

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 741 853**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/4375 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07D 519/00 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.03.2016 PCT/EP2016/000542**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.10.2016 WO16155884**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.03.2016 E 16717560 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 3277681**

54 Título: **Imidazonilquinolinas y su uso como inhibidores de ATM cinasa**

30 Prioridad:

02.04.2015 EP 15000968

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

12.02.2020

73 Titular/es:

**MERCK PATENT GMBH (100.0%)
Frankfurter Strasse 250
64293 Darmstadt, DE**

72 Inventor/es:

**FUCHSS, THOMAS y
SCHIEMANN, KAI**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 741 853 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

Imidazonilquinolinas y su uso como inhibidores de ATM cinasa

Antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos de imidazonilquinolina específicos y a su uso en la inhibición, regulación y/o modulación de la transducción de señales de cinasas, en particular de la ATM cinasa, además a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos así como al uso de los compuestos para el tratamiento de enfermedades que presentan una relación con ATM cinasa, en particular cáncer.

10 La proteína ATM serina/treonina cinasa (cinasa mutada con *Ataxia* Telangiectasia) pertenece a la familia PIKK de cinasas con dominios catalíticos que presentan homología a las fosfoinositid-3-cinasas (PI3-cinasa, PI3K). Estas cinasas participan en una pluralidad de funciones claves celulares, tal como crecimiento celular, proliferación celular, migración, diferenciación, supervivencia y adhesión celular. En particular reaccionan estas cinasas frente al daño de ADN mediante activación de la detención del ciclo celular y programas de reparación de ADN (DDR: *DNA Damage Response*). ATM es un producto del gen ATM y desempeña un papel clave en la reparación de daños en la cadena doble de ADN (DSB. *Double strand breaks*) mediante recombinación homóloga y unión no homóloga extremo con extremo (NHEJ: *non-homologous end joining*). Los daños en la cadena doble de este tipo son especialmente citotóxicos.

20 Una de las características continuas de tumores en el ser humano es su inestabilidad genómica, no conociéndose hasta ahora los defectos específicos del mecanismo de reparación de ADN en la mayoría de los tipos de cáncer. Esta inestabilidad representa el punto de partida terapéutico para la quimioterapia principalmente practicada desde hace tiempo. Existen además algunos pocos síndromes en los que el factor de influencia genético subyacente puede atribuirse a una mutación de un gen que va acompañada de pérdida de función, que modula la reacción frente a daños en la cadena doble de ADN. A esto pertenece *Ataxia* Telangiectasia, que se produce mediante un gen ATM defectuoso. Un punto en común de todos estos síndromes es que originan una sensibilidad extrema a la radiación (Lavin & Shiloh (1997) *Annu. Rev. Immunol.* 15: 177; Rotman & Shiloh (1998) *Hum. Mol. Genet.* 7: 1555). Las células con ATM defectuoso son correspondientemente sensibles frente a agentes o bien medidas que producen daños en la cadena doble de ADN, lo que convierte a ATM en una diana atractiva para la quimiosensibilización y radiosensibilización en el tratamiento del cáncer.

30 Las moléculas sometidas a estudio en primer lugar ante este hecho, cafeína y wortmanina, si bien mostraron la radiosensibilización atribuida entre otras cosas a una inhibición de ATM, éstas son sin embargo *in vivo* demasiado tóxicas para una posible aplicación terapéutica. Partiendo de la estructura química del inhibidor de PI3K LY294002 se desarrolló por KuDOS Pharmaceuticals el primer inhibidor de ATM potente y selectivo: KU-55933 (2-morfolino-6-(tiantren-1-il)-4H-piran-4-ona). Con éste se logra una sensibilización frente a radiación ionizante y agentes antineoplásicos que dañan la cadena doble de ADN (Hickson, I., *et al.* (2004). *Cancer Res* 64, 9152-9159). Sin embargo resultó inadecuado KU-55933, presumiblemente debido a la alta lipofilia, para una aplicación *in vivo*. Basándose en KU-55933 se desarrollaron con ligera modificación de la estructura base KU-60019 (2-((2S,6R)-2,6-dimetilmorfolino)-N-(5-(6-morfolino-4-oxo-4H-piran-2-il)-9H-tioxanten-2-il)acetamida) y KU-559403 (2-(4-metilpiperazin-1-il)-N-[5-(6-morfolino-4-oxo-piran-2-il)tioxanten-2-il]acetamida), pudiéndose mejorar la solubilidad y la potencia. Mientras tanto se informó por ejemplo de que las células que inician el glioblastoma podían sensibilizarse mediante KU-60019 de manera segura y eficaz para la radiación, de lo que se concluyó que KU-60019 puede actuar para la radiosensibilización de toda una serie de tumores cerebrales (Vecchio D. *et al.* (2015), *Int. J. Cancer* 136:1445).

