmula II:



II

o una sal farmacéuticamente o derivado del mismo, en donde:

R¹⁰ se selecciona independientemente entre fluoro, cloro, o -C(J¹⁰)₂CN;

J¹⁰ se selecciona independientemente entre H o alquilo C₁₋₂; o

dos apariciones de J¹⁰, junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo carbocíclico

opcionalmente sustituido de 3-4 miembros;

R²⁰ se selecciona independientemente entre H; halo; -CN; NH₂; un alquilo C₁₋₂ opcionalmente sustituido con 0-3 apariciones de fluoro; o una cadena alifática C₁₋₃ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z;

R³ se selecciona independientemente entre H; halo; alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido con 1-3 apariciones de halo; cicloalquilo C₃₋₄; -CN; o una cadena alifática C₁₋₃ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z;

R⁴ se selecciona independientemente entre Q¹ o una cadena alifática C₁₋₁₀ en donde hasta cuatro unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z; cada R⁴ está opcionalmente sustituido con 0-5 apariciones de J^{Q1}; o

R³ y R⁴, tomados junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo aromático o no aromático de 5-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; el anillo formado por R³ y R⁴ está opcionalmente sustituido con 0-3 apariciones de J^Z;

Q¹ se selecciona independientemente entre un anillo monocíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 3-7 miembros, teniendo el anillo de 3-7 miembros 0-3 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; o un anillo bicíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 7-12 miembros que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre;

J^Z se selecciona independientemente entre alifático C₁₋₆; =O, halo, u →O;

J^{Q1} se selecciona independientemente entre -CN; halo; =O; Q²; o una cadena alifática C₁₋₈ en donde hasta tres unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z; cada aparición de J^{Q1} está opcionalmente sustituida con 0-3 apariciones de J^R; o

dos apariciones de J^{Q1} en el mismo átomo, tomadas junto con el átomo al que están unidas, forman un anillo de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; en donde el anillo formado por dos apariciones de J^{Q1} está opcionalmente sustituido con 0-3 apariciones de J^X; o

dos apariciones de J^{Q1}, junto con Q¹, forman un sistema anular con puente saturado o parcialmente insaturado de 6-10 miembros;

Q² se selecciona independientemente entre un anillo monocíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 3-7 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; o un anillo bicíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 7-12 miembros que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre;

J^R se selecciona independientemente entre -CN; halo; =O; →O; Q³; o una cadena alifática C₁₋₆ en donde hasta tres unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z; cada J^R está opcionalmente sustituido con 0-3 apariciones de J^T; o

dos apariciones de J^R en el mismo átomo, junto con el átomo al que están unidas, forman un anillo de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; en donde el anillo formado por dos apariciones de J^R está opcionalmente sustituido con 0-3 apariciones de J^X; o

dos apariciones de J^R, junto con Q², forman un sistema anular con puente saturado o parcialmente insaturado de 6-10 miembros;

Q³ es un anillo monocíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 3-7 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; o un anillo bicíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 7-12 miembros que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre;

J^X se selecciona independientemente entre -CN; =O; halo; o una cadena alifática C₁₋₄ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z;

J^T se selecciona independientemente entre halo, -CN; →O; =O; -OH; una cadena alifática C₁₋₆ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z; o un anillo no aromático de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; cada aparición de J^T está opcionalmente sustituida con 0-3 apariciones de J^M; o

dos apariciones de J^T en el mismo átomo, junto con el átomo al que están unidas, forman un anillo de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; o dos apariciones de J^T, junto con Q³, forman un sistema anular con puente saturado o parcialmente insaturado de 6-10 miembros;

J^M se selecciona independientemente entre halo o alifático C₁₋₆;

J es H o Cl;

z es 0, 1 o 2; y

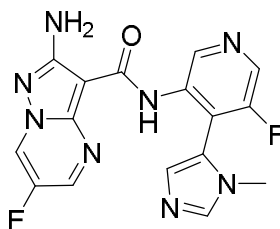
R^a se selecciona independientemente entre H o alifático C₁₋₄.

En algunas realizaciones, R¹⁰ y R³ son fluoro.

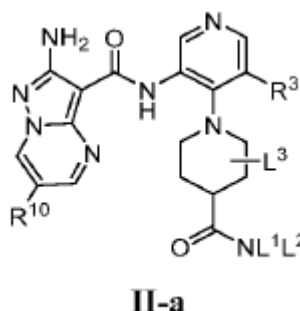
En otras realizaciones, R⁴ es Q¹.

En otras realizaciones más, Q¹ se selecciona independientemente entre piperidinilo e imidazolilo.

En otra realización más, el compuesto que inhibe ATR está representado por la estructura:



En otra realización, el compuesto que inhibe ATR está representado por la Fórmula II-a:



o una sal o profármaco del mismo farmacéuticamente aceptable, en donde:

R¹⁰ se selecciona independientemente entre fluoro, cloro, o -C(J¹⁰)₂CN;

J¹⁰ se selecciona independientemente entre H o alquilo C₁₋₂; o

dos apariciones de J¹, junto con el átomo de carbono al que están unidas, forman un anillo carbocíclico de 3-4 miembros opcionalmente sustituido;

R³ se selecciona independientemente entre H; cloro; fluoro; alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido con 1-3 apariciones de halo; cicloalquilo C₃₋₄; -CN; o una cadena alifática C₁₋₃ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z;

L¹ es H; un anillo aromático o no aromático de 3-7 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; o una cadena alifática C₁₋₆ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z; cada L¹ está opcionalmente sustituido con alifático C₁₋₄; -CN; halo; -OH; o un anillo no aromático de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre;

L² es H; un anillo aromático o no aromático de 3-7 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; o una cadena alifática C₁₋₆ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z; cada L² está opcionalmente sustituido con alifático C₁₋₄; -CN; halo; -OH; o un anillo no aromático de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; o

L¹ y L², junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un Anillo D; el Anillo D está opcionalmente sustituido con 0-5 apariciones de J^G;

L³ es H; alifático C₁₋₃; o CN;

el Anillo D se selecciona independientemente entre un anillo de heterociclilo de 3-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; o un anillo bicíclico completamente saturado o parcialmente insaturado de 7-12 miembros que tiene 1-5 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre;

J^G se selecciona independientemente entre halo; -CN; -N(R^o)₂; →O; un carbociclilo de 3-6 miembros; un heterociclilo de 3-6 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno de oxígeno, o azufre; o una cadena de alquilo C₁₋₄ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena de alquilo están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z; cada J^G está opcionalmente sustituido con 0-2 apariciones de J^K.

dos apariciones de J^G en el mismo átomo, junto con el átomo al que están unidas, forman un anillo de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre; o

dos apariciones de J^G, junto con el Anillo D, forman un sistema anular con puente saturado o parcialmente insaturado de 6-10 miembros;

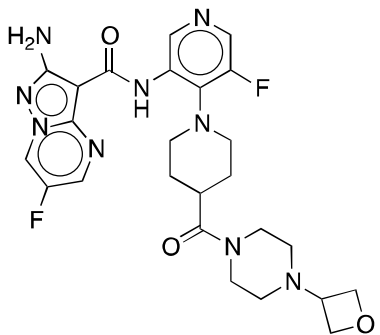
J^K es un anillo aromático o no aromático de 3-7 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre;

z es 0, 1 o 2; y

R^a y R^o son H o alquilo C₁₋₄.

En otra realización, R¹ y R³ son fluoro.

- 5 En otras realizaciones más, el compuesto que inhibe ATR está representado por la estructura:



- 10 En otra realización más, el compuesto se selecciona entre un compuesto descrito en los documentos WO 2010/071837 o WO 2014/089379.

En otra realización, el compuesto que inhibe quinasa Chk1 se selecciona independientemente entre AZD7762, LY2603618, MK-8776, CHIR-124, y PF-477736. El proceso para preparar los inhibidores de Chk1 es conocido por los expertos en la técnica.

- 15 En algunas realizaciones, las variables son las representadas en los compuestos de la divulgación incluyendo compuestos en las tablas de este documento.

- 20 Para los fines de esta solicitud, se entenderá que en los términos realización, ejemplo, y aspecto se usan indistintamente.

- 25 Para los fines de esta solicitud, se entenderá que cuando dos apariciones de J^{Q1}, junto con Q¹, forman un sistema anular con puente, las dos apariciones de J^{Q1} están unidas a átomos separados de Q¹. Además, cuando dos apariciones de J^R, junto con Q², forman un sistema anular con puente, las dos apariciones de J^R están unidas a átomos separados de Q². Además, cuando dos apariciones de J^T, junto con Q³, forman un sistema anular con puente, las dos apariciones de J^T están unidas a átomos separados de Q³. Finalmente, cuando dos apariciones de J^G, junto con el Anillo D, forman un sistema anular con puente, las dos apariciones de J^G están unidas a átomos separados del Anillo D.

- 30 Para los fines de esta solicitud, se entenderá que los términos ATR, quinasa ATR y proteína quinasa ATR se usan indistintamente. De forma análoga, los términos Chk1, quinasa Chk1 y proteína quinasa Chk1 se usan indistintamente.

Los expertos en la materia entenderán que la flecha en →O representa un enlace dativo.

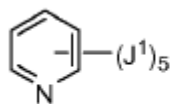
- 35 Los compuestos de esta invención incluyen los descritos en el presente documento generalmente y además se ilustran mediante clases, subclases y especies divulgadas en el presente documento. Tal como se utiliza en el presente documento, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se indique lo contrario. Para los fines de la presente invención, los elementos químicos se identifican según la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75^a Ed. Además, Los principios generales de la química orgánica se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y "March's Advanced Organic Chemistry", 5^a Ed., Ed.: Smith, M. B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001, cuyos contenidos al completo se incorporan en el presente documento por referencia.

- 45 Como se describe en el presente documento, un intervalo de números especificado de átomos incluye cualquier número entero en el mismo. Por ejemplo, un grupo que tiene 1-4 átomos podría tener 1, 2, 3 o 4 átomos.

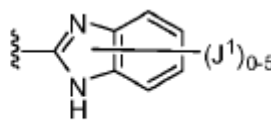
- 50 Como se describe en el presente documento, los compuestos de la invención pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, tales como se ilustran generalmente en el presente documento o como se ejemplifican mediante clases particulares, subclases y especies concretas de la invención. Se entenderá que la frase "opcionalmente sustituido" se usa de forma intercambiable con la frase "sustituido o sin sustituir". En general, el término "sustituido", esté precedido o no por el término "opcionalmente", se refiere a la sustitución de radicales hidrógeno en una estructura dada con el radical de un sustituyente especificado. A menos que se indique otra cosa, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo, y cuando más de una posición en cualquier estructura dada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado entre un grupo

específico, el sustituyente puede ser el mismo o diferente en cada posición. Las combinaciones de sustituyentes previstas por la presente invención son preferentemente aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables o químicamente factibles.

A menos que se indique otra cosa, un sustituyente conectado por un enlace extraído del centro de un anillo significa que el sustituyente puede estar unido a cualquier posición en el anillo. En el ejemplo i a continuación, por ejemplo, J¹ puede unirse a cualquier posición en el anillo piridilo. Para anillos bicíclicos, un enlace dibujado a través de ambos anillos indica que el sustituyente se puede unir desde cualquier posición del anillo bicíclico. En el ejemplo ii posterior, por ejemplo, J¹ puede unirse al anillo de 5 miembros (en el átomo de nitrógeno, por ejemplo) y al anillo de 6 miembros.



i



ii

El término "estable", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones que permiten su producción, detección, recuperación, purificación y uso para uno o más de los propósitos divulgados en el presente documento. En algunas realizaciones, un compuesto estable o un compuesto químicamente factible es uno que no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40 °C o menos, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana.

El término "enlace dativo", tal como se utiliza en el presente documento, se define como el enlace de coordinación formado en la interacción entre especies moleculares, uno de los cuales sirve como donador y el otro como aceptor del par de electrones que se comparte en el complejo formado.

El término "alifático" o "grupo alifático", tal como se utiliza en el presente documento, significa una cadena lineal (es decir, no ramificada), ramificada o cíclica, cadena de hidrocarburo sustituido o sin sustituir que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, que tiene un punto único de unión al resto de la molécula.

A menos que se especifique de otro modo, los grupos alifáticos contienen 1-20 átomos de carbono alifáticos. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-10 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-8 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones más, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono alifáticos, y aún en otras realizaciones los grupos alifáticos contienen de 1-4 átomos de carbono alifáticos. Los grupos alifáticos pueden ser grupos alquilo, alqueno o alquino sustituidos o sin sustituir, lineales o ramificados. Los ejemplos específicos incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, isopropilo, n-propilo, sec-butilo, vinilo, n-butenilo, etinilo, y *tert*-butilo. Los grupos alifáticos también pueden ser cíclicos, o tener una combinación de grupos lineales o ramificados y cíclicos. Ejemplos de tales tipos de grupos alifáticos incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, -CH₂-ciclopropilo, CH₂CH₂CH(CH₃)-ciclohexilo.

El término "cicloalifático" (o "carbociclo" o "carbociclilo") se refiere a un hidrocarburo monocíclico C₃-C₈ o hidrocarburo bicíclico C₈-C₁₂ que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático, que tiene un único punto de unión al resto de la molécula en el que cualquier anillo individual en dicho sistema de anillo bicíclico tiene 3-7 miembros. Los ejemplos de grupos cicloalifáticos incluyen, pero sin limitación, grupos cicloalquilo y cicloalqueno. Los ejemplos específicos incluyen, pero sin limitación, ciclohexilo, ciclopropenilo y ciclobutilo.

La expresión "heterociclo", "heterociclilo", o "heterocíclico" como se usa en este documento significa sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos tricíclicos no aromáticos en donde uno o más miembros del anillo son un heteroátomo seleccionado independientemente. En algunas realizaciones, el grupo "heterociclo", "heterociclilo" o "heterocíclico" tiene de tres a catorce miembros del anillo en donde uno o más miembros del anillo es un heteroátomo seleccionado independientemente del oxígeno, azufre, nitrógeno o fósforo, y cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo.

Los ejemplos de heterociclos incluyen, pero sin limitación, 3-1H-benzoimidazol-2-ona, 3-(1-alquil)-benzoimidazol-2-ona, 2-tetrahidrofuranilo, 3-tetrahidrofuranilo, 2-tetrahidrotiofenilo, 3-tetrahidrotiofenilo, 2-morfolino, 3-morfolino, 4-morfolino, 2-tiomorfolino, 3-tiomorfolino, 4-tiomorfolino, 1-pirrolidinilo, 2-pirrolidinilo, 3-pirrolidinilo, 1-tetrahidropiperazinilo, 2-tetrahidropiperazinilo, 3-tetrahidropiperazinilo, 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 1-pirazolinilo, 3-pirazolinilo, 4-pirazolinilo, 5-pirazolinilo, 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-piperidinilo, 2-tiazolidinilo, 3-tiazolidinilo, 4-tiazolidinilo, 1-imidazolidinilo, 2-imidazolidinilo, 4-imidazolidinilo, 5-imidazolidinilo, indolinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, benzotiolano, benzoditiano y 1,3-dihidro-imidazol-2-ona.

Grupos cíclicos, (por ejemplo, cicloalifáticos y heterociclos), pueden condensarse linealmente, por puentes o espirocíclicos.

El término "heteroátomo" significa uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio (incluyendo, cualquier forma oxidada del nitrógeno, azufre, fósforo o silicio; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico o; un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico, por ejemplo N (como en 3,4-dihidro-2*H*-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o NR⁺ (como en pirrolidinilo N sustituido)).

El término "insaturado", tal como se utiliza en el presente documento, significa que un resto tiene una o más unidades de insaturación. Como lo sabría un experto en la materia, los grupos insaturados pueden estar parcialmente insaturados o completamente insaturados. Ejemplos de grupos parcialmente insaturados incluyen, pero sin limitación, buteno, ciclohexeno y tetrahidropiridina. Los grupos totalmente insaturados pueden ser aromáticos, anti-aromáticos o no aromáticos. Ejemplos de grupos totalmente insaturados incluyen, pero sin limitación, fenilo, ciclooctatetraeno, piridilo, tienilo y 1-metilpiridin-2(1*H*)-ona.

El término "alcoxi", o "tioalquilo", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, unido a través de un átomo de oxígeno ("alcoxi") o azufre ("tioalquilo").

Los términos "haloalquilo", "haloalquenilo", "haloalifático" y "haloalcoxi" significan alquilo, alquenilo o alcoxi, según sea el caso, sustituido con uno o más átomos de halógeno. Este término incluye grupos alquilo perfluorados, tales como -CF₃ y -CF₂CF₃.

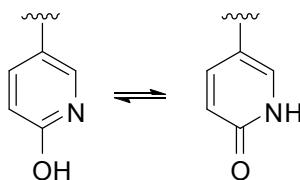
Los términos "halógeno", "halo", y "hal" significan F, Cl, Br o I.

El término "arilo" utilizado solo o como parte de un resto más grande como en "aralquilo", "aralcoxi", o "ariloxialquilo", se refiere a sistemas anulares monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros de anillo, en el que al menos un anillo del sistema es aromático y en el que cada anillo del sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo. El término "arilo" se puede usar indistintamente con el término "anillo de arilo".

El término "heteroarilo", utilizado solo o como parte de un resto más grande como en "heteroaralquilo" o "heteroarilalcoxi", se refiere a sistemas anulares monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros de anillo, en el que al menos un anillo en el sistema es aromático, al menos un anillo en el sistema contiene uno o más heteroátomos y en el que cada anillo en el sistema contiene de 3 a 7 miembros del anillo. El término "heteroarilo" se puede usar indistintamente con el término "anillo de heteroarilo" o el término "heteroaromático".

Los ejemplos de anillos heteroarilo incluyen, pero sin limitación, 2-furanilo, 3-furanilo, N-imidazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 5-imidazolilo, benzoimidazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, N-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, piridazinilo (por ejemplo, 3-piridazinilo), 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, tetrazolilo (por ejemplo, 5-tetrazolilo), triazolilo (por ejemplo, 2-triazolilo y 5-triazolilo), 2-tienilo, 3-tienilo, benzofurilo, benzotiofenilo, indolilo (por ejemplo, 2-indolilo), pirazolilo (por ejemplo, 2-pirazolilo), isotiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, purinilo, pirazinilo, 1,3,5-triazinilo, quinolinilo (por ejemplo, 2-quinolinilo, 3-quinolinilo, 4-quinolinilo) e isoquinolinilo (por ejemplo, 1-isoquinolinilo, 3-isoquinolinilo o 4-isoquinolinilo).

Se entenderá que el término "heteroarilo" incluye ciertos tipos de anillos de heteroarilo que existen en equilibrio entre dos formas diferentes. De manera más específica, por ejemplo, especies tales como hidropiridina y piridinona (y también hidroxipirimidina y pirimidinona) deben incluirse dentro de la definición de "heteroarilo".



Los términos "grupo protector" y "grupo protectivo" como se usa en el presente documento, son intercambiables y se refieren a un agente usado para bloquear temporalmente uno o más grupos funcionales deseados en un compuesto con múltiples sitios reactivos. En determinadas realizaciones, un grupo protector tiene una o más, o preferentemente todas, de las siguientes características: a) se añade selectivamente a un grupo funcional con buen rendimiento para dar un sustrato protegido que es b) estable a las reacciones que se producen en uno o más de los otros sitios reactivos; y c) se extrae selectivamente con buen rendimiento por reactivos que no atacan a los regenerados, grupos funcionales desprotegidos. Como entenderán los expertos en la técnica, en algunos casos, los reactivos no atacan otros grupos reactivos del compuesto. En otros casos, los reactivos también pueden reaccionar con otros grupos reactivos en el compuesto. Se detallan ejemplos de grupos protectores en Greene, T. W., Wuts, P. G en "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera Edición, John Wiley & Sons, Nueva York: 1999 (y otras ediciones del libro), cuyos contenidos al

completo se incorporan en el presente documento por referencia. El término "grupo protector de nitrógeno", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un agente usado para bloquear temporalmente uno o más sitios reactivos de nitrógeno deseados en un compuesto multifuncional. Los grupos protectores de nitrógeno preferidos también poseen las características ejemplificadas para un grupo protector anterior y algunos grupos protectores de nitrógeno ejemplares también se detallan en el capítulo 7 en Greene, T. W., Wuts, P. G en "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera Edición, John Wiley & Sons, Nueva York: 1999, cuyos contenidos al completo se incorporan en el presente documento por referencia.

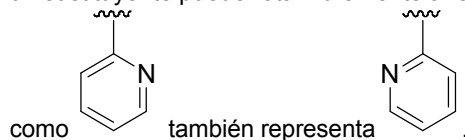
En algunas realizaciones, una unidad de metileno de una cadena alquilo o alifática está reemplazada opcionalmente con otro átomo o grupo. Ejemplos de tales átomos o grupos incluyen, pero sin limitación, nitrógeno, oxígeno, azufre, $-C(O)-$, $-C(=N-CN)-$, $-C(=NR)-$, $-C(=NOR)-$, $-SO-$, y $-SO_2-$. Estos átomos o grupos pueden combinarse para formar grupos más grandes. Ejemplos de tales grandes grupos incluyen, pero sin limitación, $-OC(O)-$, $-C(O)CO-$, $-CO_2-$, $-C(O)NR-$, $-C(=N-CN)-$, $-NRCO-$, $-NRC(O)O-$, $-SO_2NR-$, $-NRSO_2-$, $-NRC(O)NR-$, $-OC(O)NR-$, y $-NRSO_2NR-$, en el que R es, por ejemplo, H o alifático C_{1-6} . Debe entenderse que estos grupos pueden unirse a las unidades de metileno de la cadena alifática a través de enlaces sencillos, dobles o triples. Un ejemplo de un reemplazo opcional (átomo de nitrógeno en este caso) que está unido a la cadena alifática a través de un doble enlace sería $-CH_2CH=N-CH_3$. En algunos casos, especialmente en el extremo terminal, un reemplazo opcional puede unirse al grupo alifático a través de un triple enlace. Un ejemplo de esto sería $CH_2CH_2CH_2C\equiv N$. Debe entenderse que en esta situación, el nitrógeno terminal no está unido a otro átomo.

También se debería entender que, el término "unidad de metileno" también puede referirse a unidades de metileno ramificadas o sustituidas. Por ejemplo, en un resto de isopropilo $[-CH(CH_3)_2]$, un átomo de nitrógeno (por ejemplo, NR) la sustitución de la primera "unidad de metileno" mencionada daría lugar a dimetilamina $[-N(CH_3)_2]$. En casos tales como estos, un experto en la materia entendería que el átomo de nitrógeno no tendrá ningún átomo adicional unido a él, y la "R" de "NR" estaría ausente en este caso.

A menos que se indique otra cosa, los reemplazos opcionales forman un compuesto químicamente estable. Los reemplazos opcionales pueden ocurrir dentro de la cadena y/o en cualquier extremo de la cadena; es decir, ambos en el punto de unión y/o también en el extremo terminal. Dos reemplazos opcionales también pueden ser adyacentes entre sí dentro de una cadena, siempre que produzca un compuesto químicamente estable. Por ejemplo, un alifático C_3 puede estar reemplazado opcionalmente por 2 átomos de nitrógeno para formar $-C-N\equiv N$. Los reemplazos opcionales también pueden reemplazar completamente todos los átomos de carbono en una cadena. Por ejemplo, un alifático C_3 puede estar reemplazado opcionalmente por $-NR-$, $-C(O)-$, y $-NR-$ para formar $-NRC(O)NR-$ (una urea).

A menos que se indique otra cosa, si el reemplazo ocurre en el extremo terminal, el átomo de reemplazo está unido a un átomo de hidrógeno en el extremo terminal. Por ejemplo, si una unidad de metileno $-CH_2CH_2CH_3$ estuviera reemplazada opcionalmente con $-O-$, el compuesto resultante podría ser $-OCH_2CH_3$, $-CH_2OCH_3$, o $-CH_2CH_2OH$. Debe entenderse que si el átomo terminal no contiene ningún electrón de valencia libre, entonces no se requiere un átomo de hidrógeno en el extremo terminal (por ejemplo, $-CH_2CH_2CH=O$ o $-CH_2CH_2C\equiv N$).

A menos que se indique otra cosa, las estructuras aquí representadas también pretenden incluir todas las formas isómeras (por ejemplo, enantioméricas, diastereomérica, geométricas, conformacionales y rotacionales) de la estructura. Por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, los isómeros de doble enlace (Z) y (E) y los isómeros conformacionales (Z) y (E) están incluidos en esta invención. Como entenderá un experto en la técnica, un sustituyente puede rotar libremente alrededor de cualquier enlace giratorio. Por ejemplo, un sustituyente dibujado



Por tanto, los isómeros estereoquímicos individuales así como las mezclas enantioméricas, diastereomérica, geométricos, las mezclas conformacionales y rotacionales de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención.

A menos que se indique otra cosa, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la presente invención están dentro del alcance de la presente invención.

Además, a menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir los compuestos que difieren solamente en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras, excepto por la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido ^{13}C o ^{14}C , están comprendidos dentro del alcance de la presente invención. Dichos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas o sondas analíticas en ensayos biológicos.

Sales farmacéuticamente aceptables, Solvatos, Clatratos, Profármacos y otros derivados

Los compuestos descritos en el presente documento pueden existir en forma libre, o, cuando sea adecuado, como sales. Las sales que son farmacéuticamente aceptables son de particular interés ya que son útiles para administrar los compuestos descritos posteriormente con fines médicos. Las sales que no son farmacéuticamente aceptables son útiles en los procesos de fabricación, con fines de aislamiento y purificación, y en algunos casos, para uso en la separación de formas estereoisoméricas de compuestos de la invención o intermedios de los mismos.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales de un compuesto que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuadas para uso en contacto con tejidos humanos y animales inferiores sin efectos secundarios indebidos, tales como, toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares y son proporcionadas con una relación beneficio/riesgo razonable.

Las sales farmacéuticamente aceptables se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge et al., describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19, incorporada por referencia en el presente documento. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en el presente documento incluyen las derivadas de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos adecuados. Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos.

Cuando el compuesto descrito aquí contiene un grupo básico, o un bioisostato suficientemente básico, pueden prepararse sales de adición de ácido 1) haciendo reaccionar el compuesto purificado en forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y 2) aislando la sal así formada. En la práctica, las sales de adición de ácido podrían ser una forma más conveniente para uso y el uso de las cantidades de sal para el uso de la forma básica libre.

Ejemplos de sales de adición de ácido no tóxicas farmacéuticamente aceptables son sales de un grupo amino formado con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o usando otros métodos usados en la técnica, tales como intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, glicolato, gluconato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, sales valerato y similares.

Cuando el compuesto descrito en el presente documento contiene un grupo carboxi o un bioisostero suficientemente ácido, pueden prepararse sales de adición de base 1) haciendo reaccionar el compuesto purificado en forma ácida con una base orgánica o inorgánica adecuada y 2) aislando la sal así formada. En la práctica, el uso de la sal de adición de base podría ser más conveniente y el uso de la forma de sal equivale inherentemente al uso de la forma de ácido libre. Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio, litio y potasio), metal alcalinotérreo (por ejemplo, magnesio y calcio), amonio y $N^+(\text{alquilo } C_{1-4})_4$. La presente invención también prevé la cuaternización de cualquier grupo básico que contenga nitrógeno de los compuestos divulgados en el presente documento. Los productos solubles en agua o aceite o dispersables pueden obtenerse mediante dicha cuaternización.

Las sales de adición básicas incluyen sales de aminas y metales farmacéuticamente aceptables. Las sales metálicas adecuadas incluyen sodio, potasio, calcio, bario, cinc, magnesio y aluminio. Las sales de sodio y potasio son generalmente preferentes. Las sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, cuando sea adecuado, amonio no tóxico, amonio cuaternario y cationes de amina formados usando contraiones, tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquilo inferior y sulfonato de arilo. Las sales de adición de base inorgánicas adecuadas se preparan a partir de bases metálicas, incluyendo hidruro sódico, hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido de calcio, hidróxido de aluminio, hidróxido de litio, hidróxido de magnesio, hidróxido de cinc y similares. Las sales de adición de base de amina adecuadas se preparan a partir de aminas que se usan frecuentemente en química medicinal debido a su baja toxicidad y aceptabilidad para uso médico. Amoníaco, etilendiamina, N-metil-glucamina, lisina, arginina, ornitina, colina, N, N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, dietanolamina, procaína, N-bencilfenetilamina, dietilamina, piperazina, tris(hidroximetil)-aminometano, hidróxido de tetrametilamonio, trietilamina, dibencilamina, efenamina, deshidroabietilamina, N-etilpiperidina, bencilamina, tetrametilamonio, tetraetilamonio, methylamine, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, aminoácidos básicos, dicitclohexilamina y similares son ejemplos de sales de adición de bases adecuadas.

Otros ácidos y bases, aunque en sí mismos no son farmacéuticamente aceptables, pueden emplearse en la preparación de sales útiles como intermedios para obtener los compuestos descritos en el presente documento y sus sales de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptables.