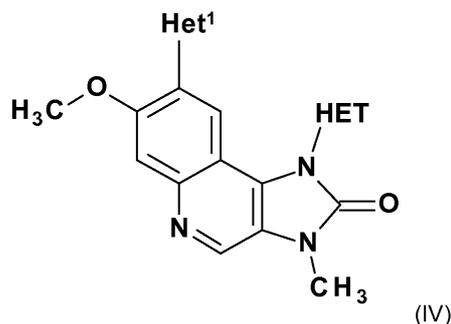
El documento WO 2011/054846 divulga inhibidores de bromodominio que se basan en una estructura base de imidazo-[4,5-c]quinolina y posiblemente puedan usarse para el tratamiento de cáncer, enfermedades inflamatorias o enfermedades autoinmunitarias.

45 La facilitación de moléculas pequeñas, que inhiben, regulan y/o modulan de manera eficaz la transducción de señales de cinasas y concretamente en particular ATM cinasa, es por tanto deseable y objetivo de la presente invención.

50 Además es deseable que los inhibidores de cinasa de este tipo sean selectivos, es decir que no presenten o bien que presenten una actividad claramente más baja frente a otras cinasas. Así pueden reducirse los efectos fuera de diana, off-target, o bien toxicidades que están relacionadas con esto.

Descripción de la invención

El objetivo se solucionó sorprendentemente mediante compuestos de fórmula (IV)



en la que

- Het¹ significa pirazolilo, que puede estar no sustituido o mono-, di- o trisustituido independientemente entre sí con Hal o A;
- 5 A en cada caso independientemente significa alquilo no ramificado o ramificado con 1, 2, 3, 4, 5 o átomos de C, en el que independientemente entre sí 1, 2, 3, 4 o 5 átomos de H pueden estar sustituidos por Hal,
- Hal significa F, Cl, Br o I,
- HET se selecciona de: 3-difluorometoxi-5-fluoro-piridin-4-ilo, 3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-ilo, 3-fluoro-5-fluorometoxi-piridin-4-ilo, 3-fluoro-5-(trideuteriometoxi)-piridin-4-ilo,
- 10 y/o sal, solvato, tautómero, estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente.

Tal como se expone a continuación en más detalle, ha de entenderse los compuestos en el sentido de que los átomos, tal como por ejemplo H, C, N, comprenden en cada caso también los isotopos más pesados de estos átomos. Esto se aplica en particular para H, pudiéndose usar deuterio ventajosamente, tal como se muestra mediante los ejemplos.

- 15 Los compuestos de acuerdo con la invención han resultado de manera sorprendente potentes inhibidores de ATM cinasa. Aún es más sorprendente la selectividad frente a otras cinasas relacionadas, tal como por ejemplo mTOR (diana mamífera de rapamicina, *mammalian target of rapamycin*) cinasa, otra proteína cinasa de la familia de las PIK cinasas (también designada como PI3K clase IV).

- 20 Muy a diferencia de la presente invención se divulga en la solicitud de patente internacional WO 2010/139731 para los compuestos de imidazoloni quinolina allí descritos, que se trata preferentemente de inhibidores de la PI3 cinasas clase I y/o mTOR cinasa. Las PI3 cinasas clase I son lipidocinasas. De manera correspondiente, los datos experimentales muestran valores CI_{50} para mTOR en el intervalo hasta por debajo de menos de 3 nM, o sea inhibición muy fuerte.

- 25 Los compuestos de acuerdo con la invención demuestran una vez más de manera impresionante, cómo las diferencias estructurales que parecen a primera vista relativamente pequeñas ejercen una influencia decisiva sobre la actividad biológica.

Además, los compuestos de acuerdo con la invención se caracterizan también por la ausencia de inhibición indeseada, con frecuencia observada de los canales de iones cardíacos, en particular del Kv1.11 hERG, cuyo bloqueo puede conducir a arritmias potencialmente mortales.