Debe entenderse que esta invención incluye mezclas/combinaciones de diferentes sales farmacéuticamente aceptables y también mezclas/combinaciones de compuestos en forma libre y sales farmacéuticamente aceptables.

5 Los compuestos descritos en este documento también pueden existir como solvatos farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, hidratos) y clatratos. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "solvato farmacéuticamente aceptable" es un solvato formado a partir de la asociación de una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptable a uno de los compuestos descritos en el presente documento. El término solvato incluye hidratos (por ejemplo, hemihidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato, tetrahidrato, y similares).

10 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "hidrato" significa un compuesto descrito en el presente documento o una sal del mismo que incluye además una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida mediante fuerzas intermoleculares no covalentes.

15 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "clatrato" significa un compuesto descrito en el presente documento o una sal del mismo en forma de una red cristalina que contiene espacios (por ejemplo, canales) que tienen una molécula huésped (por ejemplo, disolvente o agua) atrapada dentro.

Además de los compuestos descritos en este documento, pueden emplearse derivados o profármacos farmacéuticamente aceptables de estos compuestos también en composiciones para tratar o prevenir los trastornos identificados en el presente documento.

25 Un "derivado o profármaco farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier éster farmacéuticamente aceptable, sal de un éster, u otro derivado o sal del mismo de un compuesto descrito en el presente documento que, tras su administración a un receptor, puede proporcionar, tanto directa como indirectamente, un compuesto descrito en el presente documento o un metabolito inhibitoriamente activo o un residuo del mismo. Los derivados o profármacos particularmente favorecidos son los que aumentan la biodisponibilidad de los compuestos cuando dichos compuestos se administran a un paciente (por ejemplo, permitiendo que un compuesto administrado por vía oral se absorba más fácilmente en la sangre) o que mejoran la administración del compuesto original a un compartimento biológico (por ejemplo, cerebro o sistema linfático) en relación con la especie parental.

30 Como se usa en el presente documento, y a menos que se indique otra cosa, el término "profármaco" significa un derivado de un compuesto que se puede hidrolizar, oxidar, o hacer reaccionar de otra manera en condiciones biológicas (*in vitro* o *in vivo*) para proporcionar un compuesto descrito en el presente documento. Los profármacos pueden activarse ante tal reacción en condiciones biológicas, o pueden tener actividad en formas sin reaccionar. Ejemplos de profármacos contemplados en esta invención incluyen, pero sin limitación, análogos o derivados de compuestos de la invención que comprenden restos biohidrolizables tales como amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, carbonatos biohidrolizables, ureidos biohidrolizables y análogos de fosfato biohidrolizables. Otros ejemplos de profármacos incluyen derivados de compuestos descritos en el presente documento que comprenden restos -NO, -NO₂, -ONO, u -ONO₂. Los profármacos se pueden preparar típicamente usando métodos bien conocidos, tales como los descritos por BURGER'S MEDICINAL CHEMISTRY AND DRUG DISCOVERY (1995) 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff ed., 5ª ed).

Usos terapéuticos

45 Un aspecto de esta invención proporciona una terapia de combinación que inhibe la ruta de ATR que comprende un compuesto útil para inhibir quinasa ATR, así como un compuesto útil para inhibir quinasa Chk1 (también conocida como "terapia de combinación ATR/Chk1"). En algunas realizaciones, el compuesto útil para inhibir ATR se selecciona del grupo que consiste en un compuesto de fórmula I o un compuesto de fórmula II. La terapia de combinación es útil para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno donde la vía ATR está implicada en la enfermedad, afección o trastorno.

50 Otro aspecto de esta invención proporciona una terapia de combinación útil para tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones caracterizadas por proliferación celular excesiva o anormal, incluyendo enfermedades proliferativas o hiperproliferativas. Ejemplos de enfermedades proliferativas e hiperproliferativas incluyen, pero sin limitación, cáncer y trastornos mieloproliferativos.

60 El término "cáncer" incluye, pero sin limitación los siguientes tipos de cánceres: oral, pulmonar, gastrointestinal, del tracto genitourinario, hígado, hueso, sistema nervioso, ginecológico, piel, glándula tiroides, o glándula suprarrenal. De manera más específica, "cáncer" incluye, pero sin limitación los siguientes tipos de cáncer: Oral: cavidad bucal, labio, lengua, boca, faringe; Cardíaco: sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rhabdomyosarcoma, liposarcoma), mixoma, rhabdomyoma, fibroma, lipoma y teratoma; Pulmón: carcinoma broncogénico (escamocelular o epidermoide, microcítico indiferenciado, macrocítico indiferenciado, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma; Gastrointestinal: esófago (carcinoma escamocelular, laringe, adenocarcinoma, leiomyosarcoma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma, leiomyosarcoma), páncreas (adenocarcinoma ductal, insulinooma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomyoma, hemangioma, lipoma, neurofibroma,

fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma vellosa, hamartoma, leiomioma), colon, colon-recto, colorrectal; recto, Tracto genitourinario: riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilm [nefroblastoma], linfoma, leucemia), vejiga y uretra (carcinoma escamocelular, carcinoma de células transicionales, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículo (seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoideos, lipoma); Hígado: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma, vías biliares; Hueso: sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma reticulocelular), mieloma múltiple, cordoma maligno de tumor de células gigantes, osteocondroma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes; Sistema nervioso: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteitis deformans), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma [pinealoma], glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), neurofibroma de médula espinal, meningioma, glioma, sarcoma); Ginecológico: útero (carcinoma endometrial), cuello de útero (carcinoma de cuello de útero, displasia de cuello de útero pretumoral), ovarios (carcinoma de ovario [cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma sin clasificar], tumores de células granulosas-tecales, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma escamocelular, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células transparentes, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioide (rhabdomyosarcoma embrionario), trompas de Falopio (carcinoma), mama; Hematológico: sangre (leucemia mieloide [aguda y crónica], leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico), enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin [linfoma maligno] célula peludas; trastornos linfoides; Piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Karposi, queratoacantoma, lunares llamados nevos displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis, Glándula tiroides: carcinoma papilar de tiroides, carcinoma folicular de tiroides, cáncer de tiroides indiferenciado, carcinoma de tiroides medular, neoplasia endocrina múltiple de tipo 2A, neoplasia endocrina múltiple de tipo 2B, cáncer de tiroides medular familiar, feocromocitoma, paraganglioma; y Glándulas suprarrenales: neuroblastoma.

En otras realizaciones, el cáncer se selecciona entre cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer gástrico o cáncer de cerebro. En otras realizaciones más, el cáncer se selecciona entre cáncer de pulmón no microcítico, cáncer microcítico de pulmón, cáncer pancreático, cáncer de las vías biliares, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer de esófago, cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, o cáncer de ovario. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona entre un cáncer de pulmón o de mama. En aún otras realizaciones, el cáncer se selecciona entre cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico y cáncer de mama triple negativo.

El término "célula cancerosa" como se proporciona en este documento, incluye una célula afectada por una cualquiera de las afecciones identificadas anteriormente. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona entre cáncer colorrectal, tiroides, pulmón, o mama.

El término "trastornos mieloproliferativos", incluye trastornos tales como policitemia vera, trombocitemia, metaplasia mieloide con mielofibrosis, síndrome hipereosinófilo, leucemia mielomonocítica juvenil, enfermedad sistémica de mastocitos, y trastornos hematopoyéticos, en particular, leucemia - mielógena aguda (LMA), leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia promielocítica aguda (LPA) y leucemia linfocítica aguda (LLA).

Composiciones farmacéuticas

La presente invención también proporciona una terapia de combinación que comprende un compuesto o composición útil para inhibir quinasa ATR y un compuesto o composición útil para inhibir quinasa Chk1.

Un aspecto de esta invención proporciona una terapia de combinación que comprende una composición útil para inhibir quinasa ATR y una composición útil para inhibir quinasa Chk1. como se describe en este documento. Cada composición comprende opcionalmente un excipiente farmacéuticamente aceptable, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.

El excipiente, adyuvante, o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como se utiliza en el presente documento, incluye todos y cada uno de los disolventes, diluyentes u otro vehículo líquido, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sea adecuado para la forma farmacéutica particular deseada. Remington's Pharmaceutical Sciences, Decimosexta edición, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) desvela diversos vehículos utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto en la medida en que cualquier medio transportador convencional sea incompatible con los compuestos de la invención, tal como mediante la producción de cualquier efecto biológico no deseado o la interacción de otro modo perjudicial con cualquier otro componente o componentes de la composición farmacéuticamente aceptable, su uso se contempla dentro del alcance de la presente invención.

Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como seroalbúmina humana, sustancias tamponantes tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico o sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloques de polietileno-polioxipropileno, lanolina, azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; tales como propilenglicol o polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y soluciones de tampón fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes pueden estar también presentes en la composición, según el criterio del experto en formulación.

Los inhibidores de quinasa ATR y Chk1 o sales farmacéuticas de los mismos pueden formularse en composiciones farmacéuticas para administración a animales o seres humanos. Estas composiciones farmacéuticas, que comprenden una cantidad suficiente del inhibidor de ATR y Chk1 eficaz para tratar o prevenir las enfermedades o afecciones descritas en este documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable, se describieron anteriormente.

La cantidad exacta de compuesto requerida para el tratamiento variará de un paciente a otro, dependiendo de la especie, edad y estado general del paciente, la gravedad de la infección, el agente particular, su modo de administración y similares. Los compuestos de la invención se formulan preferentemente en una forma farmacéutica unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La expresión "forma farmacéutica unitaria", como se usa en el presente documento, se refiere a una unidad físicamente concreta de agente adecuada para el paciente que va a tratarse. Se entenderá, sin embargo, que la utilización diaria total de los compuestos y composiciones de la presente invención la decidirá el médico a cargo del tratamiento dentro del alcance de un buen criterio médico. El nivel específico de dosis eficaz para cualquier paciente u organismo concreto dependerá de una diversidad de factores, incluyendo el trastorno que se esté tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, el estado de salud general, género y dieta del paciente; el tiempo de administración, la ruta de administración y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o casuales con el compuesto específico empleado y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. El término "paciente", tal como se utiliza en el presente documento, significa un animal, preferentemente un mamífero y lo más preferentemente, un ser humano.

En algunas realizaciones, estas composiciones comprenden además opcionalmente uno o más agentes terapéuticos adicionales. Por ejemplo, pueden combinarse agentes quimioterapéuticos u otros agentes antiproliferativos con los compuestos de la presente invención para tratar enfermedades proliferativas y el cáncer. Los ejemplos de agentes conocidos con los que se pueden combinar estas composiciones se enumeran más arriba en la sección "Agentes terapéuticos adicionales" posteriormente, y también a lo largo de la memoria descriptiva. Algunas realizaciones proporcionan un uso simultáneo, separado o secuencial de una preparación combinada.

Agentes terapéuticos adicionales

Otro aspecto de esta invención se refiere a un método para tratar cáncer en un paciente que lo necesita, que comprende la administración de un compuesto útil para inhibir quinasa ATR; la administración de un compuesto útil para inhibir quinasa Chk1, y la administración de uno o más agentes terapéuticos adicionales. En algunas realizaciones, dicho método comprende administración secuencial o conjunta de los compuestos o composiciones de la terapia de combinación ATR/Chk1 y el agente terapéutico adicional.

Tal como se utiliza en el presente documento, los términos "en combinación" o "coadministración" se pueden usar indistintamente para referirse al uso de más de una terapia (por ejemplo, uno o más agentes terapéuticos). El uso del término no restringe el orden en que se administran las terapias (por ejemplo, agentes terapéuticos) a un paciente.

En algunas realizaciones, dicho agente terapéutico adicional es un agente anticanceroso. En otras realizaciones, dicho agente terapéutico adicional es un agente que daña el ADN. Se entenderá que el agente terapéutico adicional puede comprender una o más terapias. En otras realizaciones más, dicho agente terapéutico adicional se selecciona entre radioterapia, quimioterapia, u otros agentes usados normalmente en combinación con radioterapia o quimioterapia, tales como radiosensibilizantes y quimiosensibilizantes. En otras realizaciones más, dicho agente terapéutico adicional es radiación ionizante. En algunas realizaciones, dicho agente terapéutico adicional comprende radiación ionizante y un agente que daña el ADN.

Como lo sabría un experto en la materia, los radiosensibilizantes son agentes que se pueden usar en combinación con radioterapia. Los radiosensibilizantes actúan de diferentes maneras, incluyendo, pero sin limitación, hacer que las células cancerosas sean más sensibles a la radioterapia, trabajar de forma sinérgica con la radioterapia para proporcionar un efecto sinérgico mejorado, actuar de forma aditiva con la radioterapia, o proteger las células sanas circundantes del daño producido por la radioterapia. Igualmente, los quimiosensibilizantes son agentes que se pueden usar en combinación con quimioterapia. De forma análoga, los quimiosensibilizantes trabajan de diferentes maneras, incluyendo, pero sin limitación, hacer que las células cancerosas sean más sensibles a la quimioterapia, trabajar de forma sinérgica con la quimioterapia para proporcionar un efecto sinérgico mejorado, actuar de forma aditiva con la quimioterapia, o proteger las células sanas que las rodean del daño producido por la quimioterapia.

Los ejemplos de agentes que dañan el ADN que se pueden usar con la terapia de combinación ATR/Chk1 de esta invención incluyen, pero sin limitación Agentes platinantes, tales como carboplatino, Oxaliplatino, Cisplatino, Nedaplatino, Satraplatino, Lobaplatino, triplatio, tetranitrato, Picoplatino, Prolindac, Aroplatino y otros derivados; Inhibidores de Topo I, tal como camptotecina, Topotecán, irinotecán/SN38, rubitecán, Belotecán, y otros derivados; Inhibidores de Topo II, tales como Etopósido (VP-16), Daunorrubicina, Doxorubicina, Mitoxantrona, Aclarrubicina, Epirubicina, Idarubicina, Amrubicina, Amsacrina, Pirarubicina, Valrubicina, zorubicina, Tenipósido y otros derivados; Antimetabolitos, tales como la familia fólica (metotrexato, Pemetrexed, Raltitrexed, Aminopterina, y relacionados); Antagonistas de purina (tioguanina, Fludarabina, Cladribina, 6-Mercaptopurina, Pentostatina, clofarabina y relacionados) y antagonistas de pirimidina (citarabina, Floxuridina, azacitidina, Tegafur, Carmofur, Capacitabina, Gemcitabina, hidroxiurea, 5-fluorouracilo (5FU) y relacionados); Agentes alquilantes, tales como mostazas de nitrógeno (por ejemplo, Ciclofosfamida, Melfalán, Clorambucilo, mecloretamina, Ifosfamida, mecloretamina, Trofosfamida, Prednimustina, Bendamustina, Uramustina, Estramustina y relacionados); nitrosoureas (por ejemplo, Carmustina, Lomustina, Semustina, Fotemustina, Nimustina, Ranimustina, Estreptozocina y relacionados); Triazenos (por ejemplo, Dacarbazina, Altretamina, Temozolomida, y relacionados); Alquilsulfonatos (por ejemplo, Busulfán, Manosulfán, Treosulfán, y relacionados); Procarbazona; Mitobronitol y aziridinas (por ejemplo, Carbocuna, Triazicuona, Tiotepa, trietilenmalamina y relacionados); Antibióticos, tales como hidroxiurea, Antraciclinas (por ejemplo, doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina y otros derivados); Antracenodionas (por ejemplo, mitoxantrona y relacionados); Familia *Streptomyces* (por ejemplo, Bleomicina, Mitomicina C, Actinomicina, plicamicina); y Luz ultravioleta.

Otras terapias o agentes anticancerosos que se pueden usar en la terapia de combinación incluyen cirugía, radioterapia (en algunos ejemplos, radiación gamma, radioterapia con haces de neutrones, radioterapia con haces de electrones, terapia con protones, braquiterapia e isótopos radiactivos sistémicos, por nombrar unos pocos), terapia endocrina, modificadores de la respuesta biológica (interferones, interleuquinas, y factor de necrosis tumoral (TNF) por nombrar unos pocos), piroterapia y crioterapia, agentes para atenuar cualquier efecto adverso (por ejemplo, antieméticos) y otros fármacos quimioterapéuticos autorizados, incluyendo, pero sin limitación, los agentes que dañan el ADN relacionados en el presente documento, venenos del huso mitótico (vinblastina, Vincristina, vinorelbina, paclitaxel), podofilotoxinas (etopósido, irinotecán, topotecán), nitrosoureas (carmustina, lomustina), iones inorgánicos (cisplatino, carboplatino), enzimas (asparaginasa) y hormonas (tamoxifeno, leuprolida, leuprolida, flutamida y megestrol), Gleevec™, adriamicina, dexametasona y ciclofosfamida.

Otras terapias de combinación de la presente invención pueden utilizar cualquiera de los siguientes agentes terapéuticos: Abarelix (Plenaxis Depot®); aldesleucina (Prokine®); Aldesleukin (Proleukin®); Alemtuzumab (Campath®); alitretinoína (Panretin®); alopurinol (Zyloprim®); altretamina (Hexalen®); amifostina (etiolo®); Anastrozol (Arimidex®); trióxido de arsénico (Trisenox®); asparaginasa (Elspar®); azacitidina (vidaza®); bevacuzimab (avastin®); cápsulas de bexaroteno (Targetin®); gel de bexaroteno (Targetin®); bleomicina (Blenoxane®); bortezomib (Velcade®); busulfán intravenoso (Busulfex®); busulfán oral (Myleran®); calusterona (Methosarb®); capecitabina (Xeloda®); carboplatino (Paraplatin®); carmustina (BCNU®, BiCNU®); carmustina (Gliadel®); Carmustina con Polifeprosan 20 Implant (Gliadel Wafer®); celecoxib (Celebrex®); cetuximab (Erbix®); clorambucilo (Leukeran®); cisplatino (Platinol®); cladribina (Leustatin®, 2-CdA®); clofarabina (Clolar®); ciclofosfamida (Cytoxan®, Neosar®); ciclofosfamida (Cytoxan Injection®); ciclofosfamida (Cytoxan Tablet®); citarabina (Cytosar-u®); citarabina liposomal (DepoCyt®); dacarbazina (DTIC-Dome®); dactinomicina, actinomicina D (Cosmegen®); Darbepoetina alfa (Aranesp®); daunorrubicina liposomal (DanuoXome®); daunorrubicina, daunomicina (Daunorubicin®); daunorrubicina, daunomicina (Cerubidine®); Denileukin difitox (Ontak®); dexrazoxano (Zinecard®); docetaxel (Taxotere®); doxorubicina (Adriamycin PFS®); doxorubicina (Adriamycin®, Rubex®); doxorubicina (Adriamycin PFS Injection®); doxorubicina liposomal (Doxil®); propionato de dromostanolona (dromostanolone®); propionato de dromostanolona (masterone injection®); Solución B de Elliott (Elliott's B Solution®); epirubicina (Ellence®); Epoetina alfa (epogen®); erlotinib (Tarceva®); Estramustina (Emcyt®); fosfato de etopósido (Etopophos®); etopósido, VP-16 (Vepesid®); exemestano (Aromasin®); Filgrastim (Neupogen®); floxuridina (intraarterial) (FUDR®); fludarabina (Fludara®); fluorouracilo, 5-FU (Aducci®); fulvestrant (Faslodex®); gefitinib (Iressa®); gemcitabina (Gemzar®); gemtuzumab ozogamicina (Mylotarg®); acetato de goserelina (Zoladex Implant®); acetato de goserelina (Zoladex®); acetato de histrelina (Histrelin implant®); hidroxiurea (Hydrea®); Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®); idarubicina (Idamycin®);

ifosfamida (IFEX®); mesilato de imatinib (Gleevec®); interferón alfa 2a (Roferon A®); Interferón alfa-2b (Intron A®); irinotecán (camptosar®); lenalidomida (Revlimid®); letrozol (Femara®); leucovorina (Wellcovorin®, Leucovorin®); Acetato de Leuprolide (Eligard®); levamisol (Ergamisol®); lomustina, CCNU (CeeBU®); mecloretamina, mostaza de nitrógeno (Mustargen®); acetato de megestrol (Megace®); melfalán, L-PAM (Alkeran®); mercaptopurina, 6-MP (Purinethol®); mesna (Mesnex®); mesna (Mesnex tabs®); metotrexato (Methotrexate®); Metoxsalen (Uvadex®); mitomicina C (Mutamycin®); mitotano (Lysodren®); mitoxantrona (Novantrone®); fenpropionato de nandrolona (Durabolin-50®); nelarabine (Arranon®); Nofetumomab (Verluma®); Oprelvekin (Neumega®); oxaliplatino (Eloxatin®); paclitaxel (Paxene®); paclitaxel (Taxol®); partículas unidas a proteínas de paclitaxel (Abraxane®); palifermina (Kepivance®); pamidronato (Aredia®); pegademasa (Adagen (Pegademase Bovine®); Pegasparsena (Oncaspar®); Pegfilgrastim (Neulasta®); pemetrexed disodio (Alimta®); pentostatina (Nipent®); pipobromano (Vercyte®); plicamicina, mitramicina (Mithracin®); porfimer sodio (Photofrin®); procarbazona (Matulane®); quinacrina (Atabrine®); Rasburicasa (Elitek®); Rituximab (Rituxan®); sargramostim (Leukine®); Sargramostim (Prokine®); sorafenib (Nexavar®); estreptozocina (Zanosar®); maleato de sunitinib (Sutent®); talco (Sclerosol®); tamoxifeno (Nolvadex®); temozolomida (Temodar®); tenipósido, VM-26 (Vumon®); testolactona (Teslac®); tioguanina, 6-TG (Thioguanine®); tiotepa (Thioplex®); topotecán (Hycamtin®); toremifeno (Fareston®); Tositumomab (Bexxar®); Tositumomab/I-131 tositumomab (Bexxar®); Trastuzumab (Herceptin®); tretinoína, ATRA (Vesanoid®); Mostaza de uracilo (Uracil Mustard Capsules®); valrubicina (Valstar®); vinblastina (Velban®); vincristina (Oncovin®); vinorelbina (Navelbine®); zoledronato (Zometa®) y vorinostat (Zolinza®).

20 Para una discusión completa de los tratamientos actualizados contra el cáncer, véase, <http://www.nci.nih.gov/>, una lista de los fármacos oncológicos homologados por la FDA en <http://www.fda.gov/cder/cancer/druglistframe.htm>, y The Merck Manual, Decimoseptima Ed. 1999, cuyos contenidos al completo se incorporan en el presente documento por referencia.

25 En otra realización, El agente terapéutico adicional puede ser un compuesto o composición que inhibe o modula una proteína reparadora por escisión de base. En algunas realizaciones, la proteína reparadora por escisión de base se selecciona entre UNG, SMUG1, MBD4, TDG, OGG1, MYH, NTH1, MPG, NEIL1, NEIL2, NEIL3 (ADN glicosilasas); APE1, APEX2 (AP endonucleasas); LIG1, LIG3 (ADN ligasas I y III); XRCC1 (LIG3 accesoria); PNK, PNKP (polinucleótido quinasa y fosfatasa); PARP1, PARP2 (Poli(ADP-Ribosa) Polimerasas); PolB, PolG (polimerasas);
30 FEN1 (endonucleasa) o aprataxina. En otras realizaciones, la proteína reparadora por escisión de base se selecciona entre PARP1, PARP2, o PolB. En otras realizaciones más, La proteína reparadora por escisión de base se selecciona entre PARP1 o PARP2. En otras realizaciones, el agente que inhibe o modula PARP1 o PARP2 se selecciona entre Olaparib (también conocido como AZD2281 o KU-0059436), Iniparib (también conocido como BSI-201 o SAR240550), Veliparib (también conocido como ABT-888), Rucaparib (también conocido como PF-01367338), CEP-9722,
35 INO-1001, MK-4827, E7016, BMN673, o AZD2461.

Otra realización proporciona un método para tratar cáncer que comprende administrar un compuesto útil para inhibir quinasa Chk1; administrar un compuesto útil para inhibir quinasa ATR; administrar un compuesto útil para inhibir o modular PARP1 o PARP2; y administrar un agente que daña el ADN. En otra realización, el agente que daña el ADN se selecciona entre radiación ionizante o cisplatino. En algunas realizaciones, el agente que daña el ADN es cisplatino. En otras realizaciones, El agente que daña el ADN es radiación ionizante. En algunas realizaciones, el agente que inhibe o modula PARP1 o PARP2 se selecciona entre Olaparib (también conocido como AZD2281 o KU-0059436), Iniparib (también conocido como BSI-201 o SAR240550), Veliparib (también conocido como ABT-888), Rucaparib (también conocido como PF-01367338), CEP-9722, INO-1001, MK-4827, E7016, BMN673, o AZD2461. En otras
45 realizaciones, el agente que inhibe o modula PARP1 o PARP2 es Veliparib (también conocido como ABT-888) o Rucaparib.

Modos de administración y formas farmacéuticas

50 Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden administrarse a seres humanos y otros animales por vía oral, por vía rectal, por vía parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (mediante polvos, pomadas, o gotas), bucal, como un pulverizador oral o nasal, o similar, dependiendo de la gravedad de la infección que se está tratando. En determinadas realizaciones, los compuestos de la invención pueden administrarse por vía oral o parenteral a niveles de dosificación de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente
55 50 mg/kg y preferentemente de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de peso corporal de paciente por dosis para obtener el efecto terapéutico deseado.

Las formas farmacéuticas líquidas para administración oral incluyen, pero sin limitación, emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente
60 aceptables. Además de los principios activos, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico,

benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceite de algodón, de cacahuete, maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, las suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse según la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, solución de Ringer, U. S. P. y solución de cloruro sódico isotónica. Además, aceites fijos estériles, se usan convencionalmente en forma de un disolvente o un medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite suave no volátil, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de los inyectables.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

Para prolongar el efecto de un compuesto de la presente invención, a menudo es deseable ralentizar la absorción del compuesto mediante inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del compuesto depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de compuesto administrado por vía parenteral se lleva a cabo disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso. Las formas de depósito inyectables se preparan formando matrices microencapsuladas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-policlicólido. Dependiendo de la proporción de compuesto a polímero y de la naturaleza del polímero concreto empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del compuesto. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones de depósito inyectable también se preparan atrapando al compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

Las composiciones para administración rectal o vaginal son, preferentemente, supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de la presente invención con excipientes o vehículos adecuados no irritantes, tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera para supositorio que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a temperatura corporal y, por lo tanto, se derretirán en el recto o en la cavidad vaginal y liberarán el compuesto activo.

Las formas farmacéuticas sólidas para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o a) cargas o diluyentes tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polvinilpirrolidona, sacarosa y acacia, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, determinados silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardantes de la solución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla bentonita e i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica puede comprender agentes tamponantes.

También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas rellenas de gelatina blanda y dura usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas sólidas de dosificación de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición que libera el principio o los principios activos única o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones inclusorias que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas rellenas de gelatina blanda y dura usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Los principios activos pueden estar también en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha señalado anteriormente. Las formas sólidas de dosificación de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de control de la liberación y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa,

lactosa o almidón. Dichas formas farmacéuticas también pueden comprender, como es práctica normal, sustancias adicionales distintas de los diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes para formación de comprimidos y otros adyuvantes para la compresión, tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes.

5 Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición que libera el principio o los principios activos única o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones inclusorias que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

10 Las formas de dosificación para administración tópica y/o transdérmica de un compuesto de la presente invención pueden incluir pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizadores, inhalantes o parches. El componente activo se premezcla en condiciones estériles con un transportador farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario, según se requiera. Las formulaciones oftálmicas, gotas óticas y colirios también se contemplan dentro del alcance de la presente invención. Además, la presente invención contempla el uso
15 de parches transdérmicos, que tienen la ventaja añadida de proporcionar un suministro controlado de un compuesto al organismo. Dichas formas de dosificación pueden prepararse disolviendo o dispensando el compuesto en el medio adecuado. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

20 Las composiciones de la presente invención puede administrarse por vía oral, por vía parenteral, mediante aerosol para inhalación, por vía tópica, por vía rectal, por vía nasal, por vía bucal, por vía vaginal o mediante un depósito implantado. El término "parenteral" como se usa en el presente documento incluye, pero sin limitación, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e
25 intracraneal o técnicas de infusión. Preferentemente, las composiciones se administran por vía oral, intraperitoneal o intravenosa.

Las formas inyectables estériles de las composiciones de la presente invención pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Estas suspensiones pueden formularse según técnicas conocidas en la materia usando agentes de
30 dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, aceites fijos estériles, se usan convencionalmente en forma de un disolvente o un medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse
35 cualquier aceite suave no volátil, incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como el ácido oleico y sus derivados de glicéridos, son útiles en la preparación de inyectables, así como los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tales como el aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Estas soluciones o suspensiones oleosas también pueden contener un diluyente o dispersante alcohólico de cadena larga, tal como carboximetilcelulosa o agentes dispersantes similares que se usan habitualmente
40 en la formulación de formas farmacéuticas farmacéuticamente aceptables, incluyendo emulsiones y suspensiones. Otros tensioactivos usados habitualmente, tales como los Tween, Span y otros agentes emulsionantes o potenciadores de la biodisponibilidad que se usan habitualmente en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas, líquidas u otras farmacéuticamente aceptables también pueden usarse con fines de formulación.

45 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse por vía oral en cualquier forma de dosificación oralmente aceptable, incluyendo, pero sin limitación, cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones acuosas. En el caso de los comprimidos para uso oral, los transportadores comúnmente usados incluyen, pero sin limitación, lactosa y almidón de maíz. Los agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, también se añaden normalmente. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz
50 deshidratado. Cuando se necesitan suspensiones acuosas para uso oral, el principio activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también pueden añadirse determinados agentes edulcorantes, aromatizantes o colorantes.

Alternativamente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse en forma de
55 supositorios para administración rectal. Estos pueden prepararse mezclando el agente con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura rectal y, por lo tanto, se derretirá en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen, pero sin limitación, manteca de cacao, cera de abeja y polietilenglicoles.

60 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden administrarse por vía tópica, especialmente cuando la diana de tratamiento incluye áreas u órganos fácilmente accesibles mediante aplicación tópica, incluyendo enfermedades de los ojos, la piel o el tracto intestinal inferior. Las formulaciones tópicas adecuadas se preparan fácilmente para cada una de estas áreas u órganos.

65 La aplicación tópica para el tracto intestinal inferior puede lograrse en una formulación de supositorio rectal (véase lo anterior) o en una formulación de enema adecuada. También pueden usarse parches transdérmicos por vía tópica.

- Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una pomada adecuada que contenga el principio activo suspendido o disuelto en uno o más vehículos. Los vehículos para administración tópica de los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, polioxietileno, compuestos de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente pueden formularse en una loción o crema adecuada que contenga los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen, pero sin limitación, aceite mineral, monoestearato de sorbitano, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.
- 10 Para uso oftálmico, Las composiciones farmacéuticas pueden formularse como suspensiones micronizadas en solución salina estéril isotónica a pH ajustado, o preferentemente, como soluciones en solución salina estéril isotónica a pH ajustado, tanto con un conservante como sin él, tal como cloruro de benzalconio. Alternativamente, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una pomada, tal como vaselina.
- 15 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden administrarse mediante aerosol nasal o inhalación. Dichas composiciones se preparan según técnicas bien conocidas en la materia de la formulación farmacéutica y pueden prepararse como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para potenciar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes convencionales.
- 20 La cantidad de inhibidores de la proteína quinasa que puede combinarse con los materiales transportadores para producir una forma farmacéutica unitaria variará dependiendo del hospedador tratado, del modo particular de administración. Preferentemente, las composiciones deben formularse de modo que pueda administrarse una dosis entre 0,01 y 100 mg/kg de peso corporal/dosis del inhibidor a un paciente que recibe estas composiciones.
- 25 Debe entenderse también que los regímenes de dosificación y tratamiento específicos para cualquier paciente concreto dependerán de una variedad de factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la tasa de excreción, combinación del fármaco, y el criterio del médico a cargo del tratamiento y la gravedad de la enfermedad concreta que se está tratando. La cantidad de inhibidor dependerá del compuesto concreto en la composición.

Muestras biológicas

- 35 Como inhibidores de la vía ATR, los compuestos y las composiciones de la presente invención son también útiles en muestras biológicas. Un aspecto de la invención se refiere a la inhibición de la actividad quinasa ATR y Chk1 en una muestra biológica, método que comprende poner en contacto dicha muestra biológica con un compuesto que inhibe la actividad quinasa ATR y un compuesto que inhibe la actividad quinasa Chk1. Alternativamente, pueden utilizarse composiciones separadas que comprenden estos compuestos. El término "muestra biológica", como se utiliza en el presente documento, significa una muestra *in vitro* una muestra *ex vivo*, incluyendo, sin limitación, cultivos celulares o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido de un mamífero o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas u otros fluidos corporales o extractos de los mismos. El término "compuestos" incluye compuestos de fórmula I y fórmula II.
- 40 La inhibición de la actividad quinasa de ATR y Chk1 en una muestra biológica es útil para una variedad de propósitos que son conocidos por los expertos en la técnica. Los ejemplos de dichos fines incluyen, pero sin limitación, transfusión de sangre, trasplante de órganos, y almacenamiento de especímenes biológicos.

Estudio de las proteínas quinasas

- 50 Otro aspecto de la presente invención se refiere al estudio de las proteínas quinasas en fenómenos biológicos y patológicos; el estudio de las rutas de transducción de la señalización intracelular mediadas por dichas proteínas quinasas; y la evaluación comparativa de nuevos inhibidores de las proteínas quinasas. Los ejemplos de dichos usos incluyen, pero sin limitación, ensayos biológicos tales como ensayos de enzimas y ensayos basados en células.
- 55 La actividad de los compuestos como inhibidores de las proteínas quinasas puede evaluarse *in vitro*, *in vivo* o en una línea de células. Los ensayos *in vitro* incluyen ensayos que determinan la inhibición de cualquier actividad quinasa o actividad ATPasa de la quinasa activada. Los ensayos alternativos *in vitro* cuantifican la capacidad del inhibidor de unirse a la proteína quinasa y puede medirse bien radiomarcando el inhibidor antes de la unión, aislando el complejo inhibidor/quinasa y determinando la cantidad de radiomarca unida o bien realizando un experimento de competición donde se incuban nuevos inhibidores con la quinasa unida a los radioligandos conocidos. En los Ejemplos siguientes se muestran las condiciones detalladas para evaluar un compuesto utilizado en la presente invención como un inhibidor de ATR.
- 60

Métodos de tratamiento

En un aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar cáncer en un paciente que comprende administrar un compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y administrar un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1 ("terapia de combinación ATR/Chk1").

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar cáncer en un paciente que comprende administrar un compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; administrar un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk 1; y administrar uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados independientemente entre un agente que daña el ADN, en donde el agente terapéutico adicional es apropiado para la enfermedad que se está tratando; y el agente terapéutico adicional se administra junto con los compuestos como forma de dosificación única o por separado de los compuestos como parte de una forma de dosificación múltiple.

En algunas realizaciones, el agente que daña el ADN se selecciona independientemente entre quimioterapia o tratamiento de radiación.

En otra realización, el agente que daña el ADN se selecciona entre radiación ionizante, neocarzinostatin radiomimético, un agente platinante, un inhibidor de Topo I, un inhibidor de Topo II, un antimetabolito, un agente alquilante, unos alquilsulfonatos, un antimetabolito, o un antibiótico. En otras realizaciones, dicho agente que daña el ADN se selecciona entre radiación ionizante, un agente platinante, un inhibidor de Topo I, un inhibidor de Topo II, un antimetabolito, un agente alquilante, o un sulfonato de alquilo.

En otra realización más, dicho agente platinante se selecciona independientemente entre Cisplatino, Oxaliplatino, Carboplatino, Nedaplatino, Lobaplatino, Triplatino Tetranitrato, Picoplatino, Satraplatino, ProLindac y Aroplatino; dicho inhibidor de Topo I se selecciona entre camptotecina, Topotecán, irinotecán/SN38, Rubitecán y Belotecán; dicho inhibidor de Topo II se selecciona entre Etopósido, Daunorrubicina, Doxorrubicina, Aclarrubicina, Epirubicina, Idarubicina, Amrubicina, Pirarrubicina, Valrubicina, Zorrubicina y Tenipósido; dicho antimetabolito se selecciona entre Aminopterina, Metotrexato, Pemetrexed, Raltitrexed, Pentostatina, Cladribina, Clofarabina, Fludarabina, Tioguanina, Mercaptopurina, Fluorouracilo, Capecitabina, Tegafur, Carmofur, Floxuridina, Citarabina, Gemcitabina, Azacitidina e Hidroxiurea; dicho agente alquilante se selecciona entre mecloretamina, Ciclofosfamida, Ifosfamida, Trofosfamida, Clorambucilo, Melfalán, Prednimustina, Bendamustina, Uramustina, Estramustina, Carmustina, Lomustina, Semustina, Fotemustina, Nimustina, Ranimustina, Estreptozocina, Busulfán, Manosulfán, Treosulfán, Carbocuna, Tiotepa, Triazicuona, Trietilenomelamina, Procarbazina, Dacarbazina, Temozolomida, Altretamina, mitobronitol, Actinomicina, Bleomicina, Mitomicina y Plicamicina.

En otras realizaciones más, dicho agente platinante se selecciona independientemente entre Cisplatino, Oxaliplatino, Carboplatino, nedaplatino, o satraplatino; dicho inhibidor de Topo I se selecciona entre camptotecina, Topotecán, irinotecán/SN38, rubitecán; dicho inhibidor de Topo II se selecciona entre Etopósido; dicho antimetabolito se selecciona entre metotrexato, pemetrexed, Tioguanina, Fludarabina, Cladribina, Citarabina, gemcitabina, 6-Mercaptopurina, o 5-Fluorouracilo; dicho agente alquilante se selecciona entre mostazas de nitrógeno, nitrosoureas, triazenos, sulfonatos de alquilo, procarbazina, o aziridinas; y dicho antibiótico se selecciona entre hidroxiurea, Antraciclinas, antracenodionas, o la familia Streptomyces.

En algunas realizaciones, el agente que daña el ADN es un agente platinante. En otras realizaciones, el agente que daña el ADN es un agente platinante seleccionado entre Cisplatino. En otras realizaciones más, el agente que daña el ADN es un agente platinante seleccionado entre Carboplatino.

En otra realización más, el agente que daña el ADN es radiación ionizante.

En otras realizaciones más, el agente que daña el ADN es un antimetabolito seleccionado entre gemcitabina.

En algunas realizaciones, el agente que daña el ADN es un inhibidor de Topo I seleccionado entre Camptotecina, Topotecán, irinotecán/SN38, Rubitecán o Belotecán.

En otras realizaciones, el agente que daña el ADN es un inhibidor de Topo II seleccionado entre Etopósido.

En otras realizaciones más, el agente que daña el ADN es un agente alquilante seleccionado entre Temozolomida.

En otras realizaciones más, el agente que daña el ADN se selecciona entre uno o más de los siguientes: Cisplatino, Carboplatino, Gemcitabina, Etopósido, Temozolomida, o radiación ionizante. En otras realizaciones, el agente terapéutico adicional es cisplatino o carboplatino.

En algunas realizaciones, la terapia de combinación ATR/Chk1 se combina con quimiorradiación, quimioterapia y/o radioterapia. Como entendería un experto en la materia, la quimiorradiación se refiere a un régimen de tratamiento que incluye tanto la quimioterapia (tal como cisplatino) como la radiación. En algunas realizaciones, la quimioterapia es cisplatino.

En una o más realizaciones, el cáncer es un tumor sólido seleccionado entre los siguientes cánceres: oral, pulmonar, gastrointestinal: del tracto genitourinario, hígado, hueso, sistema nervioso, ginecológico, piel, glándula tiroides, o glándula suprarrenal.

- 5 En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido seleccionado entre los siguientes cánceres: Oral: cavidad bucal, labio, lengua, boca, faringe; Cardíaco: sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rabdomiosarcoma, liposarcoma), mixoma, rabdomioma, fibroma, lipoma y teratoma; Pulmón: carcinoma broncogénico (escamocelular o epidermoide, microcítico indiferenciado, macrocítico indiferenciado, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma; Gastrointestinal: esófago (carcinoma escamocelular, laringe, adenocarcinoma, leiomiomasarcoma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma, leiomiomasarcoma), páncreas (adenocarcinoma ductal, insulino, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma veloso, hamartoma, 10 [nefroblastoma], linfoma), vejiga y uretra (carcinoma escamocelular, carcinoma de células transicionales, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículo (seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatosos, lipoma); Hígado: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma, vías biliares; Hueso: sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma reticulocelular), mieloma múltiple, cordoma maligno de tumor de células gigantes, osteocondroma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes; Sistema nervioso: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteitis deformans), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, 25 germinoma [pinealoma], glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), neurofibroma de médula espinal, meningioma, glioma, sarcoma); Ginecológico: útero (carcinoma endometrial), cuello de útero (carcinoma de cuello de útero, displasia de cuello de útero pretumoral), ovarios (carcinoma de ovario [cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma sin clasificar], tumores de células granulosas-tecales, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma escamocelular, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células transparentes, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioides (rabdomiosarcoma embrionario), trompas de Falopio (carcinoma), mama; Piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, queratoacantoma, lunares llamados nevos displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis, Glándula tiroides: carcinoma papilar de tiroides, carcinoma de tiroides folicular; 35 carcinoma de tiroides medular, neoplasia endocrina múltiple de tipo 2A, neoplasia endocrina múltiple de tipo 2B, cáncer de tiroides medular familiar, feocromocitoma, paraganglioma; y glándulas suprarrenales: neuroblastoma.

- En otra realización, el cáncer se selecciona entre cáncer de pulmón no microcítico, cáncer microcítico de pulmón, 40 cáncer pancreático, cáncer de las vías biliares, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer de esófago, cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, o cáncer de ovario. En otras realizaciones, el cáncer se selecciona entre cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico y cáncer de mama triple negativo. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona entre cáncer de pulmón no microcítico, cáncer microcítico de pulmón, cáncer de ovario seroso, y cáncer de mama triple negativo.

- 45 Otra realización proporciona un método para tratar cáncer de mama usando la terapia de combinación ATR/Chk1 descrita en este documento en combinación con un agente platinante. En algunas realizaciones, el cáncer de mama es el cáncer de mama triple negativo. En otras realizaciones, el agente platinante es cisplatino.

- Otra realización proporciona un método para tratar cáncer de pulmón no microcítico usando la terapia de combinación 50 ATR/Chk1 descrita en el presente documento en combinación con cisplatino y gemcitabina. En algunas realizaciones, el cáncer de pulmón no microcítico es cáncer de pulmón no microcítico escamoso. En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto de Fórmula I. En otras realizaciones, el compuesto es VE-822.

- En otra realización más, el agente terapéutico adicional es gemcitabina o cisplatino y el cáncer es el subtipo escamoso 55 del cáncer de pulmón no microcítico. Otra realización proporciona un método para tratar cáncer de pulmón microcítico usando la terapia de combinación ATR/Chk1 descrita en el presente documento en combinación con cisplatino y etopósido.

- Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para promover la muerte celular en células cancerosas 60 que comprende administrar un compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y administrar un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1. En algunas realizaciones, las células cancerosas tienen defectos en la cascada de señalización ATM. En otra realización, el defecto es la expresión o actividad alterada de uno o más de los siguientes: ATM, p53, CHK2, MRE11, RAD50, NBS1, 53BP1, MDC1, H2AX, MCPH1/BRIT1, CTIP, o SMC1. En otros aspectos más, el defecto es la expresión o actividad alterada de uno o más de los siguientes: ATM, p53, CHK2, MRE11, RAD50, 65 NBS1, 53BP1, MDC1 o H2AX.

En algunas realizaciones, la célula cancerosa expresa oncogenes que dañan el ADN.

En otras realizaciones, la célula cancerosa ha alterado la expresión o actividad de uno o más de los siguientes: K-Ras, N-Ras, H-Ras, Raf, Myc, Mos, E2F, Cdc25A, CDC4, CDK2, Ciclina E, Ciclina A y Rb.

5 En otro aspecto, esta invención proporciona un método para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno con una terapia de combinación que inhibe la actividad enzimática uniendo un compuesto a quinasa ATR y uniendo un compuesto separado a quinasa Chk1.

10 Otro aspecto de esta invención proporciona un método para tratar, prevenir o disminuir la gravedad de enfermedades proliferativas o hiperproliferativas en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de un primer compuesto útil para inhibir quinasa ATR, o una composición farmacéuticamente aceptable que comprende el primer compuesto; y administrar una cantidad eficaz de un segundo compuesto útil para inhibir quinasa Chk1, o una composición farmacéuticamente aceptable que comprende el segundo compuesto. El término "paciente", tal como se
15 utiliza en el presente documento, significa un animal, preferentemente un ser humano.

En determinadas realizaciones, una "cantidad eficaz" del compuesto o una composición farmacéuticamente aceptable es la cantidad eficaz a fin de tratar dicha enfermedad. Los compuestos y composiciones, según el método de la presente invención, pueden administrarse usando cualquier cantidad y cualquier ruta de administración eficaz para
20 tratar o disminuir la gravedad de dicha enfermedad.

En algunas realizaciones, el compuesto útil para inhibir quinasa ATR es un compuesto de Fórmula I. En otras realizaciones, el compuesto útil para inhibir quinasa ATR es VE-821. En otras realizaciones, el compuesto útil para inhibir la quinasa ATR es VE-822.

25 Otra realización más proporciona un método para prevenir la reparación celular del daño del ADN en células cancerosas que comprende administrar a un paciente un primer compuesto útil como inhibidor de quinasa ATR, o una composición que comprende el primer compuesto; y administrar a un paciente un segundo compuesto útil como inhibidor de quinasa Chk1, o una composición que comprende el segundo compuesto.

30 Otra realización proporciona un método para sensibilizar células a agentes que dañan el ADN, que comprende administrar a un paciente un primer compuesto útil como inhibidor de quinasa ATR, o una composición que comprende el primer compuesto; y administrar a un paciente un segundo compuesto útil como inhibidor de quinasa Chk1, o una composición que comprende el segundo compuesto.

35 Según otra realización, la terapia de combinación ATR/Chk1 se usa en un cáncer, célula cancerosa o célula que tiene un defecto en una proteína involucrada en la reparación por escisión de base ("proteína reparadora por escisión de base"). Existen muchos métodos conocidos en la técnica para determinar si un tumor tiene un defecto en la reparación por escisión de base. Por ejemplo, la secuenciación del ADN genómico o de los productos de ARNm de cada gen reparador por escisión de base (por ejemplo, UNG, PARP1, o LIG1) puede realizarse en una muestra del tumor para establecer si están presentes las mutaciones que se espera que modulen la función o expresión del producto génico (Wang *et al.*, Cancer Research 52: 4824 (1992)). Además de la inactivación mutacional, las células tumorales pueden modular un gen reparador de ADN mediante hipermetilación de su región promotora, que lleva a expresión génica reducida. Esto se evalúa más comúnmente utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) específica de
40 metilación para cuantificar los niveles de metilación en los promotores de los genes de interés de reparación por escisión de base. El análisis de la metilación del promotor del gen reparador por escisión de base está disponible comercialmente (http://www.sabiosciences.com/dna_methylation_product/HTML/MEAH-421A.html).

Finalmente, los niveles de expresión de los genes de reparación por escisión de base se pueden evaluar mediante cuantificación directa de los niveles de ARNm y de los productos proteicos de cada gen mediante el uso de técnicas estándares tales como reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa acoplada a transcriptasa inversa (RT-PCR) e inmunohistoquímica (IHC), respectivamente (Shinmura *et al.*, Carcinogenesis 25: 2311 (2004); Shinmura *et al.*, Journal of Pathology 225:414 (2011)).

55 En algunas realizaciones, la proteína de reparación por escisión de base es UNG, SMUG1, MBD4, TDG, OGG1, MYH, NTH1, MPG, NEIL1, NEIL2, NEIL3 (ADN glicosilasas); APE1, APEX2 (AP endonucleasas); LIG1, LIG3 (ADN ligasas I y III); XRCC1 (LIG3 accesoria); PNK, PNKP (polinucleótido quinasa y fosfatasa); PARP1, PARP2 (Poli(ADP-Ribosa) Polimerasas); PolB, PolG (polimerasas); FEN1 (endonucleasa) o aprataxina.

60 En algunas realizaciones, la proteína reparadora por escisión de base es PARP1, PARP2, o PolB. En otras realizaciones, la proteína reparadora por escisión de base es PARP1 o PARP2.

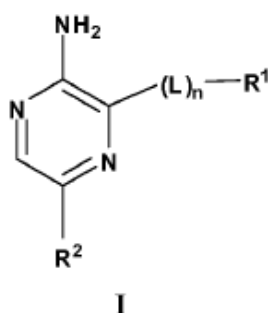
Los métodos descritos anteriormente (secuencia de genes, metilación del promotor y expresión de ARNm) también pueden usarse para caracterizar el estado (por ejemplo, expresión o mutación) de otros genes o proteínas de interés, tales como oncogenes que dañan el ADN expresados por un tumor o defectos en la cascada de señalización de ATM de una célula.

Fabricación de medicamentos

Otra realización proporciona el uso de compuestos o composiciones descritos en el presente documento para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer. En algunas realizaciones, el compuesto o composición se combina con un agente terapéutico adicional, tal como un agente que daña el ADN, descritos en el presente documento. En otra realización, el cáncer tiene un defecto en una vía descrita en este documento.

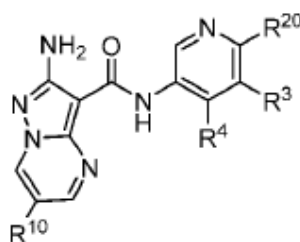
Algunas realizaciones proporcionan el uso de un primer compuesto para inhibir quinasa ATR en combinación con un segundo compuesto para inhibir quinasa Chk1 para la fabricación de un medicamento para tratar cáncer en un paciente. En otra realización, el primer compuesto y el segundo compuesto se combinan con uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados entre un agente en la sección titulada "Agentes terapéuticos adicionales" de la presente solicitud. En otra realización más, el cáncer se selecciona entre un cáncer en la sección titulada "Usos terapéuticos" de la presente solicitud.

En otras realizaciones, el compuesto para inhibir quinasa ATR está representado por la Fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde las variables son como se definen en la sección titulada "Compuestos" en la memoria descriptiva de la presente solicitud. Además, otros compuestos de Fórmula I útiles para inhibir quinasa ATR también se describen en la sección "Compuestos" de la solicitud.

En otras realizaciones más, el compuesto para inhibir la quinasa ATR está representado por la Fórmula II:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde las variables son como se definen en la sección titulada "Compuestos" de la presente solicitud. Además, otros compuestos de Fórmula II útiles para inhibir quinasa ATR también se describen en la sección "Compuestos" de la solicitud.

Otras realizaciones proporcionan el uso de un primer compuesto para inhibir quinasa ATR en combinación con un segundo compuesto para inhibir quinasa Chk1 para la fabricación de un medicamento para promover muerte celular en células cancerosas.

Abreviaturas

Se usan las siguientes abreviaturas:

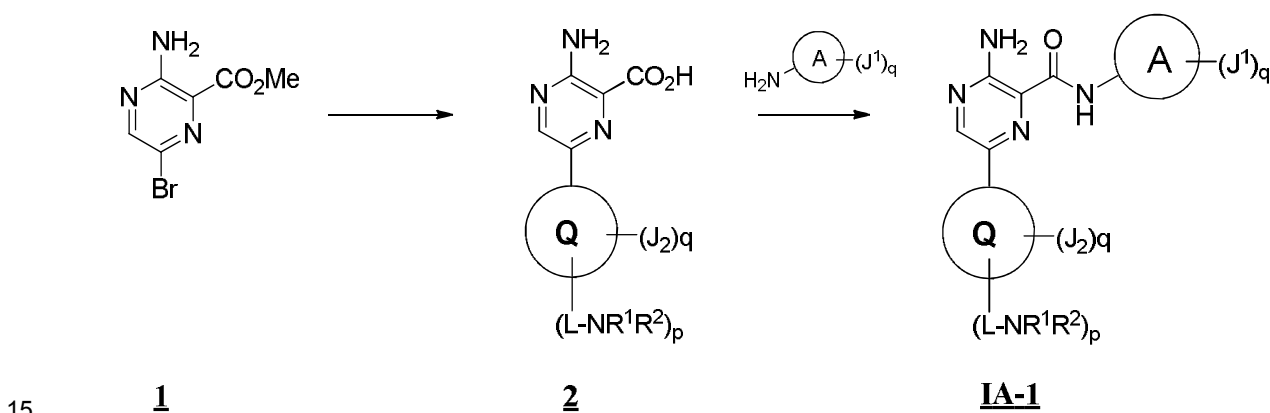
DMSO	dimetil sulfóxido
ATP	adenosina trifosfato
RMN ¹ H	resonancia magnética nuclear de protón
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento

CLEM	cromatografía líquida-espectrometría de masas
TLC	cromatografía de capa fina
Tr	tiempo de retención
HATU	hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio
TBTU	Tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
T3P	Anhídrido propilfosfónico
COMU	hexafluorofosfato de 1-[(1-(Ciano-2-etoxi-2-oxoetilidenamino)oxi)-dimetilamino-morfolino]]uronio
TCTU	Tetrafluoroborato de [(6-clorobenzotriazol-1-il)oxi(dimetilamino)metil]dimetilamonio
HBTU	hexafluorofosfato de O-benzotriazol-N,N,N',N'-tetrametil-uronio
DMF	dimetilformamida
PTSA	Ácido <i>p</i> -toluenosulfónico
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DCM	diclorometano
NMP	<i>N</i> -metil-2-pirrolidona
EDCI	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

Esquemas y ejemplos

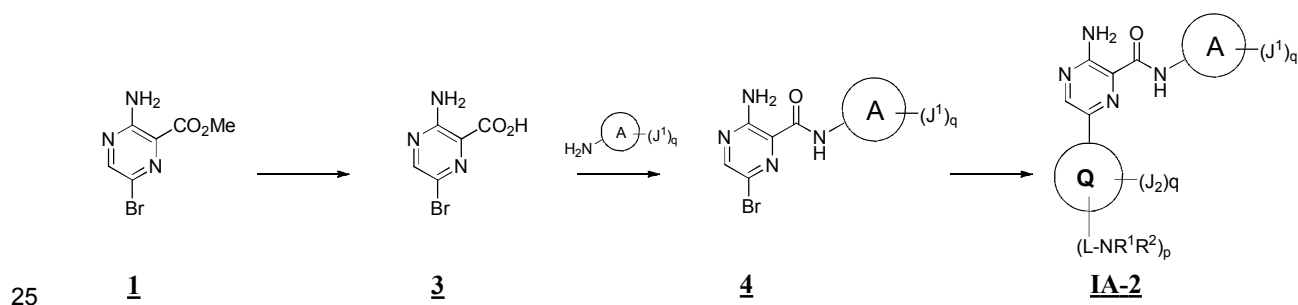
Los compuestos pueden prepararse según los esquemas y ejemplos descritos en los documentos WO 2010/071837 y WO 2014089379, cuyo contenido se incorpora al presente documento por referencia. Los compuestos pueden analizarse mediante procedimientos conocidos, que incluyen, pero sin limitación CLEM (espectrometría de masas cromatografía líquida) y RMN (resonancia magnética nuclear). Los siguientes esquemas genéricos ilustran cómo preparar los compuestos de la presente divulgación. Cualquier ejemplo es solo con fines de ilustración y no debe interpretarse como limitante del alcance de la invención de ninguna manera. Los espectros de RMN ^1H se registraron a 400 MHz utilizando un instrumento Bruker DPX 400. Las muestras de espec. de masas se analizaron en un espectrómetro de masas MicroMass Quattro Micro operado en modo EM único con ionización por electronebulización.

Esquema I-A1: Preparación de compuestos en donde -LR¹ es una amida aromática



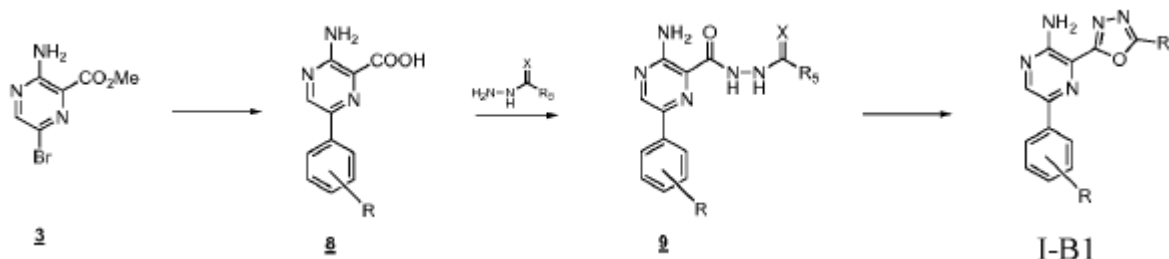
Los compuestos de amidas cíclicas de la presente divulgación en donde -LR¹ es una amida aromática pueden prepararse según métodos similares a los descritos en el Esquema I-A1: El éster comercialmente disponible **1** reacciona con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar un intermedio **2**. El grupo ácido carboxílico está involucrado en una reacción de acoplamiento con una amina para conducir a compuestos de amida cíclica de Fórmula IA-1.

Esquema I-A2: Preparación de compuestos en donde -LR¹ es una amida aromática



Alternativamente, los compuestos de la presente divulgación en donde -LR¹ es una amida aromática pueden prepararse según métodos similares a los descritos en el Esquema I-A2, una variación de la secuencia sintética representada en el esquema I-A1 que consiste en comenzar a partir de éster metílico **1**. El éster **1** se transforma en ácido carboxílico **3** que participa en una reacción de acoplamiento con una amina para dar amida **4**. Esto reacciona con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para conducir a compuestos de fórmula **IA-2**.