- 30 Los compuestos de acuerdo con la invención abren con ello posibilidades completamente nuevas en la terapia contra el cáncer, por ejemplo como monoterapia en caso de tumores con capacidad de reparación de cadena doble de ADN defectuosa o en combinación con radioterapia o quimioterapia, en particular como radiosensibilizadores y quimiosensibilizadores en el tratamiento de cáncer, de manera especialmente preferente como radiosensibilizadores.

- 35 Los compuestos de acuerdo con la invención pueden usarse por consiguiente para la inhibición de así como para la sensibilización de células cancerígenas frente a agentes antineoplásicos y/o radiación ionizante. El objeto de la invención es también el uso de los compuestos de acuerdo con la invención en el tratamiento de cáncer, tumores y/o metástasis, en combinación con radioterapia y/o un agente antineoplásico, preferentemente radioterapia.

- 40 Anteriormente y a continuación tienen los radicales A, Het¹ y HET y Hal los significados indicados anteriormente en la fórmula (IV), siempre que no se indique de manera expresa algo diferente. En el caso de la aparición múltiple de

restos individuales dentro de un compuesto o de un radical adoptan los restos independientemente entre sí los significados indicados, siempre que no se indique de manera expresa algo diferente.

5 Las denominaciones usadas en cuestión para la definición de los compuestos se basan en general en las reglas de la organización IUPAC para compuestos químicos y en particular compuestos orgánicos. Las denominaciones para explicar los compuestos anteriormente mencionados de la invención tienen siempre los significados citados a continuación, siempre que la descripción o las reivindicaciones no indiquen algo diferente.

10 El término "no sustituido" significa que un radical, un grupo o un resto no lleva sustituyentes. El término "sustituido" significa que un radical, un grupo o un resto lleva uno o varios sustituyentes. Si se menciona a continuación con respecto a un determinado grupo o un determinado radical, cuya sustitución se haya definido de manera específica en relación con la fórmula (IV) anterior, únicamente "de manera sustituido", entonces se entiende que esta sustitución corresponde a lo mencionado anteriormente, siempre que no se haya indicado de manera específica algo diferente. Se entiende a este respecto en el sentido de la invención también que un radical mediante la referencia a "el significado indicado anteriormente" puede adoptar sin especificación más detallada los mismos significados para el correspondiente radical mencionados todos en el desarrollo actual de la descripción.

15 "A" representa un alquilo no ramificado o ramificado con 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de C, en el que independientemente entre sí 1, 2, 3, 4 o 5 átomos de H pueden estar sustituidos por Hal, o sea F, Cl, Br y/o I. Se entiende que Hal en este contexto puede representar distintos halógenos F, Cl, Br, I, o sea por ejemplo 1 H puede estar sustituido por F, otro H por Cl. Se prefiere muy especialmente alquilo C1-4, en el que independientemente entre sí 1, 2 o 3 átomos de H pueden estar sustituidos por Hal. Un alquilo C1-4 de este tipo es por ejemplo metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, pentafluoroetilo, 1,1,1-trifluoroetilo o bromometilo, lo más preferentemente metilo, etilo, fluorometilo, difluorometilo o trifluorometilo. Se entiende que los respectivos significados de "A" son independientes entre sí en los radicales de una fórmula de acuerdo con la invención.

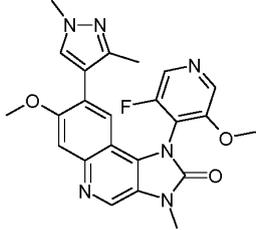
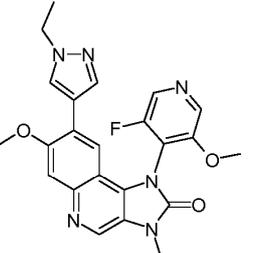
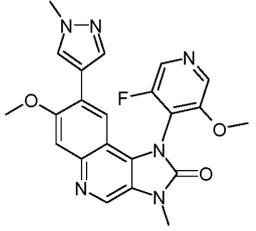
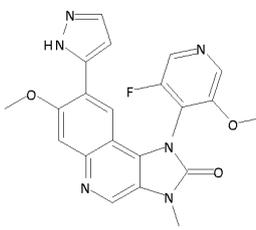
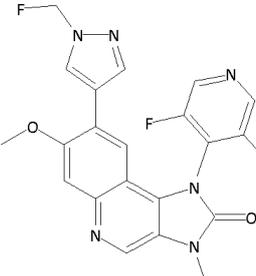
25 El término "Hal", o también "halógeno", "átomo de halógeno", "sustituyente de halógeno", designa en este caso uno o varios átomos de flúor (F), bromo (Br), cloro (Cl) o yodo (I). Las denominaciones "dihalógeno", "trihalógeno" y "perhalógeno" se refieren a dos, tres o cuatro sustituyentes, pudiéndose seleccionar cada sustituyente independientemente entre sí del grupo de F, Cl, Br o I. "Halógeno" quiere decir preferentemente F, Cl o Br. F y Cl se prefieren especialmente, en particular cuando los halógenos son sustituyentes en un grupo alquilo (haloalquilo) o alcoxi (por ejemplo CF₃ y CF₃O).

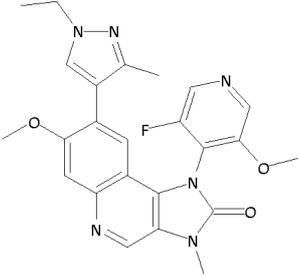
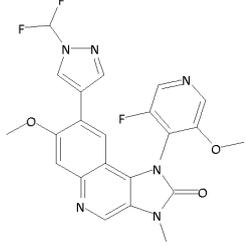
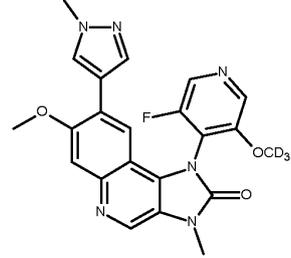
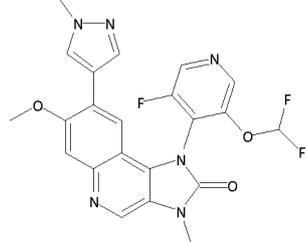
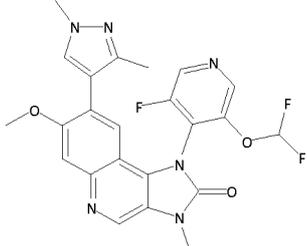
30 De manera correspondiente a esto son objeto de la invención aquéllos compuestos de fórmula (IV), en los que al menos uno de los radicales mencionados tiene uno de los significados indicados anteriormente. Los radicales no designados de manera más detallada en el contexto de una fórmula (IV), fórmula parcial de la misma o cualquier resto en ésta deben tener el significado indicado en la fórmula (IV), tal como se ha divulgado éste en el presente documento para solucionar el objetivo de la invención. Es decir que los radicales mencionados puedan adoptar todos los significados asignados a estos, tal como se han descrito anteriormente o posteriormente, incluyendo formas de realización preferentes cualesquiera, sin estar limitado a éstas e independientemente de su aparición en otro contexto determinado. Se entiende en particular que cualquier forma de realización de un determinado radical puede combinarse con cualquier forma de realización de uno o varios radicales distintos.

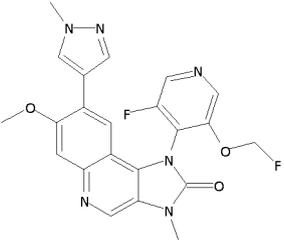
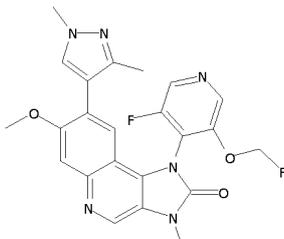
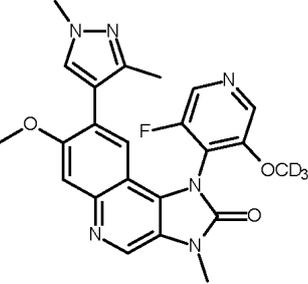
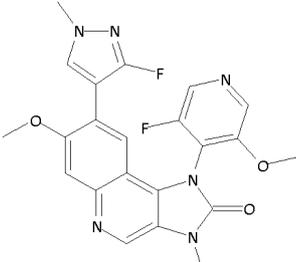
40 De manera especialmente preferente se selecciona Het¹ de: 1H-pirazol-4-ilo, 2H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1-metil-1H-pirazol-4-ilo, 3-metil-1H-pirazol-4-ilo, 5-metil-1H-pirazol-3-ilo, 4-metil-1H-pirazol-3-ilo, 1-fluorometil-1H-pirazol-4-ilo, 1-difluorometil-1H-pirazol-4-ilo, 1,3-dimetil-1H-pirazol-4-ilo, 1-etil-1H-pirazol-4-ilo, 1-etil-3-metil-1H-pirazolilo, 3-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-ilo.