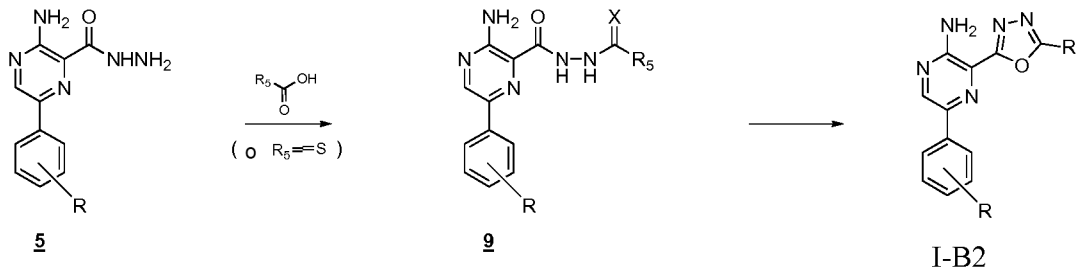
Esquema I-B1: Preparación de compuestos donde el anillo A es un 1,3,4-oxadiazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Los compuestos de la presente descripción en donde el Anillo A es un 1,3,4-oxadiazol se pueden preparar según métodos similares al descrito en el Esquema I-B1: el éster metílico **3** se hace reaccionar con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar el intermedio **8**. El ácido carboxílico en **8** se acopla luego en una reacción de acoplamiento con una hidrazida (X = O) o tiohidrazida (X = S) para formar **9**. Finalmente, la acilhidrazida en **9** sufre una ciclodeshidratación para dar lugar a compuestos de la presente divulgación (fórmula I en Esquema I-B1). La transformación de los intermedios **8** en compuestos de fórmula **IB-1** también se ha realizado en un procedimiento de un solo recipiente utilizando reactivos para dos fines (acoplamiento y ciclodeshidratación).

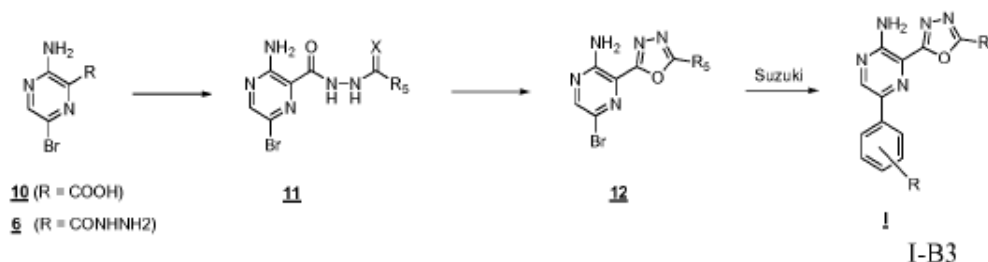
Esquema I-B2: Preparación de compuestos donde el anillo A es un 1,3,4-oxadiazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Alternativamente, los compuestos de la presente divulgación en donde el Anillo A es un 1,3,4-oxadiazol se pueden preparar según métodos similares al descrito en el Esquema I-B2, una variación de la secuencia sintética representada en el esquema I-B1. La hidrazida **5** está involucrada en una reacción de acoplamiento con un grupo funcional ácido carboxílico para formar un intermedio **9** (X = O). Al igual que en el esquema I-B1, la acilhidrazida se somete después a una ciclodeshidratación que conduce a compuestos de fórmula **IB-2**. Cuando R5 es un resto unido al anillo de oxadiazol a través de un enlace CN, luego se puede usar un tioisocianato para generar el intermedio **9** (X = S); la tioacilhidrazida luego se somete a una ciclodeshidratación para producir compuestos de fórmula **IB-2**.

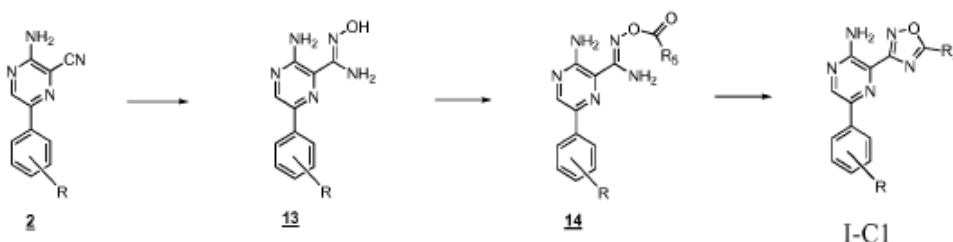
Esquema I-B3: Preparación de compuestos donde el anillo A es un 1,3,4-oxadiazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Alternativamente, los compuestos de la presente divulgación en donde el Anillo A es 1,3,4-oxadiazol se pueden preparar según métodos similares a los descritos en el Esquema I-B3: el grupo funcional R en **10** o **6** (ácido e hidrazida respectivamente, ambos preparados a partir del éster metílico **3** mediante hidrólisis e hidrazinólisis respectivamente) se acoplan en un acoplamiento con un compañero adecuado ($R_5CXNHNH_2$ cuando se parte **10**; $R_5COOH/R_5==S$ cuando se parte **6**) para formar la acilhidrácida intermedia **11**. La ciclodeshidratación posterior conduce al compuesto **12** donde se ha construido el anillo de 1,3,4-oxadiazol. La transformación del punto de partida **10** o **6** en el intermedio **12** también se ha realizado en un procedimiento de un solo recipiente utilizando reactivos para dos fines (acoplamiento y ciclodeshidratación). El asa de bromo en oxadiazol **12** se hace reaccionar luego con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar compuestos de fórmula **1B-3**. Cuando el grupo R en la Fórmula **1B-3** contiene un resto ácido carboxílico, puede transformarse además (por ejemplo, en una amida) usando condiciones conocidas en la técnica.

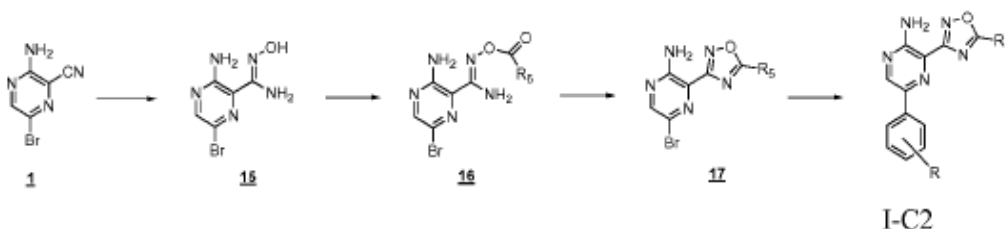
Esquema I-C1: Preparación de compuestos donde el anillo A es un 1,2,4-oxadiazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Los compuestos de la presente descripción donde el Anillo A es un 1,2,4-oxadiazol se pueden preparar según métodos similares al descrito en el Esquema I-C1: el nitrilo **2** Reacciona con la hidroxilamina para dar el intermedio **13**. El grupo hidroxilo en **13** reacciona con cloruros de ácido para dar lugar al intermedio **14** que experimenta ciclodeshidratación para proporcionar compuestos de fórmula **1C-1**.

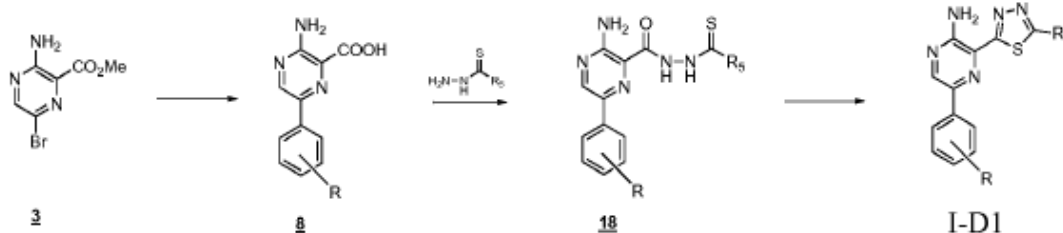
Esquema I-C2: Preparación de compuestos donde el anillo A es un 1,2,4-oxadiazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Alternativamente, los compuestos de la presente descripción donde el Anillo A es un 1,2,4-oxadiazol se pueden preparar según métodos similares a los descritos en el Esquema I-C2: El nitrilo comercialmente disponible **1** reacciona con hidroxilamina para dar el intermedio **15**. El grupo hidroxilo en **15** reacciona con cloruros de ácido para dar lugar al intermedio **16** que experimenta ciclodeshidratación para proporcionar el intermedio **17**. El asa de bromo en **17** se utiliza luego para realizar una reacción de Suzuki con un compañero de acoplamiento de ácido borónico para dar compuestos de fórmula **1C-2**. Cuando el grupo R en la Fórmula **1C-2** contiene un resto ácido carboxílico, puede transformarse además (por ejemplo, en una amida) usando condiciones conocidas en la técnica.

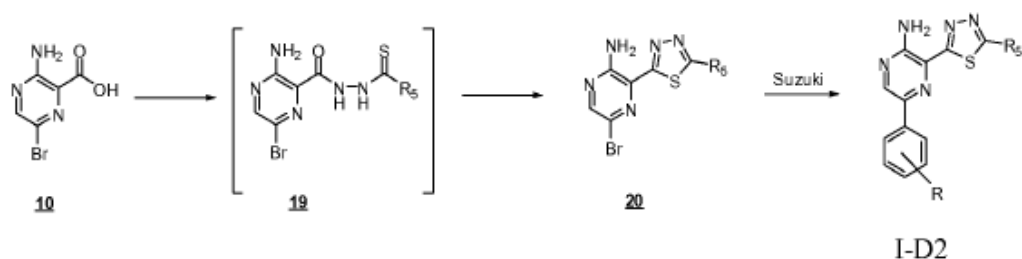
Esquema I-D1: Preparación de compuestos donde el anillo A es un 1,3,4-tiadiazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Los compuestos de la presente descripción donde el Anillo A es un 1,3,4-tiadiazol se pueden preparar según métodos similares al descrito en el Esquema I-D1: el éster metílico **3** se hace reaccionar con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar el intermedio **8**. El ácido carboxílico en **8** se involucra luego en una reacción de acoplamiento con una tiohidracida para formar **18**. Finalmente, la tioacilhidracida en **18** sufre una ciclodeshidratación para dar lugar a compuestos de fórmula **I-D-1**. La transformación del intermedio **8** en compuestos de fórmula **I-D1** se puede realizar en un procedimiento de un solo recipiente utilizando reactivos para dos fines (acoplamiento y ciclodeshidratación)

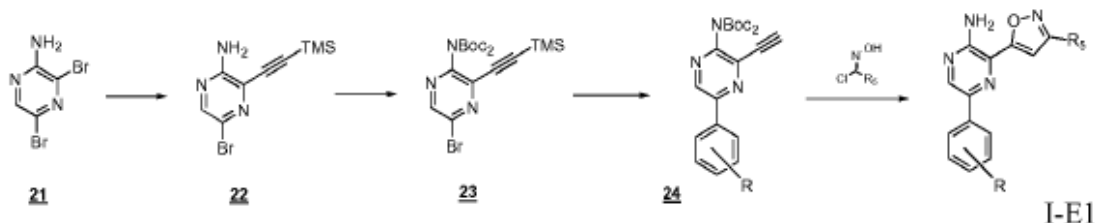
Esquema I-D2: Preparación de compuestos donde el anillo A es un 1,3,4-tiadiazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Alternativamente, Los compuestos de la presente divulgación donde el Anillo A es 1,3,4-tiadiazol se pueden preparar según métodos similares a los descritos en el Esquema I-D2: el grupo funcional ácido en **10** se acopla en un acoplamiento con un compañero adecuado ($R_5CSNHNH_2$) para formar la tioacilhidracida intermedia **19**. La ciclodeshidratación posterior conduce al compuesto **20** donde se ha construido el anillo de 1,3,4-tiadiazol. La transformación del punto de partida **10** en **20** se ha realizado en un procedimiento de un solo recipiente utilizando reactivos para dos fines (acoplamiento y ciclodeshidratación). El asa de bromo en el tiadiazol **20** se hace reaccionar luego con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar compuestos de fórmula **I-D2**. Cuando el grupo R en la Fórmula **I-D2** contiene un resto ácido carboxílico, puede transformarse además (por ejemplo, en una amida) usando condiciones conocidas en la técnica.

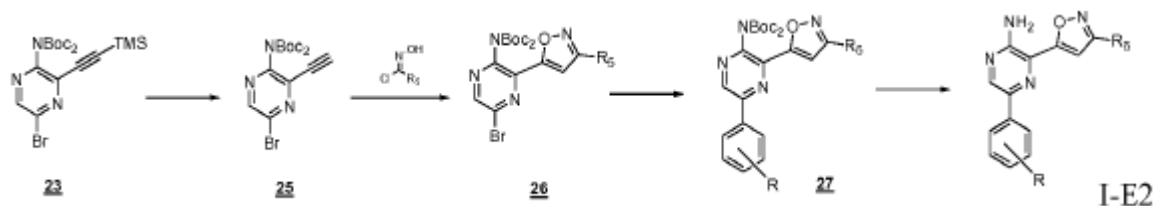
Esquema I-E1: Preparación de compuestos en los que el anillo A es un isoxazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Los compuestos de la presente divulgación donde el anillo A es un isoxazol pueden prepararse según procedimientos similares al representado en el Esquema I-E1: Se somete 2-amino-3,5-dibromopirazina comercialmente disponible **21** a un acoplamiento de Sonogashira con TMS-acetileno para dar el intermedio **22**, cuyo grupo amino puede protegerse completamente como especies diBoc **23**. Un acoplamiento de Suzuki con el asa de bromo restante, con desprotección de TMS concomitante proporciona el intermedio **24**. El alquino **24** finalmente reacciona en una ciclocondensación con cloruro de N-hidroxioarólio para proporcionar compuestos de Fórmula **I-E1**.

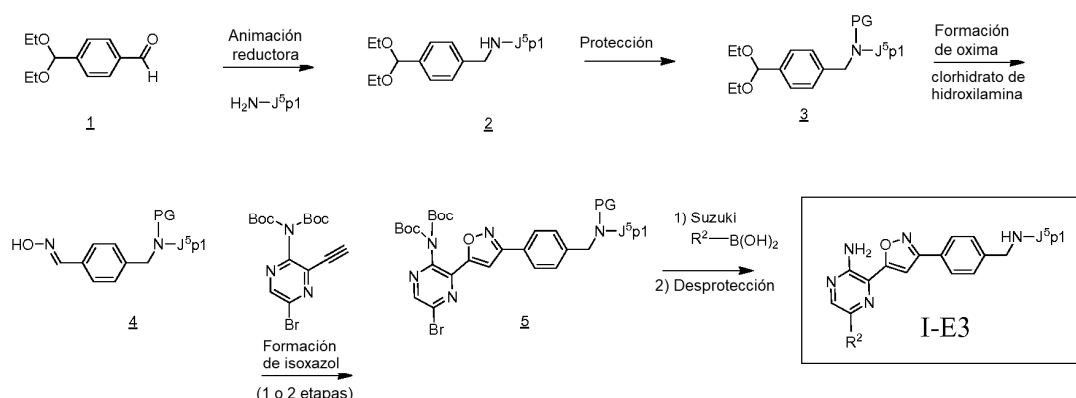
Esquema I-E2: Preparación de compuestos en los que el anillo A es un isoxazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Alternativamente, los compuestos de la presente divulgación donde el anillo A es un isoxazol pueden prepararse según procedimientos similares al representado en el Esquema I-E2: El intermediario TMS-protegido **23**, descrito en el esquema I-E1 puede desprotegerse para revelar el compuesto alquino **25**. El alquino **25** reacciona en una ciclocondensación con cloruro de N-hidroxiauroilo para proporcionar un intermediario **26** donde se ha construido el anillo de isoxazol. El asa de bromo del isoxazol **26** se hace reaccionar luego con un ácido borónico en condiciones Suzuki para dar compuestos **27**. Una desprotección final de los grupos protectores de N en **27** puede revelar compuestos de Fórmula I. Cuando el grupo R en la Fórmula I-E2 contiene un resto ácido carboxílico, puede transformarse además (por ejemplo, en una amida) usando condiciones conocidas en la técnica.

Esquema I-E3: Preparación de compuestos en los que el anillo A es un isoxazol



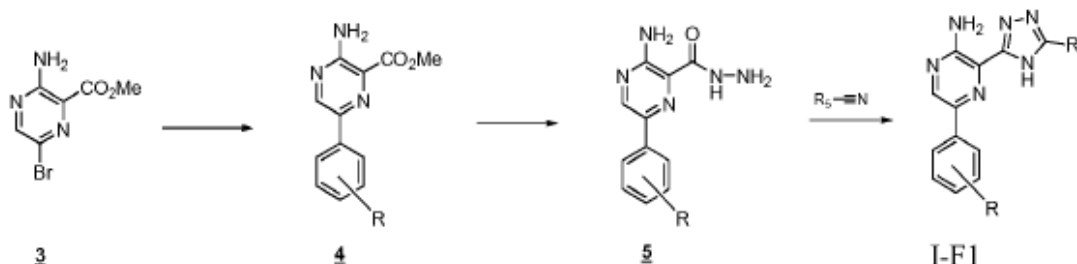
Los compuestos de Fórmula I-E3 pueden prepararse según los pasos descritos en el Esquema I-E3. La aminación reductora entre el compuesto **1** y una amina (por ejemplo, $\text{J}^{\text{p1}}\text{-NH}_2$), conduce al compuesto **2**. Las condiciones para la aminación reductora incluyen, por ejemplo, combinar el compuesto **1** con $\text{J}^{\text{p1}}\text{-NH}_2$ en metanol para formar un intermediario de imina que se reduce con NaBH_4 para formar el compuesto **2**. El compuesto **2** puede entonces protegerse con grupos protectores de nitrógeno conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, el compuesto **2** se puede combinar con $(\text{Boc})_2\text{O}$ y Et_3N en DCM para formar el compuesto **3** (en donde $\text{PG} = \text{Boc}$).

El compuesto **3** puede combinarse con clorhidrato de hidroxilamina en condiciones adecuadas de formación de oxima para formar el compuesto **4**. Las condiciones adecuadas de formación de oxima incluyen un procedimiento de un solo paso o un procedimiento de dos pasos. El procedimiento de un solo paso comprende agitar 1 equivalente de compuesto **3** con 1,1 equivalentes de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ en una mezcla 10:1 v/v de THF/agua. El procedimiento de dos etapas comprende primero desproteger el grupo cetal del compuesto **3** en un aldehído en condiciones adecuadas de desprotección, y después formar una oxima en condiciones adecuadas de formación de oxima en dos etapas para formar el compuesto **4**.

El compuesto **4** puede combinarse con la aminopirazina protegida con BOC que se muestra en el Esquema I-E3 en condiciones adecuadas de formación de isoxazol para formar el compuesto **5**. El compuesto **4** se transforma y acopla en una cicloadición [3+2] para formar el isoxazol **5**. Esta transformación puede realizarse en una sola operación, pero requiere dos pasos distintos. El primer paso es una oxidación del grupo funcional oxima a una nitrona, o un intermediario similar con el mismo grado de oxidación, por ejemplo una cloroxima. Esta especie reactiva reacciona luego con un alquino en una cicloadición [3+2] para formar el aducto de isoxazol.

Finalmente, el compuesto **5** sufre una reacción de acoplamiento asistida por metal para formar el compuesto **6**. Por ejemplo, el compuesto **5** puede combinarse con un ácido borónico en condiciones de acoplamiento cruzado de Suzuki para formar el compuesto de fórmula **6**.

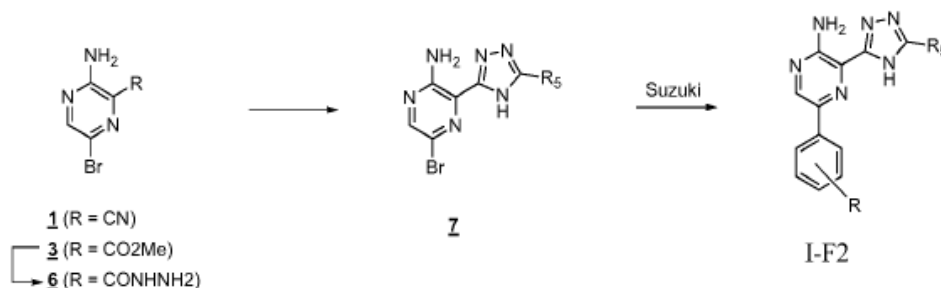
Esquema I-F1: Preparación de compuestos donde el anillo A es un 1,2,4-triazol.



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Alternativamente, los compuestos de la presente divulgación donde el Anillo A es un 1,2,4-triazol se pueden preparar según métodos similares a los descritos en el Esquema I-F1 a partir de éster metílico **3**. El éster **3** reacciona con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar un intermedio **4**. Cuando el grupo R contiene un resto de ácido carboxílico, puede transformarse además en esta etapa (por ejemplo, en una amida) usando condiciones conocidas en la técnica. El grupo éster metílico en **4** se transforma luego en una hidracida por reacción con hidracina para dar **5**. Finalmente, el grupo hidracida en **5** se acopla en una reacción de acoplamiento con un nitrilo y posteriormente sufre una ciclodeshidratación para conducir a compuestos de Fórmula **I-F1**.

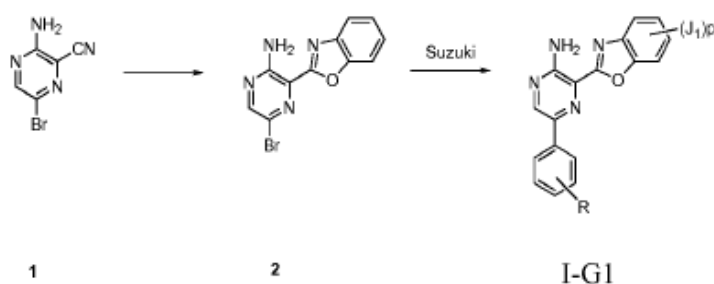
Esquema I-F2: Preparación de compuestos donde el anillo A es un 1,2,4-triazol.



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Alternativamente, Los compuestos de la presente divulgación donde el Anillo A es un 1,2,4-triazol se pueden preparar según métodos similares al descrito en el Esquema I-F2: el grupo funcional R en **1** o **3** (nitrilo y éster metílico respectivamente) se acoplan (después de transformación apropiada de **3** en hidracida **6**) con un compañero de acoplamiento adecuado (R₅CONHNH₂ cuando se parte de **1**; R₅CN si se usa **6**). La ciclodeshidratación posterior conduce al intermedio **7** donde se ha construido el anillo de 1,2,4-triazol. El asa de bromo en triazol **7** se hace reaccionar luego con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar compuestos de fórmula **I-F2**. Cuando el grupo R en la Fórmula **I-F2** contiene un resto ácido carboxílico, puede transformarse además (por ejemplo, en una amida) usando condiciones conocidas en la técnica.

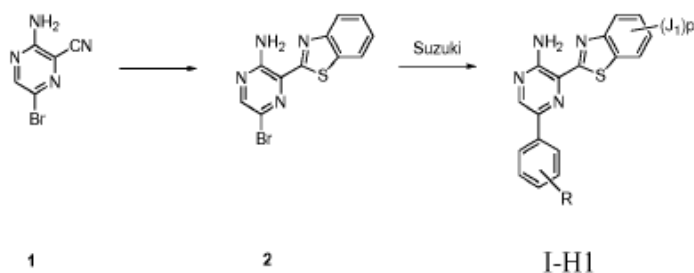
Esquema I-G1: Preparación de compuestos donde el anillo A es un benzoxazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Los compuestos de benzoxazol de Fórmula VI se pueden preparar según métodos similares a los descritos en el Esquema I-G1: En nitrilo comercialmente disponible **1** se hace reaccionar con un amino fenol para dar el benzoxazol que luego se hace reaccionar con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar compuestos de Fórmula **I-G1**.

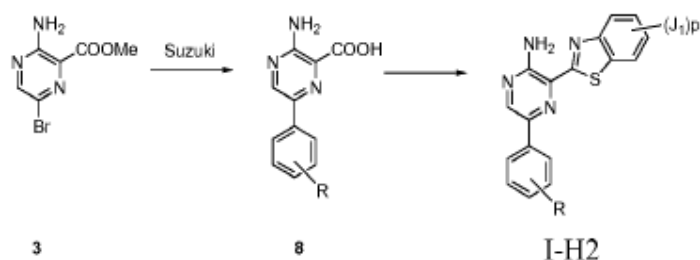
Esquema I-H1: Preparación de compuestos donde el anillo A es un benzotiazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Los compuestos de benzotiazol de Fórmula VI se pueden preparar según métodos similares a los descritos en el Esquema I-H1: El nitrilo comercialmente disponible **1** se hace reaccionar con un aminobenzenotiol para dar el benzotiazol que luego se hace reaccionar con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar compuestos de Fórmula **I-H1**.

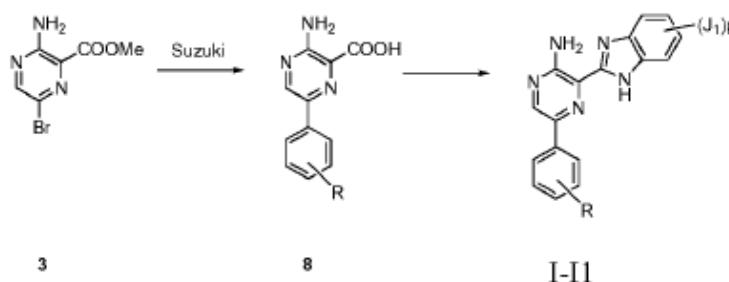
Esquema I-H2: Preparación de compuestos donde benzotiazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Alternativamente, Los compuestos de benzotiazol de Fórmula VI se pueden preparar según el Esquema I-H2; el éster metílico **3** se hace reaccionar con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar el intermedio **8**. La ciclación del intermedio **8** con un amino bencenotiol conducirá a compuestos de Fórmula **I-H2**.

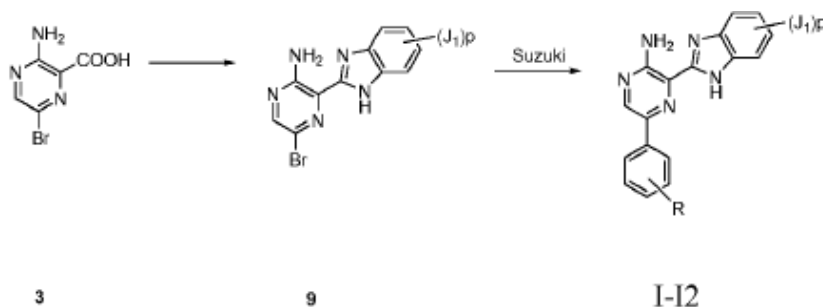
Esquema I-I1: Preparación de compuestos donde el anillo A es un imidazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Los compuestos de bencimidazol de Fórmula I se pueden preparar según métodos similares a los descritos en el Esquema I-I1: el éster metílico **3** se hace reaccionar con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar el intermedio **8**. La ciclación de intermedio **8** con una benceno 1,2-diamina conducirá a compuestos de Fórmula **I-I1**.

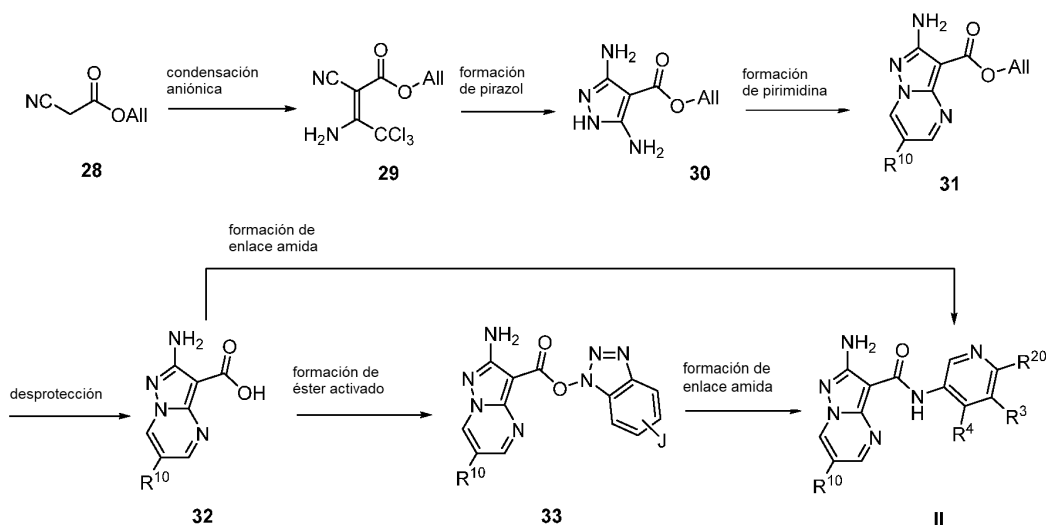
Esquema I-I2: Preparación de compuestos donde el anillo A es un imidazol



en donde R es $-(L-NR^1R^2)_p$ o $-(J_2)_q$

Alternativamente, Los compuestos de bencimidazol de Fórmula I se pueden preparar según métodos similares a los descritos en el Esquema I-I2: La reacción del grupo funcional ácido de **3** se hace reaccionar con una 1,2-diamina de benceno para dar el intermedio **9**. El intermedio **9** se hace reaccionar luego con un ácido borónico en condiciones de Suzuki para dar compuestos de Fórmula **I-I2**.