45 Se prefieren muy especialmente los compuestos mencionados en la siguiente tabla 1, así como sus derivados, sales, solvatos, tautómeros y/o estereoisómeros que pueden usarse farmacéuticamente, o bien formas libres incluyendo sus mezclas en todas las relaciones.

Tabla 1: Compuestos especialmente preferentes

	<p>8-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>8-(1-etil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(2H-pirazol-3-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-8-(1-fluormetil-1H-pirazol-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>

	<p>8-(1-etil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>8-(1-difluorometil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-[3-fluoro-5-(trideuteriometoxi)-4-piridil]-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-difluorometoxi-5-fluoro-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-difluorometoxi-5-fluoro-piridin-4-il)-8-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>

	<p>1-(3-fluoro-5-fluorometoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>8-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-fluorometoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>8-(1,3-dimetilpirazol-4-il)-1-[3-fluoro-5-(trideuteriometoxi)-4-piridil]-7-metoxi-3-metil-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(3-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>

Preparación

- Los compuestos de fórmula (IV) y también las sustancias de partida para su preparación se prepararan según métodos en sí conocidos, tal como se describen éstos en la bibliografía (por ejemplo en bibliografías básicas tal como Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart) y/o tal como se conocen por el experto, así como en condiciones de reacción que se conocen y son adecuadas para las mencionadas reacciones. A este respecto pueden usarse también variantes en sí conocidas, no mencionadas en más detalle en el presente documento. Los compuestos de acuerdo con la invención pueden prepararse mediante elección adecuada o bien adaptación de los materiales de partida por medio de o bien de manera análoga a las síntesis descritas de manera detallada en el ejemplo de comparación 1 y los EJEMPLOS 1 a 3. Para la mayoría de los compuestos de acuerdo con la invención puede modificarse de manera adecuada la síntesis representada en el ejemplo de comparación 1 y puede usarse con ello de manera análoga. Los derivados de amina y ésteres de ácido borónico o análogos que pueden usarse en las correspondientes síntesis están resumidos en el esquema 3 a continuación. De manera complementaria se remite también a la divulgación del documento WO 2010/139731.
- 5
- 10
- 15 El procedimiento y el procesamiento posterior de la mezcla de reacción pueden realizarse básicamente como reacción en lotes o en modo de reacción continuo. El modo de reacción continuo comprende por ejemplo la reacción en un reactor con recipiente agitador continuo, una cascada de recipientes agitadores, una columna de burbujas con

5 circulación en bucle o reactor de flujo transversal, un tubo de flujo o en un microrreactor. El procesamiento de las mezclas de reacción se realiza opcionalmente, según la necesidad, mediante filtración a través de fases sólidas, cromatografía, separación entre fases no miscibles (por ejemplo extracción), adsorción en vehículos sólidos, separación por destilación de disolventes y/o mezclas azeotrópicas, destilación selectiva, sublimación, cristalización, co-cristalización o mediante nanofiltración en membranas.

Los compuestos de partida se conocen por regla general. Si éstos son nuevos, entonces pueden prepararse según procedimientos en sí conocidos. En el caso deseado pueden formarse las sustancias de partida *in situ*, de modo que no se aíslan éstas de la mezcla de reacción, sino que se transforman posteriormente en los compuestos de acuerdo con la invención. Es igualmente posible realizar gradualmente la reacción.

10 Formas que pueden usarse de manera farmacéutica

15 En el contexto de la invención se definen los compuestos de acuerdo con la invención de modo que están comprendidos también derivados, sales, solvatos incluyendo hidratos, precursores de los compuestos, tautómeros y formas ópticamente activas (tal como por ejemplo estereoisómeros, diastereómeros, enantiómeros, racematos) que pueden usarse de manera farmacéutica. Es también objeto de la invención el uso de mezclas de los compuestos de fórmula (IV), por ejemplo mezclas de dos diastereómeros, por ejemplo en la relación 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 1:100 o 1:1000. De manera especialmente preferente se trata a este respecto de mezclas de compuestos estereoisómeros.

20 Por solvatos de los compuestos se entiende adiciones de moléculas de disolvente inerte a los compuestos que se forman debido a su fuerza de atracción opuesta. Los solvatos son por ejemplo monohidratos o dihidratos o alcoholatos.

25 Por derivados que pueden usarse de manera farmacéutica se entiende por ejemplo las sales de los compuestos de acuerdo con la invención como también los denominados precursores o profármacos de los compuestos. Por profármacos o precursores se entiende por ejemplo compuestos de fórmula (IV) modificados con grupos alquilo o acilo, azúcares u oligopéptidos, que se disocian en el organismo rápidamente para dar los compuestos de acuerdo con la invención activos. A esto pertenecen también derivados de polímero biodegradables de los compuestos de acuerdo con la invención, tal como se ha descrito esto por ejemplo en Int. J. Pharm. 115, 61-67 (1995). Aquel compuesto que puede transformarse *in vivo* en un agente bioactivo, es decir compuestos de fórmula (IV), es un precursor en el sentido de esta invención. Aquel compuesto biológicamente activo que resulta del metabolismo *in vivo* de un compuesto de acuerdo con la invención, es un metabolito en el sentido de la presente invención.

30 Los compuestos de acuerdo con la invención mencionados pueden usarse en su forma no salina definitiva. Por otro lado, la presente invención comprende también el uso de estos compuestos en forma de sus sales farmacéuticamente inocuas, que pueden derivarse de distintos ácidos y bases orgánicos e inorgánicos según modo de proceder técnicamente conocidos. Las formas salinas farmacéuticamente inocuas de los compuestos de acuerdo con la invención se preparan en gran parte de manera convencional. Siempre que los compuestos contengan un grupo ácido carboxílico, puede formarse una de sus sales adecuadas debido a que el compuesto reacciona con una base adecuada para dar la correspondiente sal de adición de base. Tales bases son por ejemplo hidróxidos de metal alcalino (por ejemplo hidróxido de potasio, hidróxido de sodio e hidróxido de litio), hidróxidos de metal alcalinotérreo (por ejemplo hidróxido de bario e hidróxido de calcio), alcoholatos de metal alcalino (por ejemplo etanolato de potasio y propanolato de sodio) así como distintas bases orgánicas tal como piperidina, dietanolamina y N-metilglutamina. Una base puede transformarse con un ácido en la respectiva sal de adición de ácido, por ejemplo mediante reacción de cantidades equivalentes de la base y del ácido en un disolvente inerte, tal como por ejemplo etanol, y evaporación a continuación. Para esta reacción se tienen en cuenta en particular ácidos que proporcionan sales fisiológicamente inocuas, tal como por ejemplo haluros de hidrógeno (por ejemplo cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno o yoduro de hidrógeno), otros ácidos minerales y sus correspondientes sales (por ejemplo sulfato, nitrato o fosfato y similares), alquil- y monoarilsulfonatos (por ejemplo etanosulfonato, toluenosulfonato y bencenosulfonato) así como otros ácidos orgánicos y sus correspondientes sales (por ejemplo acetato, trifluoroacetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato, ascorbato y similares). Las sales con ácidos fisiológicamente preocupantes, por ejemplo picratos, pueden usarse para el aislamiento y/o purificación de los compuestos de acuerdo con la invención.

50 Con respecto a lo dicho anteriormente se observa que por la expresión "sal que puede usarse farmacéuticamente" o también sal "farmacéuticamente inocua" o "farmacéuticamente aceptable", ha de entenderse en el presente contexto un compuesto de acuerdo con la invención que se encuentra en la forma de una de sus sales, en particular cuando esta forma salina del compuesto confiere propiedades farmacocinéticas mejoradas en comparación con su forma libre. La forma salina farmacéuticamente inocua del compuesto puede conferir a este compuesto también en primer lugar una propiedad farmacocinética deseada y puede influir positivamente incluso la farmacodinámica del compuesto en relación a su actividad terapéutica en el organismo.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden ser quirales debido a su estructura molecular y de manera correspondiente a esto se producen en distintas formas enantioméricas. Por tanto pueden encontrarse en forma racémica o en forma ópticamente activa. Dado que puede diferenciarse la actividad farmacéutica de los racematos o bien de los estereoisómeros de los compuestos de fórmula (IV), puede ser deseable usar los enantiómeros. En estos casos puede separarse el producto final o ya el producto intermedio en compuestos enantioméricos, mediante medidas químicas o físicas conocidas por el experto, o puede usarse ya como tal en la síntesis.