Esquema IIa: Enfoque general para la preparación de compuestos de fórmula II



5 Los compuestos de esta invención pueden sintetizarse según métodos similares al descrito en el **Esquema IIa**.

El anión del cianoacetato de alilo comercialmente disponible **28** puede reaccionar con tricloroacetnitrilo para proporcionar el intermedio **29**. En la etapa de condensación aniónica, el anión del cianoacetato de alilo comercialmente disponible **28** se puede generar con una base tal como acetato potásico en un solvente apropiado tal como un alcohol (por ejemplo, alcohol isopropílico). El anión reacciona después con tricloroacetnitrilo a temperatura ambiente.

El intermedio **29** reacciona luego con hidracina para formar el diaminopirazol **30**. En la etapa de formación de pirazol, el intermedio **29** se hace reaccionar con hidracina (o su hidrato) en un disolvente aprótico, tal como DMF, para proporcionar el diaminopirazol **30**. La reacción ocurre en condiciones básicas (por ejemplo, en presencia de acetato potásico o AcONa) con calentamiento (por ejemplo, 110 °C) para asegurar ciclación completa.

El intermedio **30** además se puede condensar con un compañero de acoplamiento dielectrofílico para formar la pirimidina **31**. En la etapa de formación de pirimidina, el intermedio **30** reacciona con una especie 1,3-dielectrófila (por ejemplo, un 1,3-dialdehído o un 3-(dialquilamino)-prop-2-enal) en varios tipos de disolventes (por ejemplo, DMF o DMSO/agua) para proporcionar los núcleos bicíclicos **31**. Cuando uno o dos de los centros electrofílicos están protegidos/enmascarados (por ejemplo, aldehído enmascarado como cetal), se requiere la introducción de un ácido sulfónico (por ejemplo, PTSA) para liberar el grupo funcional reactivo.

La desprotección, por ejemplo, mediante hidrólisis, del éster de alilo conduce a los ácidos carboxílicos **32**. En la etapa de desprotección, el compuesto **31** se somete a condiciones hidrolíticas conocidas por los expertos en la materia. Por ejemplo, el tratamiento de **31** con fenilsilano o 4-metilbencenosulfonato en presencia de una cantidad catalítica de paladio (por ejemplo, Pd (PPh₃)₄) conduce a la formación del correspondiente ácido carboxílico **32**. Alternativamente, los compuestos **31** podrían tratarse con álcali acuoso (por ejemplo, NaOH, LiOH, o KOH) para producir los ácidos **32**.

En la etapa de formación de éster activado, los ácidos carboxílicos **32** se hacen reaccionar con agentes de acoplamiento de amida conocidos por los expertos en la técnica. Compañeros de acoplamiento de amida adecuados incluyen, pero sin limitación TBTU, TCTU, HATU, T3P, y COMU. Cuando el agente de acoplamiento se elige apropiadamente, las reacciones pueden desarrollarse rápidamente (~1 h) a temperatura ambiente en presencia de una base orgánica (por ejemplo, trietilamina, DIPEA) para proporcionar los ésteres activados **33**. Por ejemplo, cuando se utilizan los agentes de acoplamiento de amida TBTU [J = H] o TCTU [J = Cl], los compuestos **33** se obtienen fácilmente por filtración de la mezcla de reacción.

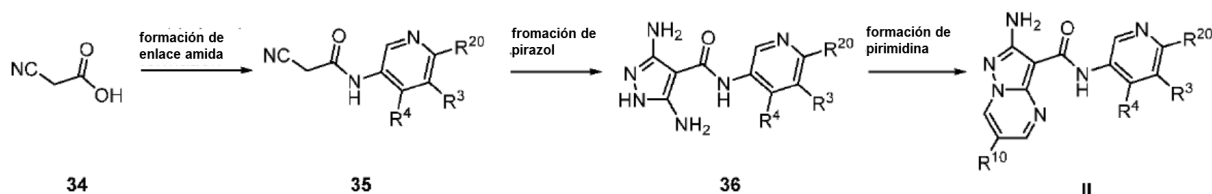
La formación de los ésteres activados **33** antes de la formación de enlaces amida para preparar **II** es generalmente preferente, aunque la conversión directa de **32** en los compuestos de fórmula **II** de esta invención también es posible. También se pueden utilizar ésteres activados alternativos (aislados o formados *in situ*) que conocerán los expertos en la materia (por ejemplo, utilizando TBTU, TCTU, HATU, T3P, agentes de acoplamiento COMU).

En la etapa de formación de enlaces amida, los ésteres activados **33** pueden reaccionar con una 3-aminopiridina sustituida para proporcionar compuestos de fórmula **II** de esta invención. Las condiciones de reacción para el acoplamiento de amida son generalmente un disolvente aprótico (por ejemplo, NMP, piridina, DMF, etc.) con calefacción (por ejemplo, ≥ 90 °C). La 3-aminopiridina puede funcionalizarse adicionalmente después de la formación del enlace amida.

Alternativamente, las dos etapas descritas anteriormente se pueden combinar: los ácidos carboxílicos **32** pueden usarse como puntos de partida para la formación de enlaces amida, los ésteres activados se generan *in situ*, utilizando los mismos agentes de acoplamiento de amida que los descritos anteriormente. Los compuestos **II** de esta invención se aíslan de una manera similar a la descrita anteriormente.

5

Esquema IIb: Enfoque alternativo para la preparación de compuestos de fórmula II



10 Alternativamente, los compuestos de la presente divulgación se pueden preparar según métodos similares al descrito en **Esquema IIb**.

Etapa 1

15 La amida **35** se pueden preparar fácilmente a partir de ácido cianoacético comercialmente disponible **34**. En la etapa de formación de enlaces amida, el ácido cianoacético **34** puede reaccionar con una 3-aminopiridina sustituida para proporcionar compuestos **35** de esta invención. Las condiciones de reacción para el acoplamiento de amida son generalmente un disolvente aprótico (por ejemplo, DCM, NMP, DMF, etc.), en presencia de una base orgánica, tal como una amina alifática, (por ejemplo, trietilamina o DIPEA) y un agente de acoplamiento de amida conocido por los expertos en la materia: por ejemplo EDCI, TBTU, COMU, T3P, etc.

20

Etapa 2

25 En la etapa de formación de pirazol, el anión de la cianoamida **35** puede generarse con una base (tal como acetato de potasio o sodio) en un solvente apropiado tal como un alcohol (por ejemplo, etanol). El anión reacciona después con tricloroacetronitrilo a temperatura ambiente. El sólido resultante, que se pueden recoger por filtración, luego se hace reaccionar con hidracina (o su hidrato) en un disolvente aprótico, tal como DMF o NMP, para proporcionar el diaminopirazol **36**, el último se condensa adicionalmente con un compañero de acoplamiento dielectrofilico para formar la parte de pirimidina de los compuestos de fórmula **II** de esta invención.

30

Etapa 3

35 En la etapa de formación de pirimidina, el intermedio **36** reacciona con una especie 1,3-dielectrófila (por ejemplo, un 1,3-dialdehído o un 3-(dialquilamino)-prop-2-enal) en varios tipos de disolventes (por ejemplo, iPrOH/agua, DMF, o DMSO/agua) para suministrar los productos deseados **II**. Cuando uno o dos de los centros electrofilicos están protegidos/enmascarados (por ejemplo, aldehído enmascarado como acetal), se requiere la introducción de un ácido sulfónico (por ejemplo, PTSA) para liberar el grupo funcional reactivo.

Terapia de combinación ATR/Chk1

40

Ejemplo 1: Inhibición de Chk1 e inhibición ATR conduce a altos niveles de daño en ADN

45 Como se muestra en la Figura 1, el impacto de la inhibición de Chk1 por AZD7762 en los niveles de daño en ADN del tratamiento de células cancerosas con el inhibidor de ATR VE-821 se evaluó mediante la medición de la acumulación de γH2AX pan nuclear, un marcador ampliamente utilizado de daño en el ADN. Se detectó γH2AX por transferencia de Western. Las células cancerosas U2OS se incubaron durante la noche en placas de 96 pocillos y se trataron durante 8 h con DMSO AZD7762 (60 nM) y/o VE-821 (10 μM). Las células se tiñeron con el anticuerpo anti-fósforo (serina 139) histona H2AX como primario y Alexa 555 como secundario. Se usó Operetta para tomar imágenes, que se realizaron usando el software Columbus. Una intensidad ≥ 2000 UA se consideró como positiva para células γH2AX pan nucleares. Los datos se presentan como media ± SEM.

50

55 El tratamiento de las células cancerosas U2OS con el inhibidor de ATR VE-821 o con el inhibidor de Chk1 AZD7762 solo tuvo un impacto mínimo en el porcentaje de células positivas para γH2AX pan nuclear (<5 % de células fueron positivas para γH2AX pan nuclear). Por el contrario el tratamiento con ambos agentes condujo a >20 % de células con tinción positiva para γH2AX pan nuclear. Esto es consistente con un mayor daño en ADN. Estos datos respaldan que la combinación de inhibidores de Chk1 e inhibidores de ATR puede conducir a un mayor daño del ADN en células cancerosas.

Ejemplo 2a: La inhibición de Chk1 o la expresión de formas mutantes inactivas de Chk1 sensibilizan las células cancerosas a la inhibición de ATR

- 5 Por referencia a las Figuras 2a y 2b, el impacto de la inhibición de Chk1 o la expresión del mutante inactivo de Chk1 en la respuesta celular al inhibidor de ATR VE-821 se evaluó mediante un ensayo de supervivencia clonogénica en una variedad de células cancerosas. 500 células de U2OS, MCF-7, DLD-1, DLD-1 Chk-1^{S317A/-}, DLD-1 Chk-1^{+/-}, DLD-1 ATR^{S/S} y 1000 células de VH-10 se sembraron en placas de 10 cm. Después de 5 h de incubación (5 % CO₂ a 37 °C) de vehículo (0,05 % de DMSO max) se agregaron directamente varias concentraciones de inhibidor de ATR VE-821 a la placa que contenía el medio y se incubaron durante 72 horas. Al final de las 72 h de incubación, el vehículo y el medio que contenía el fármaco se reemplazaron con medios nuevos y se incubaron adicionalmente durante otros 5-8 días antes de que las placas se fijaran y tiñeran con azul de metileno al 4 % en MeOH y se contaran las colonias manualmente. Cada punto de datos representa un conjunto de datos triplicado ± SEM.
- 10
- 15 La inhibición de Chk1 por AZD7762 (20 nM) produjo un aumento de la sensibilidad al inhibidor de ATR VE-821 en células cancerosas MCF-7 y U2OS, pero no tuvo impacto en células no cancerosas VH10. Por ejemplo, el tratamiento de células MCF-7 y U2OS con 1 µM de VE-821 solo (una concentración mostrada previamente que inhibe aproximadamente el 50 % de la actividad ATR {ref publicación NCB}) dio como resultado una supervivencia clonogénica del 10-20 %. El tratamiento adicional con el inhibidor de Chk1, AZD7762, llevó a un 2 % o menos de supervivencia clonogénica en ambos sistemas celulares. La expresión de una forma mutante inactiva de células Chk1 igualmente sensibilizadas al inhibidor de ATR VE-821. Las células DLD-1 parentales no se vieron afectadas por el tratamiento con VE-822 (~100 % de viabilidad celular a 1 µM VE-821), a diferencia del tratamiento de células DLD-1 que expresan la forma mutante inactiva de Chk1 (S317A/-) con 1 µM VE-821 que condujo a menos del 3 % de células viables remanentes. Estos datos apoyan que la inhibición de Chk1 (o expresión de Chk1 inactivo) puede sensibilizar las células cancerosas a la inhibición de ATR, resultando en una reducción de la supervivencia celular, pero que las células no cancerosas pueden tolerar la combinación.
- 20
- 25

Ejemplo 2b: La expresión del oncogén cMYC sensibiliza las células a la combinación de inhibición de ATR y Chk1.

- 30 Por referencia a la Figura 2c, un par de líneas celulares isogénicas que difieren solo en la expresión del oncogén cMYC (células parentales HA1EB-GFP y células transformadas con cMYC, HA1EB-GFP-cMYC) se trataron con VE-821 solo (en concentraciones de hasta 5 µM), AZD7762 solo (30 nM) o la combinación de VE-821 y AZD7762 durante 72 horas. La viabilidad celular se evaluó mediante tinción con resazurina. Ni VE-821 ni AZD7762 tuvieron un efecto marcado en la viabilidad de las células parentales. Además, AZD7762 solo no afectó a la viabilidad de las células transformadas con cMYC. Por el contrario, VE-821 redujo la viabilidad de las células transformadas con cMYC (~40 % de células viables restantes) y la combinación redujo notablemente la viabilidad celular de células transformadas con cMYC (<5 % de células viables restantes).
- 35

Ejemplo 2c: La pérdida de la función de p53 y RB y la expresión del oncogén H-RAS sensibilizan las células a la combinación de la inhibición de ATR y Chk1.

- 40 Por referencia a la Figura 2d, se usaron un par de células isogénicas para evaluar el impacto de la pérdida de p53 y RB en la sensibilidad celular a la combinación de VE-821 y AZD7762 (células parentales BJ-hTERT frente a células BJ-SV40T que expresan el antígeno tumoral grande que inactiva la función p53 y RB). Además, el impacto de la expresión del oncogén H-RAS se evaluó en células BJ-SV40T transformadas con H-RAS activado (G12V) (BJ RAS). Las células se trataron con VE-821 solo (en concentraciones de hasta 5 µM), AZD7762 solo (30 nM) o la combinación de VE-821 y AZD7762 durante 72 horas. La viabilidad celular se evaluó mediante tinción con resazurina. AZD7762 solo no tuvo un efecto marcado en la viabilidad de ninguna de las líneas celulares. VE-821 solo redujo la viabilidad de las células transformadas con H-RAS (~60 % de células viables remanentes). Por el contrario, la combinación de VE-821 y AZD7762 redujo notablemente la viabilidad de las células inactivadas a p53 y RB (~30 % de células viables remanentes) y las células transformadas con H-RAS (<10 % de células viables remanentes).
- 45
- 50

Ejemplo 3: La inhibición de Chk1 sensibiliza los tumores a la inhibición de ATR.

- 55 El impacto de la inhibición de Chk1 en la respuesta del tumor al inhibidor de ATR VE-821 se evaluó en dos modelos diferentes de xenoinjerto de ratón en ratones desnudos Balb/C utilizando la línea celular de cáncer de mama MX-1 (Figuras 3a y 3b) y la línea celular de cáncer de pulmón H460 (Figuras 4a y 4b). En el caso del modelo MX-1, se inyectaron 2 millones de células en matrigel al 50 % en ratones desnudos y para el modelo H460, se inyectaron 5 millones de células en PBS en ratones desnudos. Después de 8-9 días de implantación, los animales se dividieron en 4 grupos de 5 animales según el tamaño del tumor; con volumen tumoral medio de 130 mm³. El primer grupo recibió una dosis de vehículo (10 % de succinato de D-α-Tocoferol polietilenglicol 1000 (sigma) en agua por sonda oral y 11,3 % de (2-hidroxipropil)-β ciclodextrina en solución salina normal por inyección intraperitoneal. El segundo grupo recibió 25 mg/kg de peso corporal del inhibidor de Chk1, AZD7762, disuelto en 11,3 % de (2-hidroxipropil)-β ciclodextrina en solución salina normal mediante inyección intraperitoneal. El tercer grupo recibió 60 mg/kg de peso corporal del inhibidor de ATR, VE-822, disuelto en 10 % de succinato de D-α-Tocoferol polietilenglicol 1000 en agua
- 60
- 65

por sonda oral. El 4º grupo recibió ambos; 25 mg/kg de peso corporal de AZD7762 disuelto en 11,3 % de (2-hidroxipropil)- β ciclodextrina en solución salina normal por inyección intraperitoneal y 60 mg/kg de peso corporal de VE-822 disuelto en 10 % de succinato de D- α -Tocoferol polietilenglicol 1000 en agua por sonda oral. El peso corporal y el volumen del tumor se midieron dos veces por semana. El volumen del tumor se midió con un calibrador y se

mostró como media $\pm$ SEM (longitud x ancho x ancho x 0,52).
 En el modelo de xenoinjerto de ratón MX-1, el tratamiento con el inhibidor de ATR VE-822 tuvo un impacto mínimo en el tamaño del tumor (Figura 3a) o en la supervivencia (Figura 3b). El tratamiento con el inhibidor de Chk1, AZD7762 redujo el crecimiento del tumor pero no tuvo impacto en la supervivencia. El tratamiento con ambos agentes juntos condujo a una mejor inhibición del crecimiento tumoral, en comparación con cualquiera de los agentes solos, y con una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia ($P < 0,05$). En el modelo de xenoinjerto de ratón H460, el tratamiento con el inhibidor de ATR VE-822 o el inhibidor de Chk1 AZD7762 solo tuvo un impacto mínimo en el tamaño del tumor (Figura 4a) o en la supervivencia (Figura 4b). Por el contrario, la combinación de ambos agentes dio como resultado una inhibición casi completa del crecimiento tumoral y una supervivencia prolongada. Para el crecimiento tumoral, la diferencia entre el grupo tratado en combinación y los grupos tratados con monoterapia alcanzó una significación estadística ($P < 0,05$). De manera similar para la supervivencia la diferencia entre el grupo de combinación y los grupos tratados con monoterapia alcanzó una significación estadística ($P < 0,01$). En ambos modelos, la combinación fue bien tolerada y no se observó pérdida de peso corporal. Estos datos respaldan que la combinación de inhibidores de Chk1 e inhibidores de ATR puede proporcionar una actividad antitumoral beneficiosa *in vivo*.

Ejemplo 4: La inhibición de Chk1 sensibiliza las células cancerosas al tratamiento combinado de un inhibidor de ATR y un agente que daña el ADN representativo

Por referencia a la Figura 5, el impacto de la inhibición de Chk1 por AZD7762 en la apoptosis celular del tratamiento con el inhibidor de ATR VE-821 y un agente que daña el ADN representativo, se evaluó la hidroxilurea (2 mM) midiendo los niveles de caspasa-3 escindida, un marcador ampliamente utilizado de apoptosis. Las células U2OS se trataron durante 24 h con el agente de daño de ADN hidroxilurea y dosis variadas de AZD7762 y/o VE-821. Las células se tiñeron posteriormente con anticuerpos anti-caspasa 3 escindida y β actina y se utilizó microscopía confocal para tomar y cuantificar las imágenes. Los datos se presentan como % de células positivas para caspasa-3 escindida. El tratamiento con hidroxilurea sola condujo a una activación mínima de la caspasa-3 ($< 0,5$ % de células positivas). La adición de cualquiera del inhibidor de Chk1, AZD7762 o el inhibidor de ATR VE-821 tuvieron un impacto mínimo en la escisión de caspasa-3 en comparación con el tratamiento con hidroxilurea sola (< 1 % de células positivas). En contraste, la combinación de ambos agentes condujo a una mayor escisión de caspasa-3 (> 4 % de células positivas). Estos datos respaldan que el tratamiento combinado con un inhibidor de Chk1 y ATR puede sensibilizar las células a un agente que daña el ADN.

Ejemplo 5: La activación de ATR por un inhibidor de Chk-1 es alta en las células cancerosas, pero no en células normales

Como se muestra en las Figuras 6a y 6b, las células cancerosas U2OS (Figura 6a) y las células de fibroblastos VH-10 normales (Figura 6b) se trataron durante 3 h con DMSO, AZD7762 (300 nM), inhibidor de ATR VE-821 (20 μ M) y su combinación. Las células se fijaron en PFA al 4 % y se tiñeron con el anticuerpo anti-fosfo(serina 139)histona H2AX (anticuerpo primario) y Alexa 555 (anticuerpo secundario). Una lectura de más de 9 focos de γ H2AX por célula se consideró una célula positiva. Los histogramas muestran la media $\pm$ SEM ($n = 3$). Esto muestra que la inhibición de Chk1 puede conducir a activación de sustratos ATR en células cancerosas pero no en no cancerosas.

En otro ejemplo, mostrado en las Figuras 6c y 6d, se evaluó el impacto de la inhibición de Chk1 por AZD-7762 y la inhibición de ATR por VE-821 en los niveles de daño en ADN de células cancerosas nuevamente midiendo la acumulación de γ H2AX pan-nuclear, un indicador ampliamente utilizado de altos niveles de daño en ADN (Figura 6c) y mediante ensayo de cometa alcalina, que mide las roturas de ADN (Figura 6d). Las células cancerosas U2OS se trataron durante 24 h con DMSO, AZD-7762 (30 nM) y/o VE-821 (10 μ M). Para la evaluación de γ H2AX, las células se tiñeron luego con antifosfo (serina 139) histona H2AX como anticuerpo primario y un anticuerpo secundario fluorescente, y se usó el microscopio de fluorescencia Operetta para tomar imágenes que se analizaron utilizando el software Columbus. Las células con nueve o más focos de γ H2AX se consideraron positivas a γ H2AX. Las células con γ H2AX manchado y sin focos distinguibles se consideraron positivas a células γ H2AX pan-nucleares. Para la evaluación de roturas de ADN por ensayo de cometa, las células se procesaron mediante electroforesis en gel de agarosa en condiciones desnaturalizantes alcalinas y el ADN se tiñó con colorante YOYO-1. El microscopio de fluorescencia Operetta se utilizó para tomar imágenes que se analizaron con el software Cometscore. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM.

El tratamiento de células cancerosas U2OS con el inhibidor de ATR VE-821 o el inhibidor de Chk1 AZD-7762 solo, o el tratamiento con ambos agentes, tuvo un impacto mínimo en el porcentaje de células γ H2AX positivas en este momento (24 h). El tratamiento con VE-821 o AZD-7762 solo tuvo un impacto mínimo en el porcentaje de células positivas para γ H2AX pan-nuclear (< 5 % de células positivas) o que presentan momentos de cola de cometa indicativos de roturas de ADN (< 10 % de células positivas). En contraste el tratamiento con ambos agentes condujo al

50 % de células con tinción positiva para γ H2AX pan-nuclear (Figura 6c) y el 30 % de células que muestran colas de cometa (Figura 6d). Estos resultados indican que la combinación de inhibidores de Chk1 e inhibidores de ATR puede llevar a un aumento del daño del ADN en las células cancerosas.

5 **Ejemplo 6: La combinación de un inhibidor de ATR y un inhibidor de Chk-1 induce la formación de ADN monocatenario**

Por referencia a las Figuras 7a y 7b, las células cancerosas U2OS y las células de fibroblastos normales VH-10 se trataron durante 24 h con las dosis que se muestran en las figuras. Después del tratamiento, las células se extrajeron
10 previamente para retirar por lavado la fracción de RPA no unida a cromatina y se fijaron en PFA al 4 %. Las células se tiñeron con anticuerpo anti RPA 32; las imágenes se tomaron usando un microscopio confocal y se analizaron con el software Image J. Una intensidad media ≥ 70 UA por célula se consideró como célula positiva. Los datos cuantitativos de U2OS y VH-10 respectivamente, $n = 3$, media $\pm$ SEM. Esto muestra que la inhibición de Chk1 conduce a un ADNmc elevado (un marcador de estrés de replicación), que mejora por inhibición de ATR, en células cancerosas
15 pero no en no cancerosas.

Ejemplo 7: La combinación de un inhibidor de ATR y un inhibidor de Chk1 elimina sinérgicamente células cancerosas, pero no células normales

20 Como se muestra en las Figuras 8a-8 g, múltiples líneas celulares cancerosas (células cancerosas U2OS (a), H460 (c), MX-1 (d), HCT-116 (e), MCF7 (f) y HL60 (h)), así como fibroblastos y células endoteliales normales (VH-10 (b) y HUVAC (g)), se sembraron en placas de 96 pocillos y se trataron durante 72 h con las dosis indicadas en las figuras. El ensayo basado en resazurina se utilizó para medir la viabilidad de las células después de introducción de VE-821 y AZD7762 solos o en combinación. La interacción del fármaco se analizó usando el software Compusyn. Un índice
25 de CI inferior a 1 se considera interacción sinérgica. Datos cuantitativos $n = 3$, media $\pm$ SEM. Las figuras muestran la viabilidad de líneas celulares particulares contra los inhibidores solos o en combinación. Por referencia de nuevo a las Figuras 8a-8 g, también se proporciona el gráfico de interacción del fármaco adjunto para cada línea celular después de administrar tanto VE-821 como AZD7762. Como se muestra en los gráficos tanto de viabilidad celular como de interacción del fármaco, la combinación de inhibidores de ATR y Chk1 tiene citotoxicidad sinérgica en todas las líneas celulares de cáncer analizadas pero no en células no cancerosas. Esto sugiere que la combinación de inhibidores de
30 ATR y Chk1 se podría usar para eliminar células tumorales sin dañar el tejido normal.

Ejemplo 8: La inhibición de Chk1 y ATR no conduce a altos niveles de daño en ADN en células normales

35 Como se muestra en la Figura 9, el impacto de la inhibición de Chk1 por AZD-7762 y la inhibición de ATR por VE-821 en los niveles de daño en ADN en células normales se evaluó midiendo la acumulación de γ H2AX pan-nuclear, un indicador ampliamente utilizado de altos niveles de daño en ADN, y midiendo la acumulación de focos discretos de γ H2AX y 53BP1, que son marcadores de niveles inferiores de daño en ADN. Los fibroblastos VH-10 normales se trataron durante 24 h con DMSO, AZD-7762 (30 nM o 60 nM) y/o VE-821 (10 μ M). Las células se tiñeron luego con anticuerpo anti-fosfo (serina 139), histona H2AX y anti-53BP1 como anticuerpos primarios, y anticuerpos secundarios
40 fluorescentes, y se usó el microscopio de fluorescencia Operetta para tomar imágenes que se analizaron utilizando el software Columbus. Las células con nueve o más focos γ H2AX o 53BP1 se consideraron positivas a γ H2AX o 53BP1. Las células con γ H2AX manchado y sin focos distinguibles se consideraron positivas a células γ H2AX pan-nucleares. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM.

45 El tratamiento de células VH10 normales con el inhibidor de ATR VE-821 o el inhibidor de Chk1 AZD-7762 solo, o el tratamiento con ambos agentes, tuvo un impacto mínimo en el porcentaje con tinción positiva a foco de γ H2AX, positiva a foco de 53BP1 o positiva a γ H2AX pan-nuclear. Específicamente, el tratamiento con ambos agentes condujo a <2 % de células con tinción positiva a γ H2AX pan-nuclear (Figura 5b). Estos resultados sugieren que la combinación de inhibidores de Chk1 e inhibidores de ATR no conduce a un aumento del daño del ADN en células normales.
50

Ejemplo 9: El inhibidor de ATR VE-822 se sinergiza con varios inhibidores de Chk

Como se muestra en las Figuras 10 a-d, se trataron células cancerosas HT29 por triplicado con VX-970 y los
55 inhibidores de Chk indicados durante 96 h, cuando se midió la viabilidad celular por ensayo MTS. La sinergia se analizó en el intervalo del 95 % utilizando el software MacSynergy II.

Todos los inhibidores de Chk ensayados mostraron citotoxicidad sinérgica en combinación con el inhibidor de ATR VE-822, incluyendo el inhibidor doble de Chk1 y Chk2 AZD-7762 (a) y el inhibidor selectivo de Chk1 SCH-900776 (d).
60 Estos resultados sugieren que un inhibidor de ATR puede sinergizar eficazmente con diferentes inhibidores clínicos de Chk1 en células cancerosas.

Ensayos**Ejemplo 10: Ensayo de inhibición de ATR celular**

5 Los compuestos se pueden cribar por su capacidad de inhibir la ATR intracelular utilizando un ensayo de microscopía de inmunofluorescencia para detectar la fosforilación de la histona H2AX en el sustrato de ATR en células tratadas con hidroxurea. Se siembran células HT29 en placas a 14.000 células por pocillo en placas de imágenes negras de 96 pocillos (BD 353219) en medio 5A de McCoy (Sigma M8403) suplementado con suero bovino fetal al 10 % (JRH Biosciences 12003), solución de penicilina/estreptomicina diluida 1:100 (Sigma P7539) y L-glutamina 2 mM (Sigma G7513), y se dejaron adherir durante la noche a 37°C en 5 % de CO₂. Los compuestos se agregan después a los
10 medios celulares a partir de una concentración final de 25 µM en diluciones en serie 3 veces y las células se incuban a 37°C en 5 % de CO₂. Después de 15 min, se agrega hidroxurea (Sigma H8627) a una concentración final 2 mM.