Se sabe generalmente que los átomos pueden tener masas atómicas o números másicos, que pueden desviarse de las masas atómicas o números másicos que se producen habitualmente en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que están disponibles comercialmente y que pueden incorporarse mediante procedimientos conocidos en un compuesto de acuerdo con la invención, son isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, por ejemplo ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{18}O , ^{17}O , ^{18}F y ^{36}Cl . La incorporación de isótopos más pesados, en particular deuterio (^2H) en un compuesto de acuerdo con la invención tiene ventajas terapéuticas que se encuentran establecidas en la estabilidad metabólica más alta de este compuesto marcado con isótopos. La estabilidad metabólica más alta conduce directamente a un elevado tiempo de vida medio *in vivo*, lo que permite una dosificación más baja.

Por tanto se refieren las definiciones de los átomos H, C, N etc., tal como se usa en los compuestos de acuerdo con la invención, también a los isótopos más pesados de estos átomos.

De acuerdo con la invención se prefiere especialmente el uso de D (deuterio, ^2H) en lugar de hidrógeno (^1H).

Uso

Se encontró sorprendentemente que los compuestos de acuerdo con la invención producen una inhibición específica de proteína cinasas, especialmente ATM cinasa. De manera correspondiente, la presente invención proporciona inhibidores de ATM, que se seleccionan de los compuestos de acuerdo con la invención.

En el contexto de la invención presentada en el presente documento se proporcionaron por primera vez compuestos de 2,3-dihidro-1H-imidazol[4,5-c]quinolina novedosos. Los compuestos de acuerdo con la invención controlan de manera afín y/o selectiva las serina-treonina-proteína cinasas y concretamente en particular ATM cinasa. Los compuestos de fórmula (IV) y sus derivados se caracterizan por una alta especificidad y estabilidad, bajos costes de preparación y fácil manipulación. Tales propiedades forman la base para un modo de acción reproducible y la interacción fiable y segura con las correspondientes estructuras objetivo. La invención incluye también el uso de los presentes derivados de 2,3-dihidro-1H-imidazol[4,5-c]quinolina para la inhibición, regulación y/o modulación de la cascada de señal de serina-treonina-proteína cinasas, en particular ATM cinasa, y ofrece con ello novedosas herramientas de investigación y/o diagnóstico.

Otro objeto de la invención se refiere por tanto al uso de compuestos de acuerdo con la invención y/o sus solvatos, sales, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, para la inhibición de serina-treonina-proteína cinasas, en particular ATM cinasa. El término "inhibición" se refiere a cualquier reducción de la actividad que se basa en la acción del compuesto de acuerdo con la invención específico, pudiendo este último interactuar con la molécula objetivo de manera que se permita una identificación, unión y bloqueo. Los compuestos se caracterizan por alta afinidad a ATM cinasa, de manera que se garantiza una unión fiable y preferentemente un bloqueo completo de la actividad cinasa. Los compuestos son además muy selectivos y permiten con ello un reconocimiento exclusivo e inmediato de la ATM cinasa. El término de "reconocimiento" se refiere a este respecto a cualquier tipo de interacción entre el compuesto y las moléculas objetivo mencionadas, en particular enlaces covalentes o no covalentes, tal como por ejemplo un enlace covalente, interacciones hidrófobas/hidrófilas, fuerzas de van der Waals, relación iónica, puentes de hidrógeno, interacciones de ligando-receptor, apareamientos de bases de nucleótidos o interacciones entre epítopo y sitios de unión a anticuerpo.

Los compuestos de acuerdo con la invención y/o sus sales, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, son adecuados para su uso en el tratamiento de enfermedades que se producen, se median y/o se propagan mediante actividad de serina-treonina-proteína cinasas, y concretamente en particular ATM.

La presente invención se refiere a los compuestos de acuerdo con la invención y/o sus solvatos, sales, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones para su uso como medicamento.

De acuerdo con la invención se divulgan los compuestos de acuerdo con la invención y/o sus sales, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones para su uso en el tratamiento de enfermedades que se producen, se median y/o se propagan mediante la actividad de serina-treonina-proteína cinasas, y concretamente en particular ATM cinasa.