Tras 45 min de tratamiento con hidroxurea, se lavaron las células en PBS, fijan durante 10 min en formaldehído al 4 % diluido en PBS (Polysciences Inc 18814), lavan en Tween-20 al 0,2 % en PBS (tampón de lavado) y permeabilizan durante 10 min en Triton X-100 al 0,5 % en PBS, todo a temperatura ambiente. A continuación, las células se lavan una vez en tampón de lavado y se bloquean durante 30 min a temperatura ambiente en suero de cabra al 10 % (Sigma G9023) diluido en tampón de lavado (tampón de bloque). Para detectar los niveles de fosforilación de H2AX, las células se incubaron a continuación durante 1 h a temperatura ambiente en anticuerpo primario (anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra histona H2AX Ser139 fosforilada; Upstate 05-636) diluido 1:250 en tampón de bloqueo. A continuación se lavaron las células cinco veces en tampón de lavado antes de la incubación durante 1 h a temperatura ambiente en la oscuridad en una mezcla de anticuerpo secundario (anticuerpo de cabra conjugado con Alexa Fluor 488 dirigido contra Ig de ratón; Invitrogen A11029) y tinción Hoechst (Invitrogen H3570); diluido 1:500 y 1:5000, respectivamente, en tampón de lavado. A continuación se lavaron las células cinco veces en tampón de lavado y finalmente, se añadieron 100 µl de PBS a cada pocillo antes de la formación de imágenes.

Se formaron imágenes de las células con la intensidad de Alexa Fluor 488 y Hoechst utilizando el BD Pathway 855 Bioimager y el software Attovision (BD Biosciences, Versión 1.6/855) para cuantificar H2AX Ser139 y la tinción del ADN, respectivamente. El porcentaje de núcleos positivos para H2AX fosforilada en un montaje de 9 imágenes a un aumento de 20x se calculó a continuación para cada pocillo utilizando el software BD Image Data Explorer (BD Biosciences Versión 2.2.15). Los núcleos positivos para H2AX fosforilada se definen como regiones de interés positivas para Hoechst que contienen la intensidad Alexa Fluor 488 a 1,75 veces la intensidad promedio de Alexa Fluor 488 en células no tratadas con hidroxurea. El porcentaje de núcleos positivos para H2AX se representa finalmente frente a la concentración de cada compuesto y se determinan las CI₅₀ para la inhibición de ATR intracelular utilizando el software Prism (GraphPad Prism versión 3.0cx para Macintosh, GraphPad Software, San Diego California, EE.UU.).

Se pueden ensayar también los compuestos descritos en este documento según otros métodos conocidos en la técnica (véase Sarkaria *et al.*, "Inhibition of ATM and ATR Kinase Activities by the Radiosensitizing Agent, Caffeine: *Cancer Research* 59: 4375-5382 (1999); Hickson *et al.*, "Identification and Characterization of a Novel and Specific Inhibitor of the Ataxia-Telangiectasia Mutated Kinase ATM" *Cancer Research* 64: 9152-9159 (2004); Kim *et al.*, "Substrate Specificities and Identification of Putative Substrates of ATM Kinase Family Members" *The Journal of Biological Chemistry*, 274(53): 37538-37543 (1999); y Chiang *et al.*, "Determination of the catalytic activities of mTOR and other members of the phosphoinositide-3-kinase-related kinase family" *Methods Mol. Biol.* 281:125-41 (2004)).

Ejemplo 11: Ensayo de inhibición de ATR

Los compuestos se pueden analizar por su capacidad para inhibir quinasa ATR utilizando un ensayo de incorporación de fosfato radioactivo. Los ensayos se llevan a cabo en una mezcla de Tris/HCl 50 mM (pH 7,5), MgCl₂ 10 mM y TDT 1 mM. Las concentraciones finales de sustrato son 10 µM [γ -33P] ATP (3 mCi 33P ATP/mmol ATP, Perkin Elmer) y péptido diana 800 µM (ASELPASQPQPFSAKKK).

Los ensayos se realizan a 25 °C en presencia de ATR de longitud completa 5 nM. Se prepara una solución tampón madre de ensayo que contiene todos los reactivos enumerados anteriormente, con la excepción de ATP y el compuesto de ensayo de interés. Se colocaron 13,5 µl de la solución madre en una placa de 96 pocillos, seguido de adición de 2 µl de solución de DMSO que contenía diluciones en serie del compuesto de ensayo (generalmente a partir de una concentración final 15 µM con diluciones en serie 3 veces) por duplicado (concentración final de DMSO 7 %). La placa se preincuba durante 10 minutos a 25 °C y la reacción se inicia añadiendo 15 µl [γ -33P] ATP (concentración final 10 µM).

La reacción se detiene después de 24 horas añadiendo 30 µl de ácido fosfórico 0,1 M que contiene ATP 2 mM. Una placa de 96 pocillos con filtro de fosfocelulosa multipantalla (Millipore, N° de cat. MAPHN0B50) se trata previamente con 100 µl de ácido fosfórico 0,2 M antes de añadir 45 µl de la mezcla de ensayo de parada. La placa se lava con 5 x 200 µl de ácido fosfórico 0,2 M. Después de secarse, se añadieron 100 µl del cóctel de centelleo líquido Optiphase 'SuperMix' (Perkin Elmer) al pozo antes del recuento de centelleo (1450 Microbeta Liquid Scintillation Counter, Wallac).

Tras eliminar los valores de fondo promedio de todos los puntos de datos, los datos de $K_i(ap)$ se calculan a partir de análisis de regresión no lineal de los datos de tasa inicial utilizando el paquete de software Prism (GraphPad Prism versión 3.0cx para Macintosh, GraphPad Software, San Diego California, EE.UU.).

5 Ejemplo 12: Ensayo de sensibilización a cisplatino

Los compuestos pueden analizarse para su capacidad de sensibilizar células cancerosas colorrectales HCT116 a cisplatino utilizando un ensayo de viabilidad celular de 96 h (MTS). Células HCT116, que poseen un defecto en la señalización de ATM al cisplatino (véase, Kim et al.; *Oncogene* 21:3864 (2002); véase también, Takemura et al.; *JBC* 281: 30814 (2006)) se siembran a 470 células por pocillo en placas de poliestireno de 96 pocillos (Costar 3596) en 150 μ l del medio 5A de McCoy (Sigma M8403) suplementado con suero bovino fetal al 10 % (JRH Biosciences 12003), solución de penicilina/estreptomicina diluida 1:100 (Sigma P7539) y L-glutamina 2 mM (Sigma G7513), y se dejan adherir durante la noche a 37 °C en 5 % de CO₂. Los compuestos y el cisplatino se agregan luego simultáneamente a los medios celulares en diluciones en serie 2 veces desde una concentración final superior de 10 μ M como matriz completa de concentraciones en un volumen celular final de 200 μ l, y las células se incuban a 37 °C en 5 % de CO₂. Después de 96 h, se añaden 40 μ l de reactivo MTS (Promega G358a) a cada pocillo y las células se incuban durante 1 hora a 37 °C en 5 % de CO₂. Finalmente, la absorbancia se mide a 490 nm con un lector SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices) y se puede informar la concentración de compuesto requerida para reducir la CI50 de Cisplatino solo al menos 3 veces (hasta 1 decimal)

20 Ejemplo 13: Actividad del agente único HCT116

Los compuestos pueden analizarse para determinar la actividad de un solo agente contra células cancerosas colorrectales HCT116 utilizando un ensayo de viabilidad celular de 96 h (MTS). Se siembran HCT116 en placas a 470 células por pocillo en placas de poliestireno de 96 pocillos (Costar 3596) en 150 μ l de medio 5A de McCoy (Sigma M8403) suplementado con suero bovino fetal al 10 % (JRH Biosciences 12003), solución de penicilina/estreptomicina diluida 1:100 (Sigma P7539) y L-glutamina 2 mM (Sigma G7513), y se dejan adherir durante la noche a 37 °C en 5 % de CO₂. Luego, los compuestos se añaden al medio celular en diluciones en serie 2 veces desde una concentración final superior a 10 μ M como matriz completa de concentraciones en un volumen celular final de 200 μ l, y las células se incuban a 37 °C en 5 % de CO₂. Después de 96 h, se añaden 40 μ l de reactivo MTS (Promega G358a) a cada pocillo y las células se incuban durante 1 hora a 37 °C en 5 % de CO₂. Finalmente, la absorbancia se mide a 490 nm con un lector SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices) y se pueden calcular los valores de CI50.

35 Ejemplo 14: Ensayo de inhibición del complejo ATR

Los compuestos se analizaron para su capacidad para inhibir la quinasa ATR, en presencia de proteínas asociadas ATRIP, CLK2 y TopBP1, utilizando un ensayo de incorporación de fosfato radioactivo. Los ensayos se llevaron a cabo en una mezcla de Tris/HCl 50 mM (pH 7,5), MgCl₂ 10 mM y TDT 1 mM. Las concentraciones finales de sustrato fueron 10 μ M [g-33P] ATP (3,5 μ Ci 33P ATP/nmol ATP, Perkin Elmer, Massachusetts, EE. UU.) y péptido diana 800 μ M (ASELPASQPQPFSAKKK, Isca Biochemicals, Cambridgeshire, UK).

Los ensayos se realizaron a 25 °C en presencia de ATR de longitud completa 4 nM, ATRIP de longitud completa 40 nM, CLK2 de longitud completa 40 nM y TopBP1 600 nM (A891-S1105). Se preparó una solución madre enzimática que contiene todos los reactivos enumerados anteriormente, con la excepción del péptido diana, ATP y el compuesto de ensayo de interés. Esta solución madre enzimática se preincubó durante 30 minutos a 25 °C. Se colocaron 8,5 μ l de la solución madre enzimática en una placa de 96 pocillos, seguido de la adición de 5 μ l de péptido diana y 2 μ l de solución madre de DMSO que contenía diluciones seriadas del compuesto de ensayo (generalmente a partir de una concentración final 1,5 μ M con 2,5 diluciones seriadas en serie) por duplicado (concentración final de DMSO 7 %). La placa se preincubó durante 10 minutos a 25 °C y la reacción se inició mediante la adición de 15 μ l de [g-33P] ATP (concentración final 10 μ M).

La reacción se detuvo después de 20 horas de la adición de 30 μ l de ácido fosfórico 0,3 M que contenía ATP 2 mM. Una placa de filtro de fosfocelulosa de 96 pocillos (Multiscreen HTS MAPHNOB50, Merck-Millipore, Massachusetts, EE. UU.) se trató previamente con 100 μ l de ácido fosfórico 0,1 M antes de añadir 45 μ l de mezcla de ensayo de parada. La placa se lavó con 5 x 200 μ l de ácido fosfórico 0,1 M. Después de secarse, se añadieron 50 μ l de cóctel de centelleo líquido Optiphase 'SuperMix' (Perkin Elmer, Massachusetts, EE. UU.) al pocillo antes del recuento de centelleo (Contador de centelleo de líquido Microbeta Wallac 1450, Perkin Elmer, Massachusetts, EE.UU.).

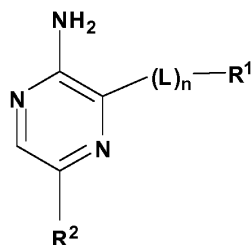
Tras eliminar los valores de fondo promedio de todos los puntos de datos, Los datos de $K_i(ap)$ se calcularon a partir de análisis de regresión no lineal de los datos de tasa inicial utilizando el paquete de software Prism (GraphPad Prism versión 6.0c para Macintosh, GraphPad Software Inc., San Diego, EE. UU.).

Aunque los inventores han descrito numerosas realizaciones de esta invención, es evidente que nuestros ejemplos básicos pueden modificarse para proporcionar otras realizaciones que utilizan los compuestos, métodos, y procesos de esta invención. Por tanto, se apreciará que el alcance de esta invención debe definirse mediante las reivindicaciones

adjuntas en lugar de mediante las realizaciones específicas que se han representado a modo de ejemplo en este documento.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y
un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1;
5 para uso en el tratamiento del cáncer en un paciente,
en donde el compuesto que inhibe ATR está representado por la Fórmula I;



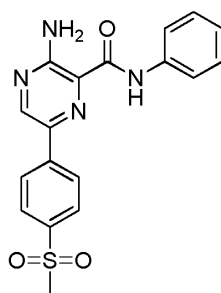
I

- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde
R¹ es un anillo de arilo o heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados
independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, en donde dicho anillo de arilo o heteroarilo monocíclico está
opcionalmente fusionado con otro anillo para formar un anillo de arilo o heteroarilo bicíclico de 8-10 miembros que
tiene 0-6 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre; cada R¹ está
15 opcionalmente sustituido con 1-5 grupos J¹;
R² es un anillo de arilo o heteroarilo monocíclico de 5-6 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados
independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre, en donde dicho anillo de arilo o heteroarilo monocíclico está
opcionalmente fusionado con otro anillo para formar un anillo de arilo o heteroarilo bicíclico de 8-10 miembros que
tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre; cada R² está
20 opcionalmente sustituido con 1-5 grupos J²;
L es -C(O)NH- o -C(O)N(alquilo C₁₋₆)-;
n es 0 o 1;
cada J¹ y J² es independientemente halo, -CN, -NO₂, -V¹-R, o -(V²)_m-Q;
V¹ es una cadena alifática C₁₋₁₀ en donde 0-3 unidades de metileno están reemplazadas opcional e
independientemente con O, NR¹, S, C(O), S(O), o S(O)₂; V¹ está opcionalmente sustituido con 1-6 apariciones de J^{V1};
25 V² es una cadena alifática C₁₋₁₀ en donde 0-3 unidades de metileno están reemplazadas opcional e
independientemente con O, NR¹, S, C(O), S(O), o S(O)₂; V² está opcionalmente sustituido con 1-6 apariciones de J^{V2};
m es 0 o 1;
Q es un anillo monocíclico saturado o insaturado de 3-8 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados
independientemente entre nitrógeno, oxígeno, y azufre, o un anillo bicíclico saturado o insaturado de 9-10 miembros
que tiene 0-6 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre; cada Q está
opcionalmente sustituido con 0-5 J^Q;
30 cada J^{V1} o J^{V2} es independientemente halógeno, CN, NH₂, NO₂, alifático C₁₋₄, NH(alifático C₁₋₄), N(alifático C₁₋₄)₂, OH,
O(alifático C₁₋₄), CO₂H, CO₂(alifático C₁₋₄), C(O)NH₂, C(O)NH(alifático C₁₋₄), C(O)N(alifático C₁₋₄)₂, NHCO(alifático C₁₋₄),
N(alifático C₁₋₄)CO(alifático C₁₋₄), SO₂(alifático C₁₋₄), NHSO₂(alifático C₁₋₄), o N(alifático C₁₋₄)SO₂(alifático C₁₋₄), en
donde dicho alifático C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con halo;
R es H o alifático C₁₋₆ en donde dicho alifático C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1-4 apariciones de NH₂,
NH(alifático C₁₋₄), N(alifático C₁₋₄)₂, halógeno, alifático C₁₋₄, OH, O(alifático C₁₋₄), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(alifático C₁₋₄),
CO(alifático C₁₋₄), O(haloalifático C₁₋₄), o haloalifático C₁₋₄;
40 cada J^Q es independientemente halo, oxo, CN, NO₂, X-R, o -(X)_p-Q⁴;
p es 0 o 1;
X es alifático C₁₋₁₀; en donde 1-3 unidades de metileno de dicho alifático C₁₋₆ están reemplazadas opcionalmente con
-NR, -O-, -S-, C(O), S(O)₂, o S(O); en donde X está opcional e independientemente sustituido con 1-4 apariciones de
NH₂, NH(alifático C₁₋₄), N(alifático C₁₋₄)₂, halógeno, alifático C₁₋₄, OH, O(alifático C₁₋₄), NO₂, CN, CO(alifático C₁₋₄),
45 CO₂H, CO₂(alifático C₁₋₄), C(O)NH₂, C(O)NH(alifático C₁₋₄), C(O)N(alifático C₁₋₄)₂, SO(alifático C₁₋₄), SO₂(alifático C₁₋₄),
SO₂NH(alifático C₁₋₄), SO₂N(alifático C₁₋₄)₂, NHC(O)(alifático C₁₋₄), N(alifático C₁₋₄)C(O)(alifático C₁₋₄), en donde dicho
alifático C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con 1-3 apariciones de halo;
Q⁴ es un anillo monocíclico saturado o insaturado de 3-8 miembros que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados
independientemente entre nitrógeno, oxígeno, y azufre, o un anillo bicíclico saturado o insaturado de 8-10 miembros
50 que tiene 0-6 heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre; cada Q⁴ está
opcionalmente sustituido con 1-5 J^{Q4};
J^{Q4} es halo, CN, o alquilo C₁₋₄ en donde hasta 2 unidades de metileno están reemplazadas opcionalmente con O, NR¹,
S, C(O), S(O), o S(O)₂;
R es H o alquilo C₁₋₄ en el que dicho alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con 1-4 halo;

R', R'', y R* son cada uno independientemente H, alquilo C₁₋₄, o está ausente; en donde dicho alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con 1-4 halo.

2. Un compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 1, en donde el cáncer tiene uno o más defectos en la ruta de señalización ATM.

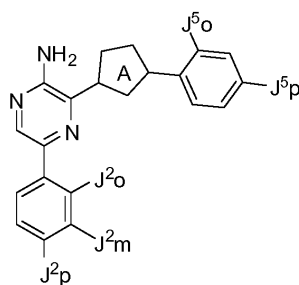
3. Un compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el compuesto que inhibe ATR es



VE-821

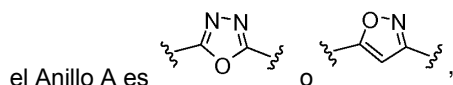
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Un compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el compuesto que inhibe ATR está representado por la Fórmula Ia:

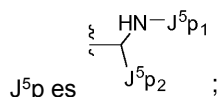


I-a:

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde



J^{5o} es H, F, Cl, alifático C₁₋₄, O(alifático C₁₋₃), u OH;



J^{5p1} es H, alifático C₁₋₄, oxetanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo; en donde J^{5p1} está opcionalmente sustituido con 1-2 apariciones de OH o halo;

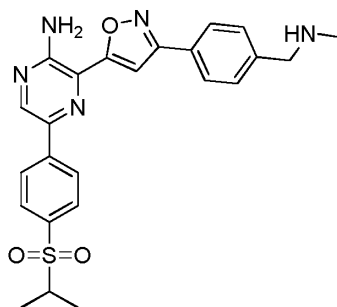
J^{5p2} es h, metilo, etilo, CH₂F, CF₃, o CH₂OH;

J^{2o} es H, CN, o SO₂CH₃;

J^{2m} es H, F, Cl, o metilo;

J^{2p} es -SO₂(alquilo C₁₋₆), -SO₂(cicloalquilo C₃₋₆), -SO₂(heterociclilo de 4-6 miembros), -SO₂(alquilo C₁₋₄)N(alquilo C₁₋₄)₂, o -SO₂(alquilo C₁₋₄)-(heterociclilo de 4-6 miembros), en donde dicho heterociclilo contiene 1 heteroátomo seleccionado entre oxígeno, nitrógeno y azufre; y en donde dicho J^{2p} está opcionalmente sustituido con 1-3 apariciones de halo, OH u O(alquilo C₁₋₄).

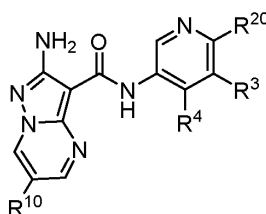
5. Un compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 4, en donde el compuesto que inhibe ATR es



VE-822

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Un compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1; para uso en el tratamiento del cáncer en un paciente, en donde el compuesto que inhibe ATR está representado por la Fórmula II:



II

o una sal farmacéuticamente del mismo, en donde:

R^{10} se selecciona independientemente entre fluoro, cloro, y $-C(J^{10})_2CN$;

J^{10} se selecciona independientemente entre H y alquilo C_{1-2} ; o

dos apariciones de J^{10} , junto con el átomo de carbono al que están unidas, forman un anillo carbocíclico opcionalmente sustituido de 3-4 miembros;

R^{20} se selecciona independientemente entre H; halo; $-CN$; NH_2 ; un alquilo C_{1-2} opcionalmente sustituido con 0-3 apariciones de fluoro; y una cadena alifática C_{1-3} en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con $-O-$, $-NR^a-$, $-C(O)-$, o $-S(O)_z$;

R^3 se selecciona independientemente entre H; halo; alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido con 1-3 apariciones de halo; cicloalquilo C_{3-4} ; $-CN$; y una cadena alifática C_{1-3} en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con $-O-$, $-NR^a-$, $-C(O)-$, o $-S(O)_z$;

R^4 se selecciona independientemente entre Q^1 y una cadena alifática C_{1-10} en donde hasta cuatro unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con $-O-$, $-NR^a-$, $-C(O)-$, o $-S(O)_z$; cada R^4 está opcionalmente sustituido con 0-5 apariciones de J^{Q1} ; o

R^3 y R^4 , tomados junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo aromático o no aromático de 5-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; el anillo formado por R^3 y R^4 está opcionalmente sustituido con 0-3 apariciones de J^2 ;

Q^1 se selecciona independientemente entre un anillo monocíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 3-7 miembros, teniendo el anillo de 3-7 miembros 0-3 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; y un anillo bicíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 7-12 miembros que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre;

J^2 se selecciona independientemente entre alifático C_{1-6} , $=O$, halo, y $\rightarrow O$;

J^{Q1} se selecciona independientemente entre $-CN$; halo; $=O$; Q^2 ; y una cadena alifática C_{1-8} en donde hasta tres unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con $-O-$, $-NR^a-$, $-C(O)-$, o $-S(O)_z$; cada aparición de J^{Q1} está opcionalmente sustituida con 0-3 apariciones de J^R ; o

dos apariciones de J^{Q1} en el mismo átomo, tomadas junto con el átomo al que están unidas, forman un anillo de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde el anillo formado por dos apariciones de J^{Q1} está opcionalmente sustituido con 0-3 apariciones de J^X ; o

dos apariciones de J^{Q^1} , junto con Q^1 , forman un sistema anular con puente saturado o parcialmente insaturado de 6-10 miembros;

Q^2 se selecciona independientemente entre un anillo monocíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 3-7 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; y un anillo bicíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 7-12 miembros que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre;

J^R se selecciona independientemente entre -CN; halo; =O; $\rightarrow$ O; Q^3 ; y una cadena alifática C_{1-6} en donde hasta tres unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z-; cada J^R está opcionalmente sustituido con 0-3 apariciones de J^I ; o

dos apariciones de J^R en el mismo átomo, junto con el átomo al que están unidas, forman un anillo de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; en donde el anillo formado por dos apariciones de J^R está opcionalmente sustituido con 0-3 apariciones de J^X ; o

dos apariciones de J^R , junto con Q^2 , forman un sistema anular con puente saturado o parcialmente insaturado de 6-10 miembros;

Q^3 es un anillo monocíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 3-7 miembros que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; o un anillo bicíclico completamente saturado, parcialmente insaturado o aromático de 7-12 miembros que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre;

J^X se selecciona independientemente entre -CN; =O; halo; y una cadena alifática C_{1-4} en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z-;

J^I se selecciona independientemente entre halo, -CN; $\rightarrow$ O; =O; -OH; una cadena alifática C_{1-6} en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z-; y un anillo no aromático de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; cada aparición de J^I está opcionalmente sustituida con 0-3 apariciones de J^M ; o

dos apariciones de J^I en el mismo átomo, junto con el átomo al que están unidas, forman un anillo de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; o

dos apariciones de J^I , junto con Q^3 , forman un sistema anular con puente saturado o parcialmente insaturado de 6-10 miembros;

J^M se selecciona independientemente entre halo y alifático C_{1-6} ;

J es H o Cl;

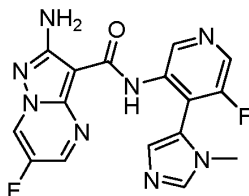
z es 0, 1 o 2; y

R^a se selecciona independientemente entre H y alifático C_{1-4} .

7. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 6, en donde R¹⁰ y R³ son fluoro.

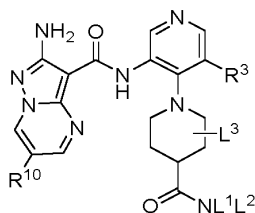
8. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 7, en donde R⁴ es Q¹; opcionalmente en donde Q¹ se selecciona independientemente entre piperidinilo e imidazolilo.

9. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 8, en donde el compuesto que inhibe ATR está representado por la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 6, en donde el compuesto que inhibe ATR está representado por la Fórmula II-a:



II-a

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

R¹⁰ se selecciona independientemente entre fluoro, cloro, y -C(J¹⁰)₂CN;

5 J¹⁰ se selecciona independientemente entre H y alquilo C₁₋₂; o

dos apariciones de J¹⁰, junto con el átomo de carbono al que están unidas, forman un anillo carbocíclico de 3-4 miembros opcionalmente sustituido;

10 R³ se selecciona independientemente entre H; cloro; fluoro; alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido con 1-3 apariciones de halo; cicloalquilo C₃₋₄; -CN; y una cadena alifática C₁₋₃ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z;

15 L¹ es H; un anillo aromático o no aromático de 3-7 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; o una cadena alifática C₁₋₆ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z; cada L¹ está opcionalmente sustituido con alifático C₁₋₄; -CN; halo; -OH; o un anillo no aromático de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre;

20 L² es H; un anillo aromático o no aromático de 3-7 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; o una cadena alifática C₁₋₆ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena alifática están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z; cada L² está opcionalmente sustituido con alifático C₁₋₄; -CN; halo; -OH; o un anillo no aromático de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; o

L¹ y L², junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un Anillo D; el Anillo D está opcionalmente sustituido con 0-5 apariciones de J^G;

25 L³ es H; alifático C₁₋₃; o CN;

el Anillo D se selecciona independientemente entre un anillo de heterociclilo de 3-7 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; y un anillo bicíclico completamente saturado o parcialmente insaturado de 7-12 miembros que tiene 1-5 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre;

30 J^G se selecciona independientemente entre halo; -CN; -N(R^o)₂; →O; un carbociclilo de 3-6 miembros; un heterociclilo de 3-6 miembros que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; y una cadena de alquilo C₁₋₄ en donde hasta dos unidades de metileno de la cadena de alquilo están reemplazadas opcionalmente con -O-, -NR^a-, -C(O)-, o -S(O)_z; cada J^G está opcionalmente sustituido con 0-2 apariciones de J^K;

35 dos apariciones de J^G en el mismo átomo, junto con el átomo al que están unidas, forman un anillo de 3-6 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre; o

dos apariciones de J^G, junto con el Anillo D, forman un sistema anular con puente saturado o parcialmente insaturado de 6-10 miembros;

40 J^K es un anillo aromático o no aromático de 3-7 miembros que tiene 0-2 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, nitrógeno y azufre;

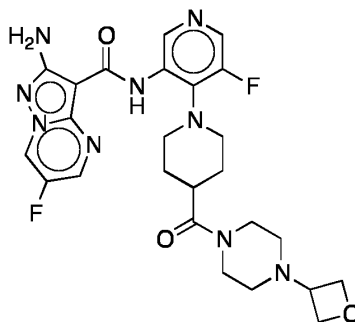
z es 0, 1 o 2; y

R^a y R^o son H o alquilo C₁₋₄.

45 11. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 10, en donde R¹⁰ y R³ son fluoro.

12. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 11, en donde el compuesto que inhibe ATR está representado por la estructura:

50



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 13. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el tratamiento de cáncer comprende además administrar a dicho paciente uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados independientemente entre un agente que daña el ADN; en donde dicho agente terapéutico adicional es adecuado para la enfermedad que se trata; y dicho agente terapéutico adicional se administra junto con dichos compuestos como una forma de dosificación individual o por separado de dichos compuestos como parte de una forma de dosificación múltiple.

14. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 13, en donde dicho agente que daña el ADN se selecciona entre quimioterapia o tratamiento de radiación; radiación ionizante, neocarzinostatin radiomimético, un agente platinante, un inhibidor de Topo I, un inhibidor de Topo II, un antimetabolito, un agente alquilante, un sulfonato de alquilo, o un antibiótico.

15. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 14, en donde dicho agente platinante se selecciona independientemente entre Cisplatino, Oxaliplatino, Carboplatino, Nedaplatino, Lobaplatino, Triplatino Tetranitrato, Picoplatino, Satraplatino, ProLindac y Aroplatino; dicho inhibidor de Topo I se selecciona entre camptotecina, Topotecán, Irinotecán/SN38, Rubitecán y Belotecán; dicho inhibidor de Topo II se selecciona entre Etopósido, Daunorrubicina, Doxorrubicina, Aclarrubicina, Epirubicina, Idarubicina, Amrubicina, Pirarrubicina, Valrubicina, Zorrubicina y Tenipósido; dicho antimetabolito se selecciona entre Aminopterina, Metotrexato, Pemetrexed, Raltitrexed, Pentostatina, Cladribina, Clofarabina, Fludarabina, Tioguanina, Mercaptopurina, 6-Mercaptopurina, Fluorouracilo, 5-fluorouracilo, Capecitabina, Tegafur, Carmofur, Floxuridina, Citarabina, Gemcitabina, Azacitidina e Hidroxiurea; dicho agente alquilante se selecciona entre mostazas de nitrógeno, nitrosoureas, triazenos, sulfonatos de alquilo, aziridinas Mecloretamina, Ciclofosfamida, Ifosfamida, Trofosfamida, Clorambucilo, Melfalán, Prednimustina, Bendamustina, Uramustina, Estramustina, Carmustina, Lomustina, Semustina, Fotemustina, Nimustina, Ranimustina, Estreptozocina, Busulfán, Manosulfán, Treosulfán, Carbocuna, Tiotepa, Triazicuona, Trietilenomelamina, Procarbazina, Temozolomida, Altretamina, Mitobronitol; y dicho antibiótico se selecciona entre hidroxiurea, Antraciclinas, antracenodionas, Familia *Streptomyces*, Actinomicina, Bleomicina, Mitomicina y Plicamicina.

16. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 14, en donde el agente que daña el ADN es

- a) un agente platinante seleccionado entre Cisplatino;
b) un agente platinante seleccionado entre Carboplatino;
c) radiación ionizante;
d) un antimetabolito seleccionado entre gemcitabina;
e) un inhibidor de Topo I seleccionado entre Camptotecina, Topotecán, Irinotecán/SN38, Rubitecán o Belotecán;
f) un inhibidor de Topo II seleccionado entre Etopósido;
g) un agente alquilante seleccionado entre Temozolomida; o
h) seleccionado entre uno o más de los siguientes: Cisplatino, Carboplatino, Gemcitabina, Etopósido, Temozolomida, o radiación ionizante.

17. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el cáncer tiene un defecto en una proteína reparadora por escisión de base; opcionalmente, en donde la proteína reparadora por escisión de base es UNG, SMUG1, MBD4, TDG, OGG1, MYH, NTH1, MPG, NEIL1, NEIL2, NEIL3 (ADN glicosilasas); APE1, APEX2 (AP endonucleasas); LIG1, LIG3 (ADN ligasas I y III); XRCC1 (LIG3 accesoria); PNK, PNKP (polinucleótido quinasa y fosfatasa); PARP1, PARP2 (Poli(ADP-Ribosa) Polimerasas); PolB, PolG (polimerasas); FEN1 (endonucleasa) o Aprataxina; opcionalmente en donde la proteína reparadora por escisión de base es PARP1 o PARP2.

18. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 17, en donde el tratamiento de cáncer comprende además administrar al paciente un agente terapéutico adicional en donde el agente inhibe o modula una proteína reparadora por escisión de base; opcionalmente en donde la proteína reparadora por escisión de base se selecciona entre PARP1 o PARP2.

19. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 18, en donde la proteína reparadora por escisión de base se selecciona entre PARP1 o PARP2, y comprende además administrar al paciente un agente terapéutico adicional seleccionado entre un agente que daña el ADN; opcionalmente en donde el agente que daña el ADN es radiación ionizante, o cisplatino.

20. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-19, en donde dicho cáncer es un tumor sólido seleccionado entre los siguientes cánceres: oral, pulmonar, gastrointestinal: del tracto genitourinario, hígado, hueso, sistema nervioso, ginecológico, piel, glándula tiroides, o glándula suprarrenal; opcionalmente

en donde dicho cáncer es un tumor sólido seleccionado entre los siguientes cánceres: Oral: cavidad bucal, labio, lengua, boca, faringe; Cardíaco: sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rabdomiosarcoma, liposarcoma), mixoma, rabdomioma, fibroma, lipoma y teratoma; Pulmón: carcinoma broncogénico (escamocelular o epidermoide, microcítico indiferenciado, macrocítico indiferenciado, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma; Gastrointestinal: esófago (carcinoma escamocelular, laringe, adenocarcinoma, leiomiomasarcoma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma, leiomiomasarcoma), páncreas (adenocarcinoma ductal, insulinoma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma vellosos, hamartoma, leiomioma), colon, colon-recto, colorrectal; recto, Tracto genitourinario: riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilm [nefroblastoma], linfoma), vejiga y uretra (carcinoma escamocelular, carcinoma de células transicionales, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testículo (seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatosos, lipoma); Hígado: hepatoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma, vías biliares; Hueso: sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma reticulocelular), mieloma múltiple, cordoma maligno de tumor de células gigantes, osteocondroma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes; Sistema nervioso: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteitis deformans), meninges (meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma [pinealoma], glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), neurofibroma de médula espinal, meningioma, glioma, sarcoma); Ginecológico: útero (carcinoma endometrial), cuello uterino (carcinoma cervical, displasia cervical preumoral), ovarios (carcinoma de ovario [cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma sin clasificar], tumores de células granulosas-tecales, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma escamocelular, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células transparentes, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioide (rabdomiosarcoma embrionario), trompas de Falopio (carcinoma), mama; Piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, queratoacantoma, lunares llamados nevos displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis, Glándula tiroides: carcinoma papilar de tiroides, carcinoma de tiroides folicular; carcinoma de tiroides medular, neoplasia endocrina múltiple de tipo 2A, neoplasia endocrina múltiple de tipo 2B, cáncer de tiroides medular familiar, feocromocitoma, paraganglioma; y glándulas suprarrenales: neuroblastoma.

21. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según la reivindicación 20, en donde dicho cáncer se selecciona entre cáncer de pulmón no microcítico, cáncer microcítico de pulmón, cáncer pancreático, cáncer de las vías biliares, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer de esófago, cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, cáncer de ovarios, opcionalmente

a) en donde dicho cáncer se selecciona entre cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico y cáncer de mama triple negativo; o

b) en donde el agente terapéutico adicional es gemcitabina o cisplatino y el cáncer es el subtipo escamoso del cáncer de pulmón no microcítico.

22. Un compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1; según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12; para uso en promoción de muerte celular en células cancerosas; opcionalmente

a) en donde las células cancerosas tienen defectos en la cascada de señalización ATM; opcionalmente

en donde el defecto es expresión o actividad alterada de uno o más de los siguientes: ATM, p53, CHK2, MRE11, RAD50, NBS1, 53BP1, MDC1, H2AX, MCPH1/BRIT1, CTIP, o SMCI; o

b) en donde la célula cancerosa expresa oncogenes que dañan el ADN; opcionalmente

en donde dicha célula cancerosa tiene expresión o actividad alterada de uno o más de los siguientes: K-Ras, N-Ras, H-Ras, Raf, Myc, Mos, E2F, Cdc25A, CDC4, CDK2, Ciclina E, Ciclina A y Rb.

5

23. El compuesto que inhibe proteína quinasa ATR; y un compuesto que inhibe proteína quinasa Chk1, para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-22, en donde el compuesto que inhibe Chk1 se selecciona independientemente entre AZD7762, LY2603618, MK-8776, CHIR-124, y PF-477736.

Figura 1

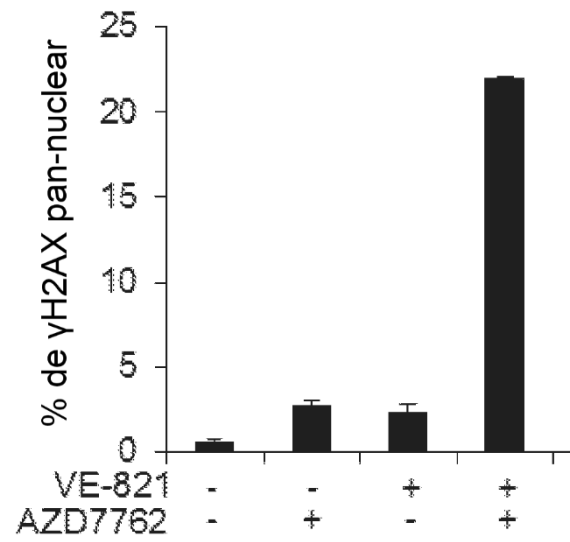


Figura 2a

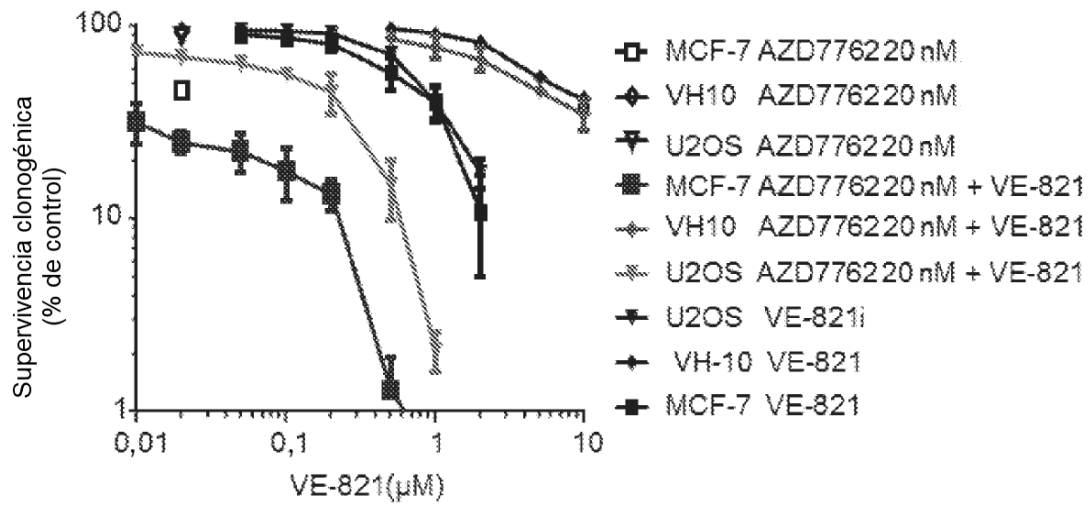


Figura 2b

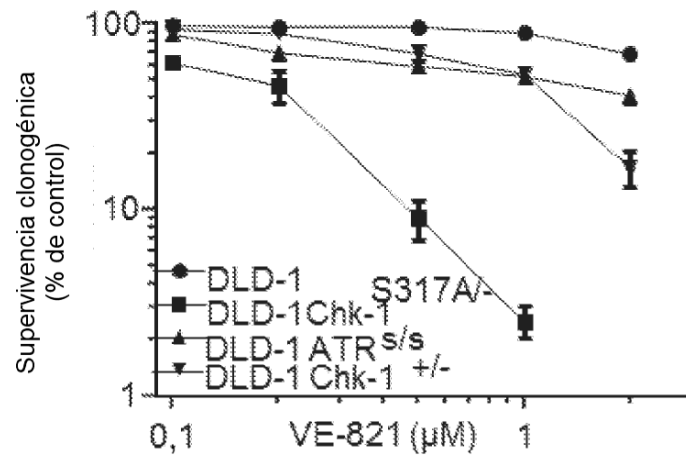


Figura 2c

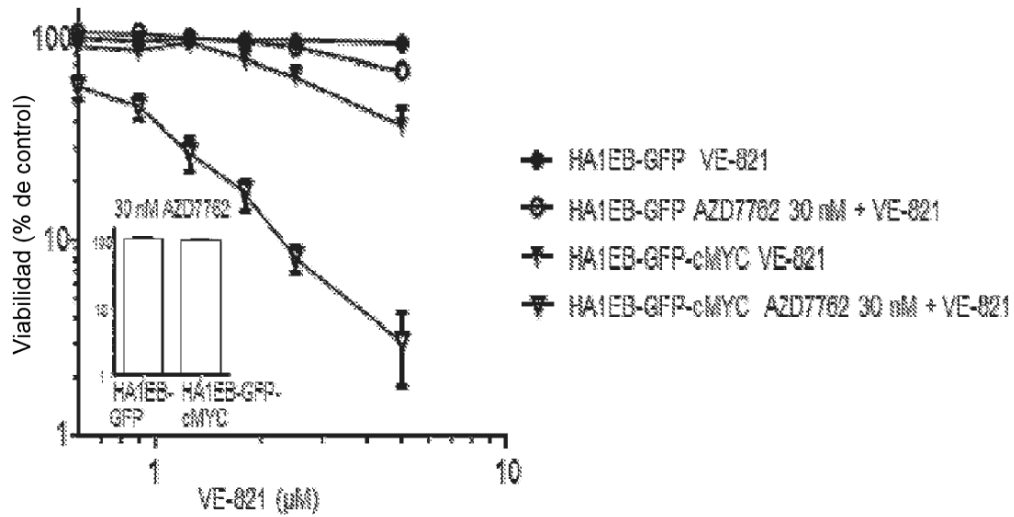


Figura 2d

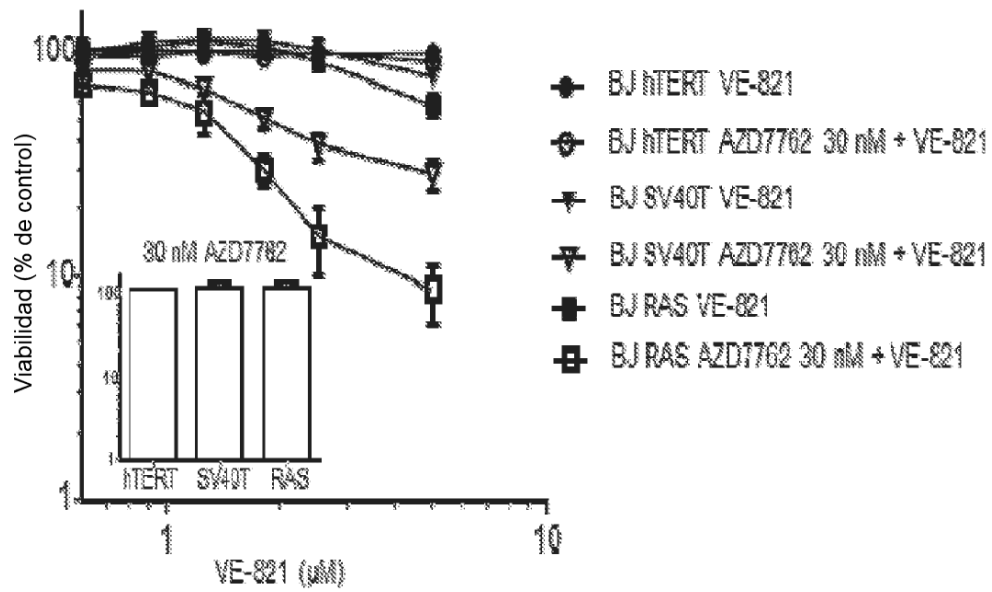


Figura 3a

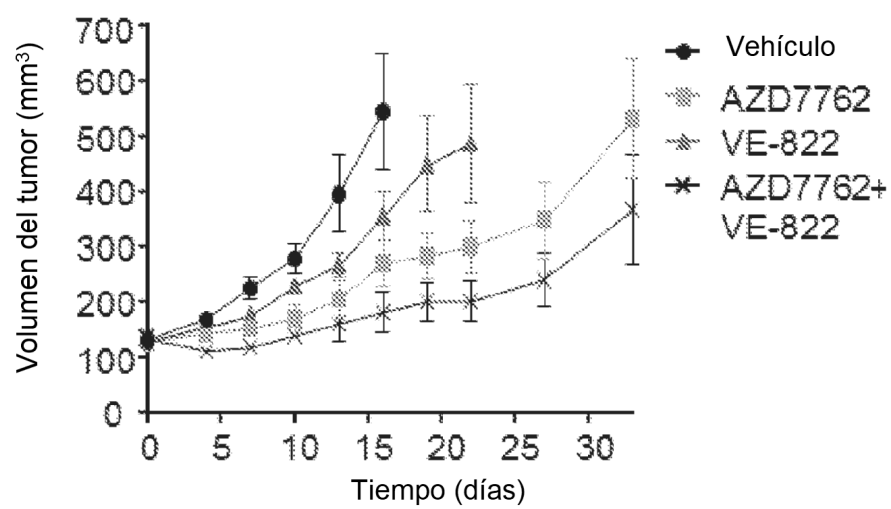


Figura 3b

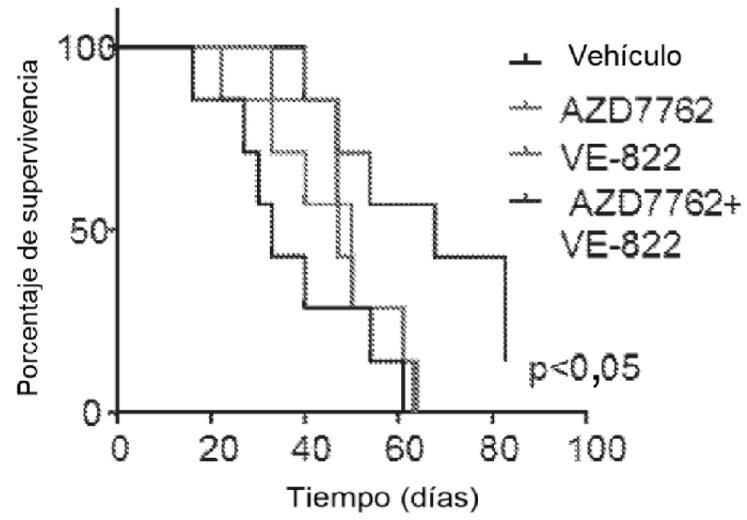


Figura 4a

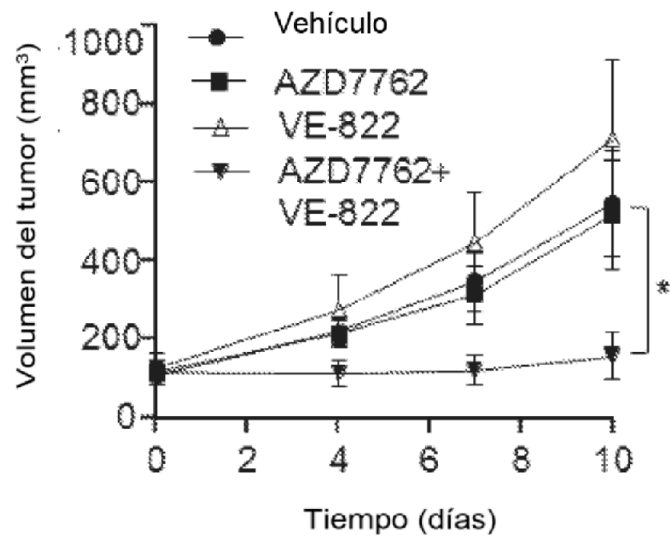


Figura 4b

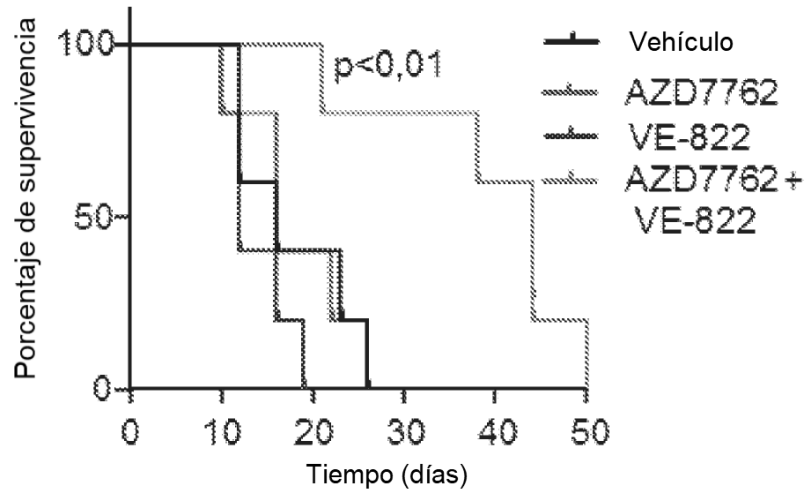


Figura 5

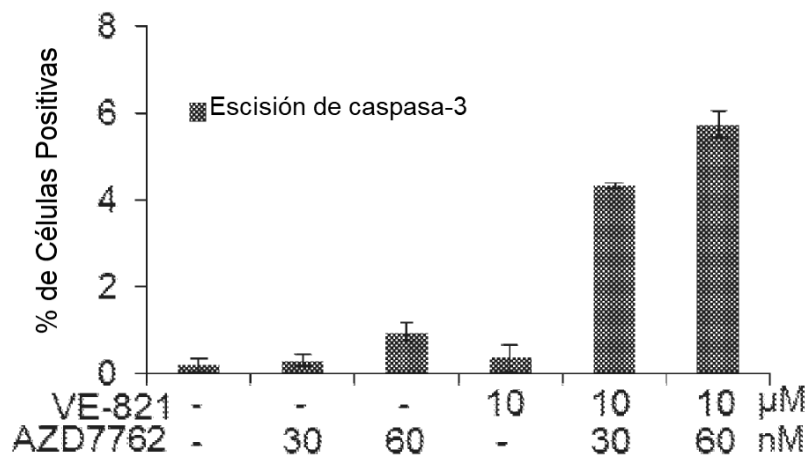


Figura 6a

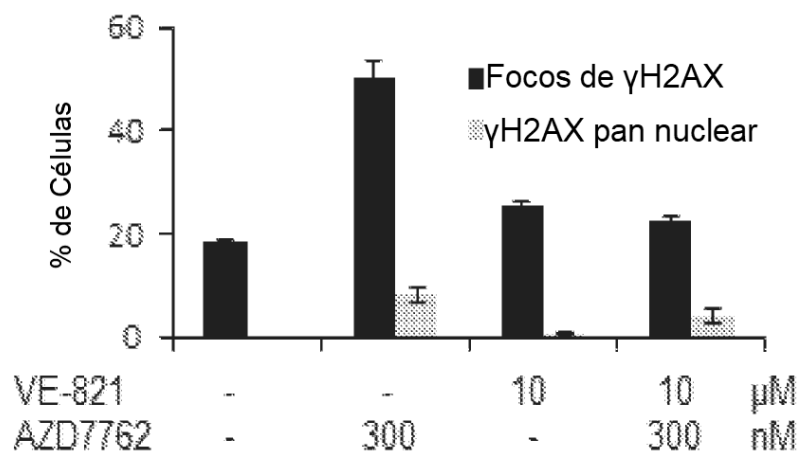


Figura 6b

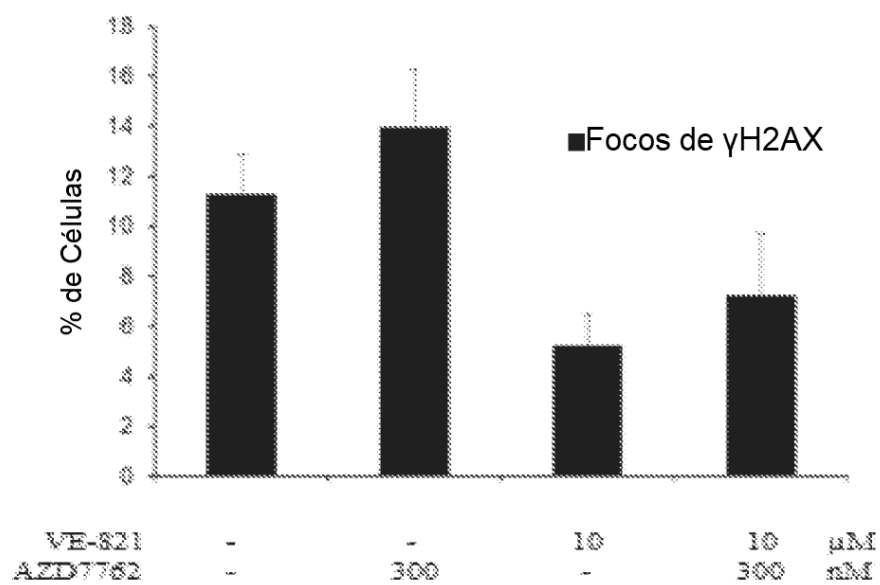


Figura 6c

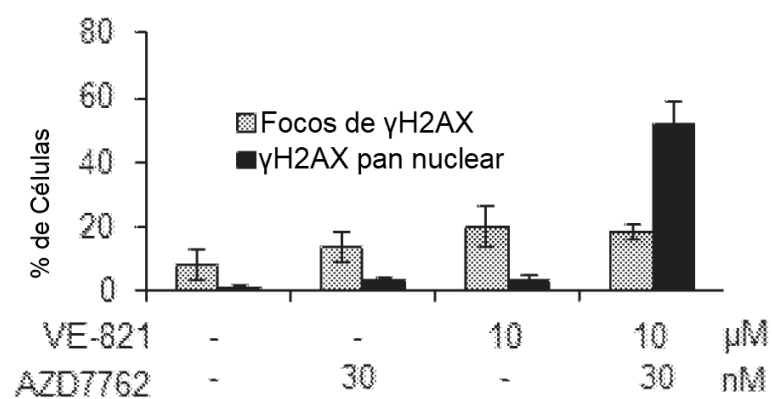


Figura 6d

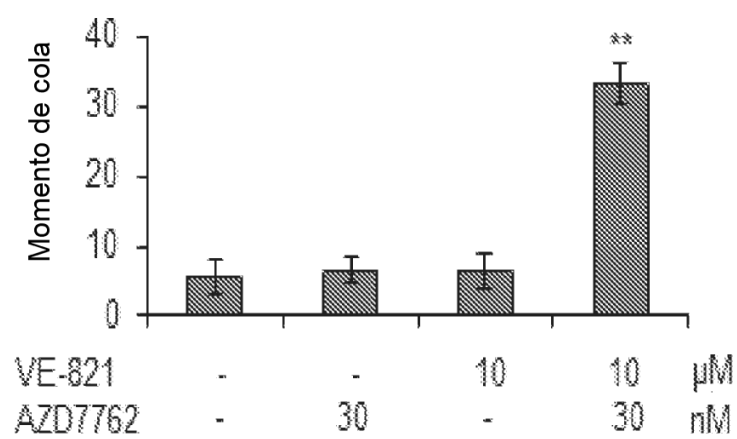


Figura 7a

U2OS

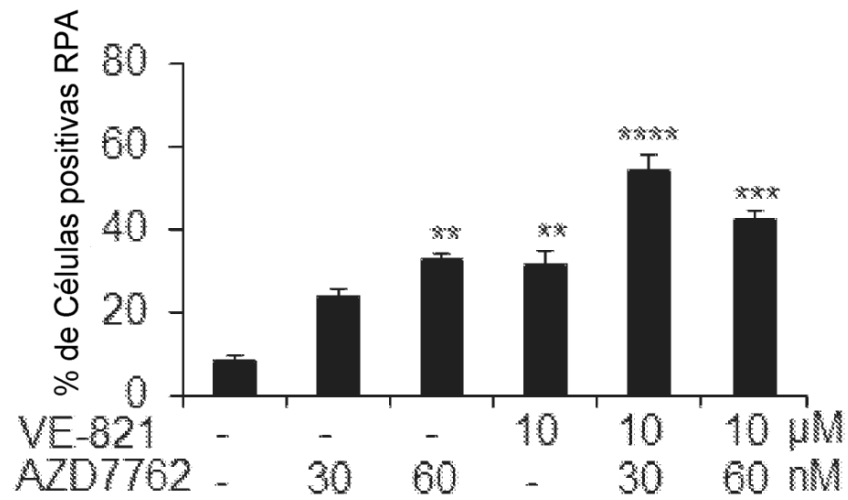


Figura 7b

VH-10

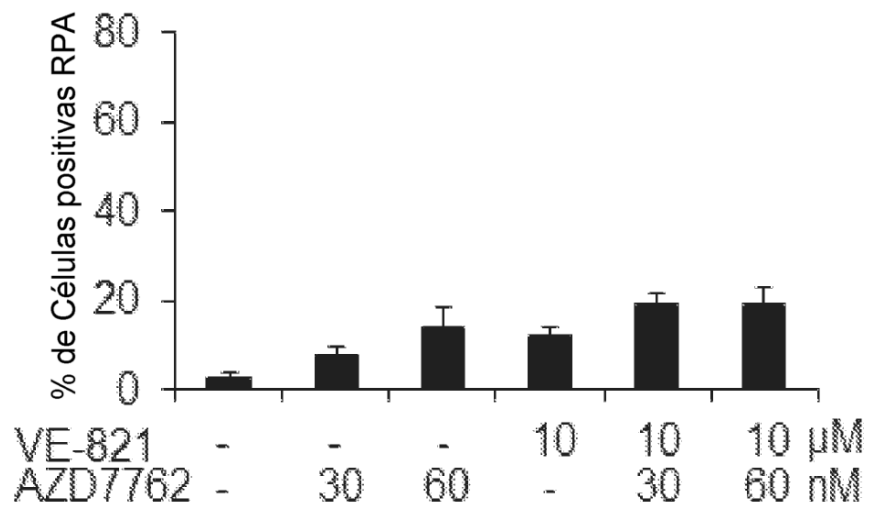


Figura 8a

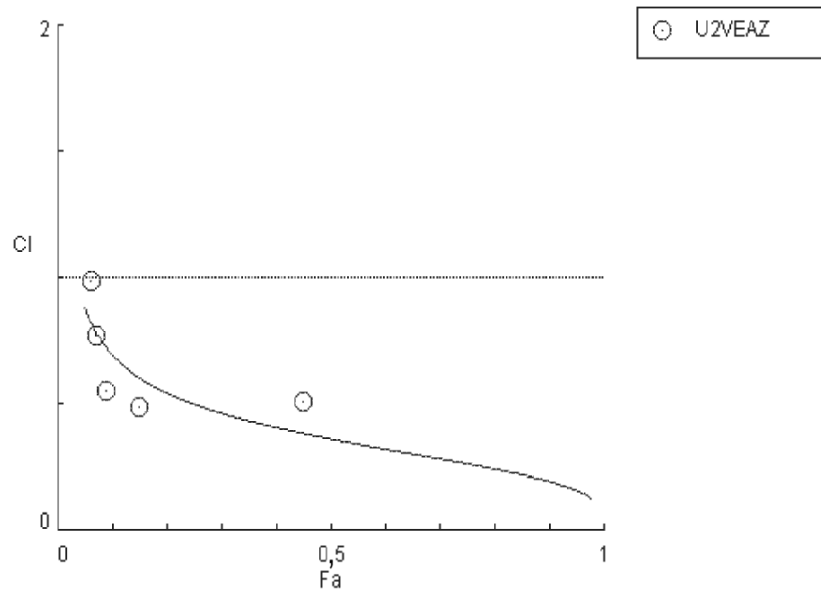
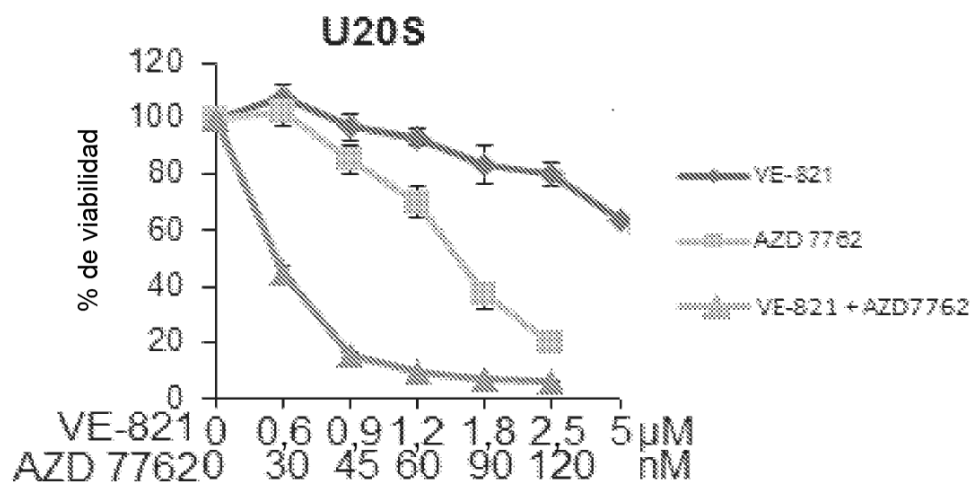


Figura 8b

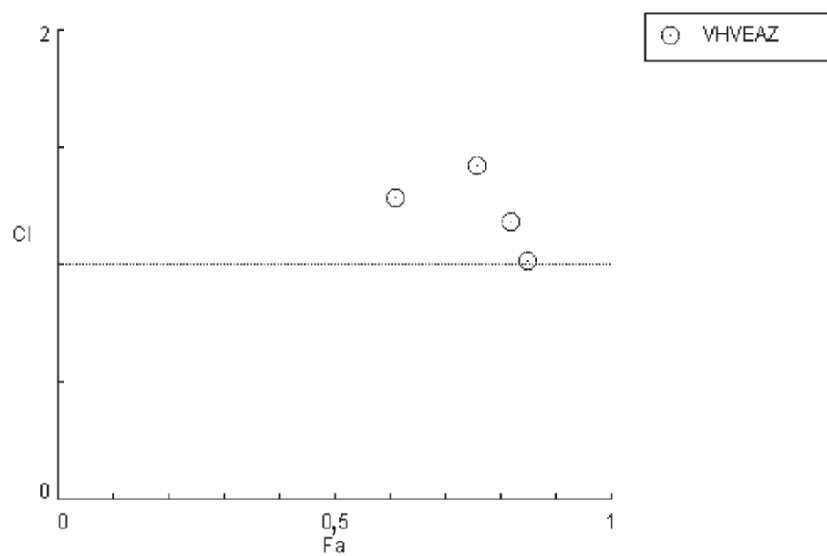
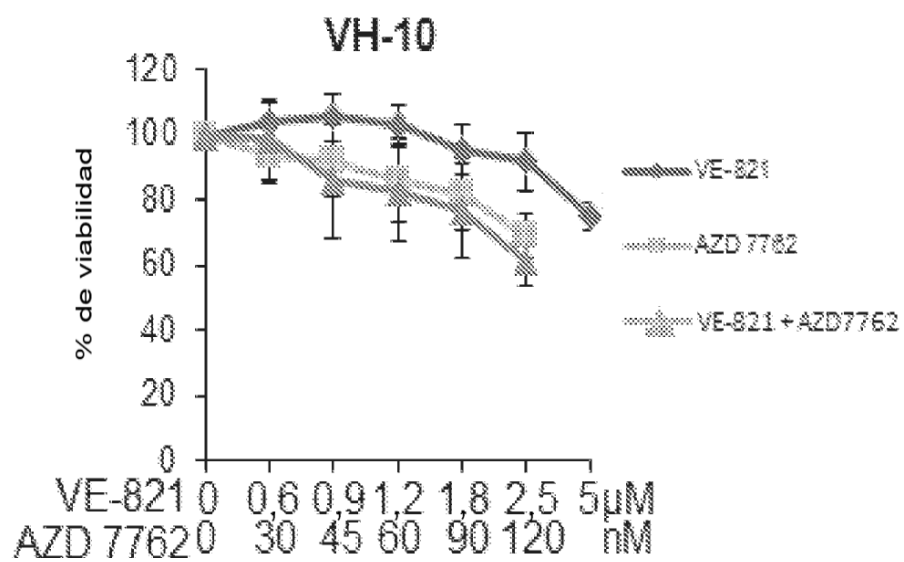


Figura 8c

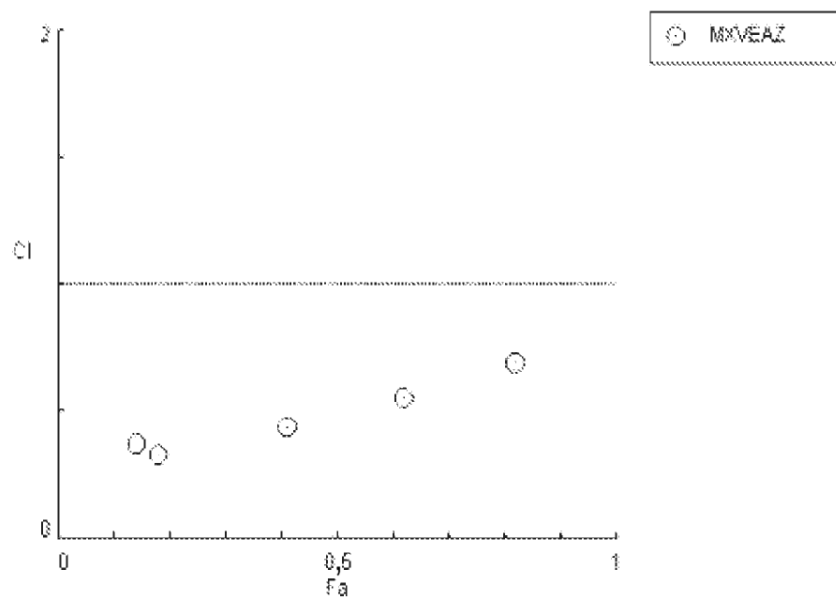
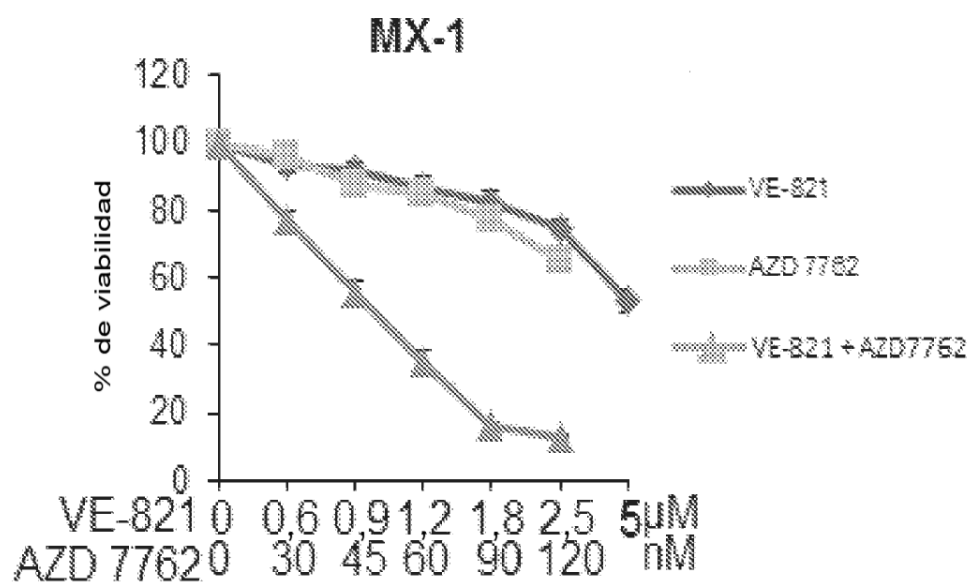


Figura 8d

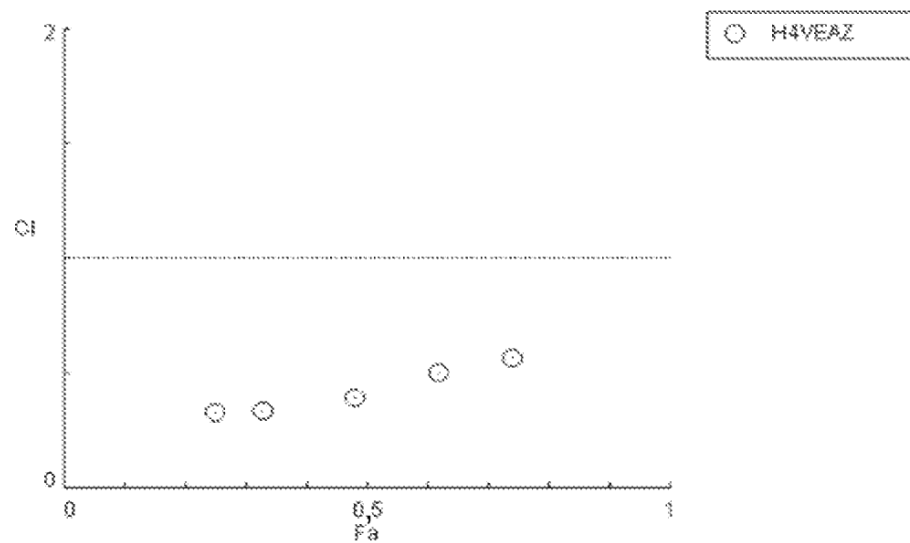
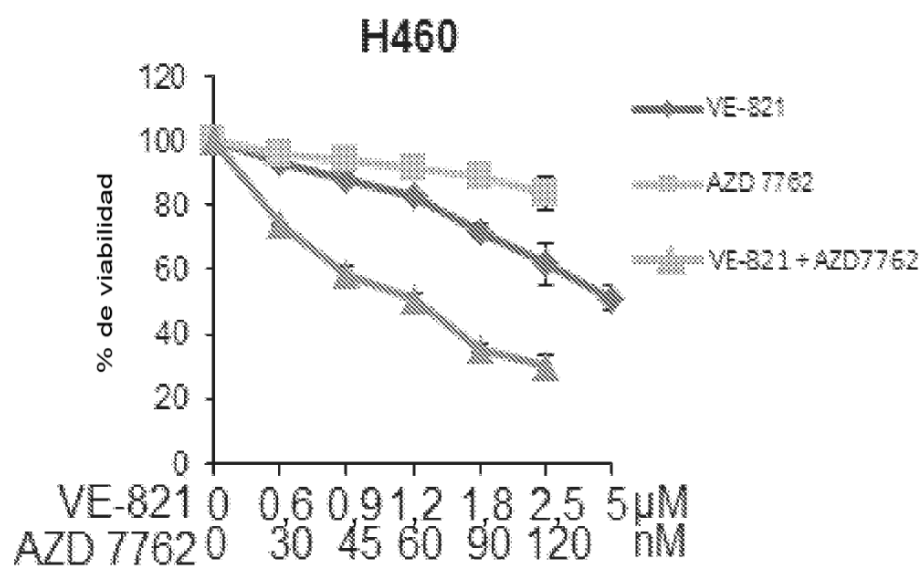


Figura 8e

HCT-116

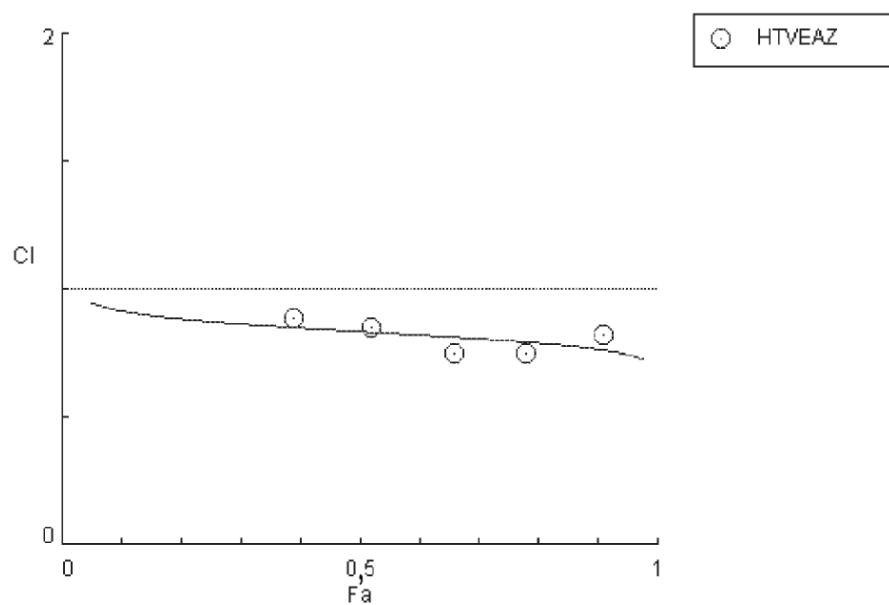
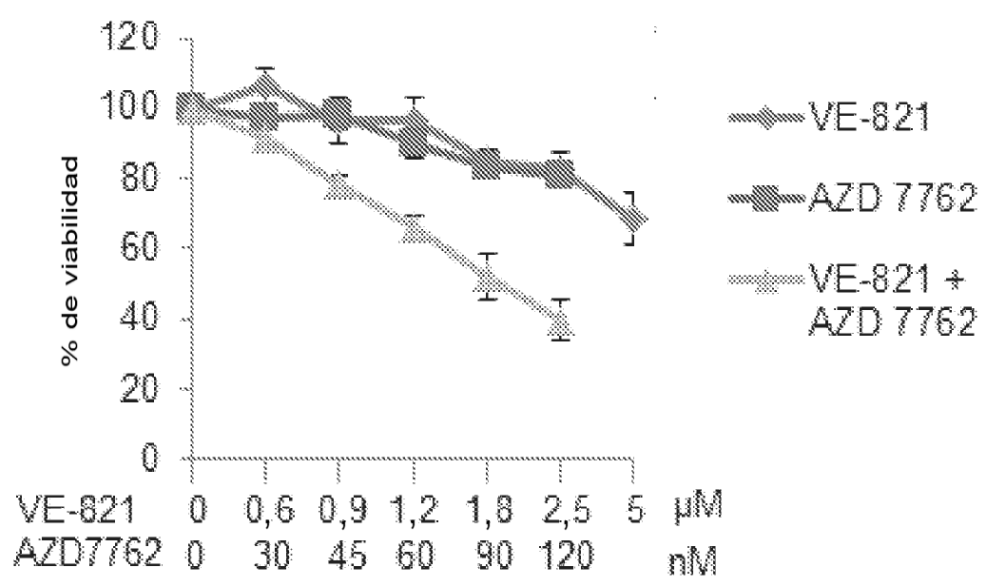


Figura 8f

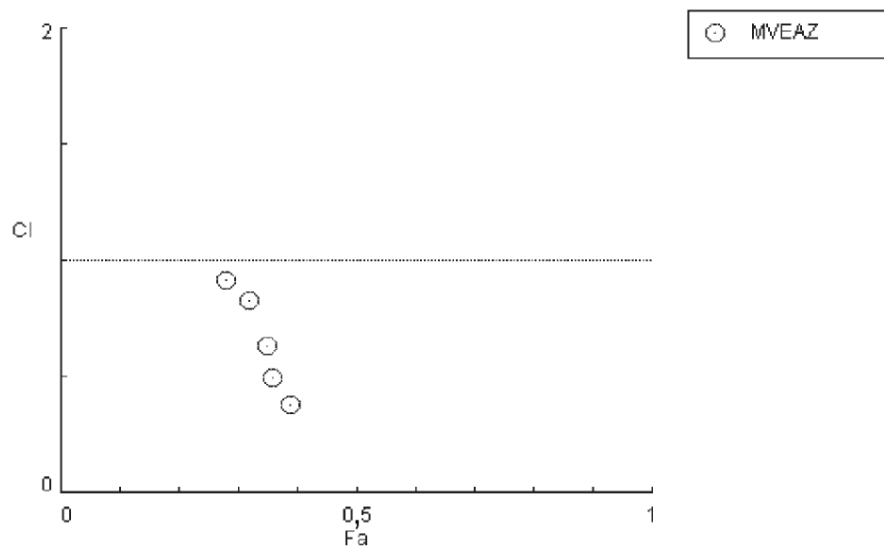
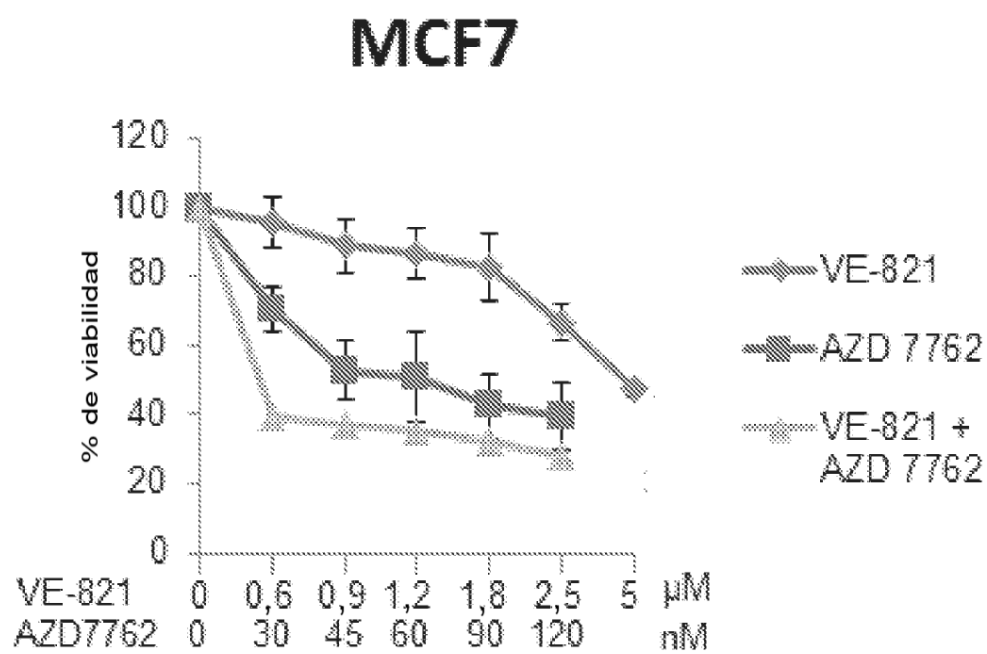


Figura 8g

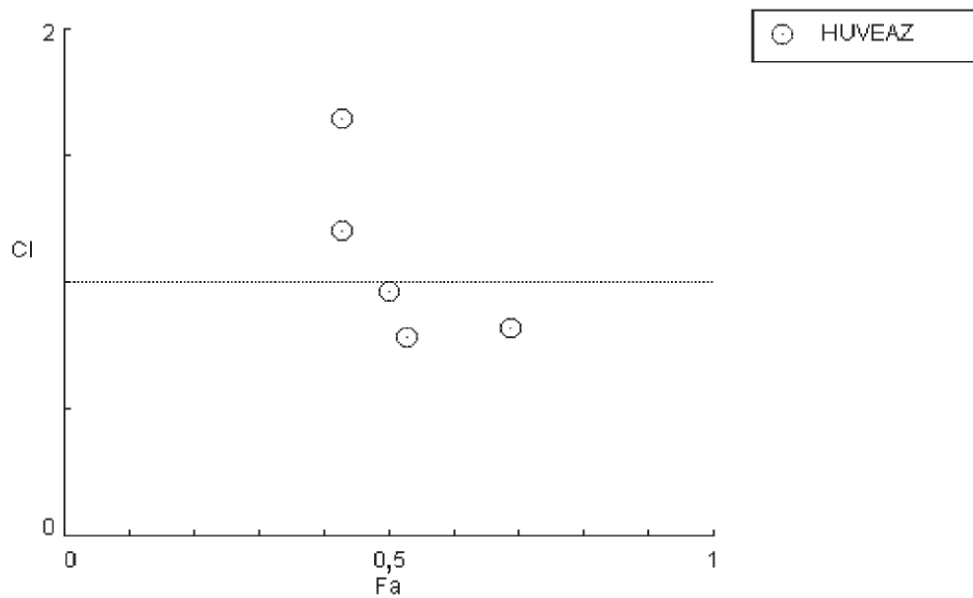
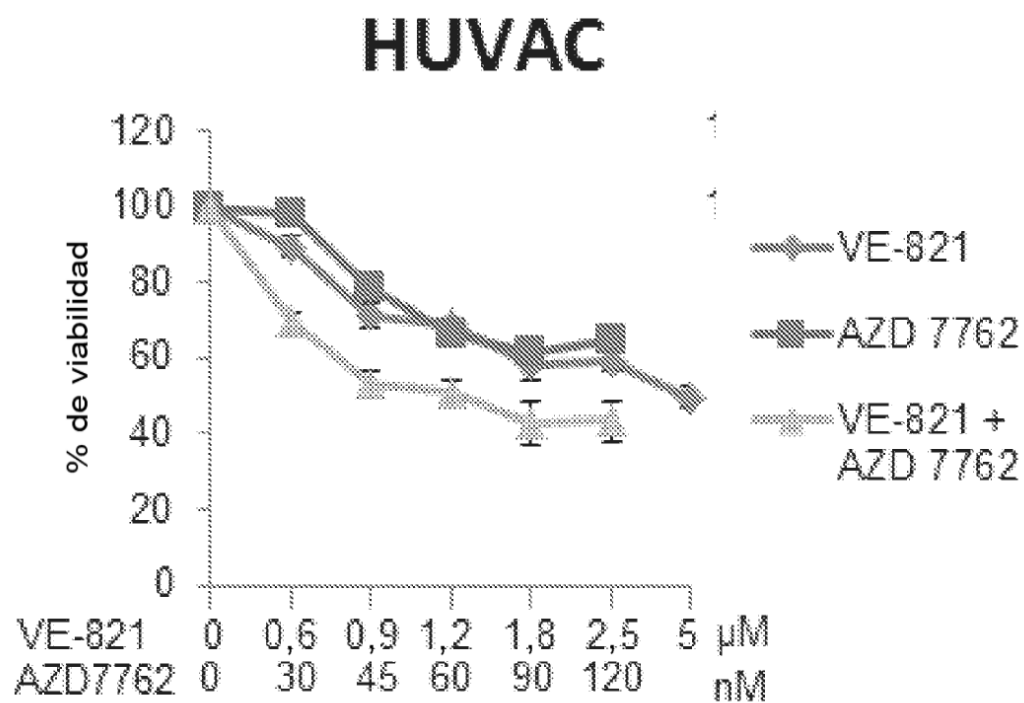


Figura 8h

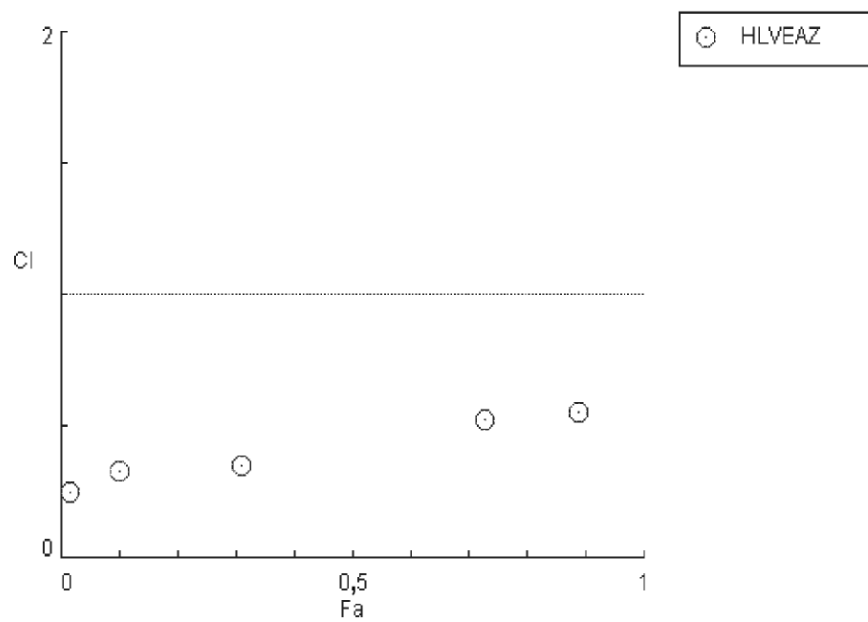
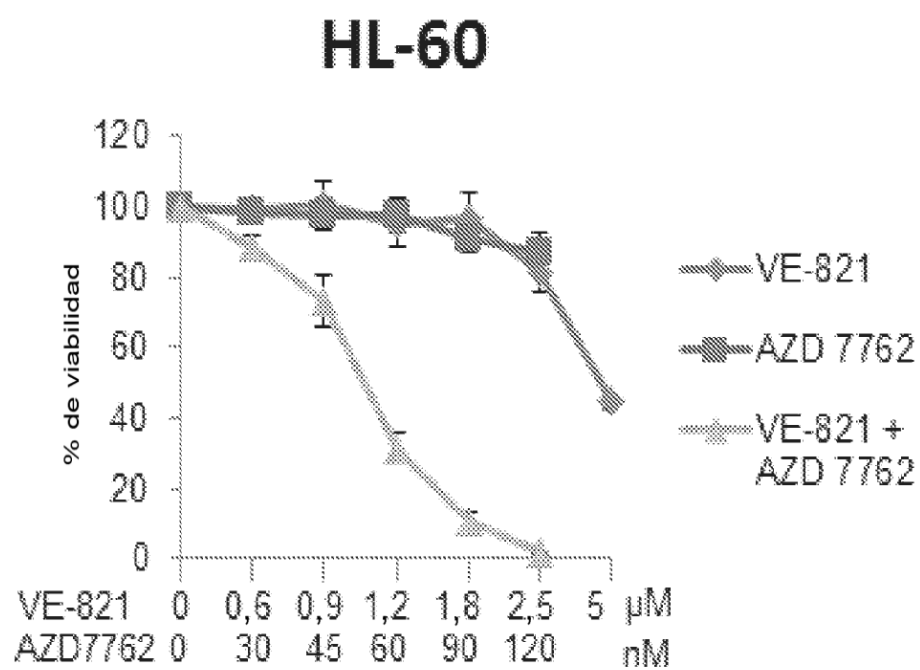
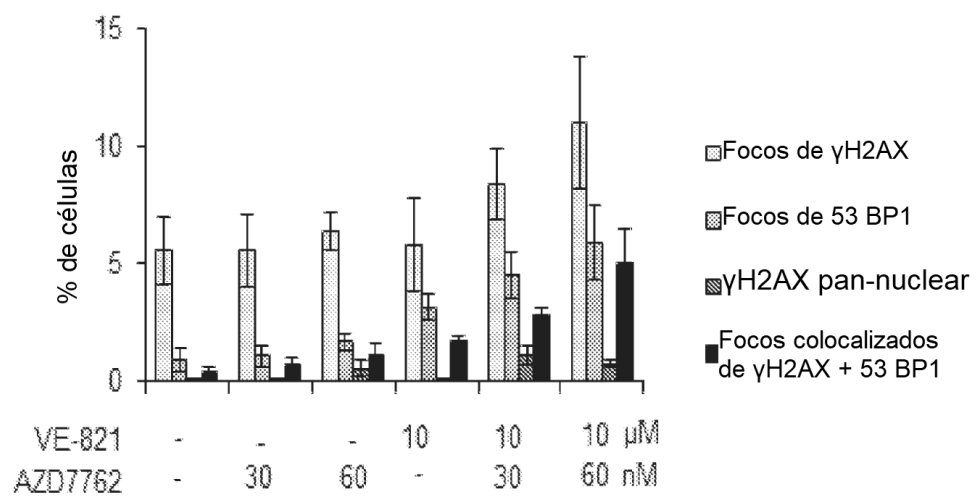


Figura 9



Figuras 10a-d