Se divulgan también los compuestos de acuerdo con la invención y/o sus solvatos, sales, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, para su uso en el tratamiento de enfermedades que se producen, se median y/o se propagan mediante la actividad de serina-treonina-proteína cinasas, y concretamente en particular ATM cinasa. Es objeto de la presente invención de manera correspondiente también el uso de compuestos de acuerdo con la invención y/o sus solvatos, sales, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, para la preparación de un fármaco para el tratamiento de enfermedades, que se producen, se median y/o se propagan mediante la actividad de serina-treonina-proteína cinasas, en particular ATM cinasa. Expresado de otra manera, la presente invención divulga también un compuesto de acuerdo con la invención y/o sal, solvato, tautómero o estereoisómero del mismo que puede usarse de acuerdo con la invención, para su uso en el tratamiento de enfermedades que se ven influidas por la inhibición de ATM cinasa.

Para la identificación de una vía de transmisión de señales correspondiente y para la detección de interacciones entre distintas vías de transmisión de señales se han desarrollado modelos adecuados o sistemas de modelo, por ejemplo modelos de cultivo celular (Khwaja *et al.* (1997) EMBO 16: 2783) y modelos de animales transgénicos (White *et al.* (2001) Oncogene 20: 7064). Para la determinación de determinadas etapas en la cascada de transmisión de señales pueden usarse compuestos de interacción para modular la señal (Stephens *et al.* (2000) Biochemical J 351: 95). Además, los compuestos de acuerdo con la invención pueden usarse también como reactivos para someter a prueba vías de transmisión de señales dependientes de cinasa en animales y/o modelos de cultivo celular o en las enfermedades clínicas mencionadas en esta solicitud. Tal como se ha tratado en el presente documento, son relevantes estas vías de señales para distintas enfermedades. De manera correspondiente a esto, los compuestos de acuerdo con la invención pueden usarse en la profilaxis, terapia y/o control de desarrollo de enfermedades que dependen de vías de señales con participación de serina-treonina-proteína cinasas, preferentemente ATM cinasa.

El objeto de la presente invención son también los compuestos de acuerdo con la invención y/o sus solvatos, sales, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, para su uso en el tratamiento de cáncer, tumores y/o metástasis o bien su uso en la preparación de un fármaco para precisamente estos usos.

El tumor se selecciona en particular del grupo de enfermedades de células escamosas, vejiga, estómago, riñón, cabeza, garganta, esófago, cuello uterino, glándula tiroidea, intestino, hueso, hígado, cerebro, próstata, tracto genitourinario, sistema linfático, laringe, pulmón, piel, sangre y sistema inmunitario y/o el cáncer se selecciona del grupo de leucemia monocítica, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, cáncer de páncreas, glioblastoma, carcinoma de intestino, carcinoma de mama, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfática aguda, leucemia linfática crónica, linfoma de Hodgkin y linfoma de no Hodgkin.

Un medicamento, preferentemente para su uso en el tratamiento de cáncer y/o tumores, preferentemente de los tipos de cáncer o bien de tumor mencionados anteriormente, puede prepararse mediante:

- i. determinación de que una concentración, con la que un compuesto de acuerdo con la invención y/o sal, solvato, tautómero o estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente consiga una inhibición del 50 % de la actividad de ATM cinasa, ascienda a 500 nM o inferior, preferentemente a 100 nM, 10 nM, 1 nM o inferior y
- ii. preparación de una composición farmacéutica que contiene el compuesto.

La determinación de la inhibición al 50 % de la actividad de ATM cinasa se realiza a este respecto preferentemente con ayuda del ensayo descrito en el presente documento (CI50 ATM).

Los compuestos de acuerdo con la invención y/o sus solvatos, sales tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, pueden ser adecuados también para su uso en la ralentización de procesos de envejecimiento, realizándose la ralentización por medio de la comparación de la esperanza de vida del huésped tratado o sus células, cultivos celulares, tejidos u órganos con correspondientes controles positivos o negativos y/o estadísticas.

La invención enseña además un procedimiento para el tratamiento de cáncer, tumores y/o metástasis, en el que se administra una cantidad eficaz al menos de un compuesto de acuerdo con la invención y/o sus solvatos, sales, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, a una persona de experimentación que va a tratarse. Las personas de experimentación preferentes en el sentido de la invención son ser humano o animal, de manera especialmente preferente el ser humano. A este respecto, el experto sabe que puede administrar los compuestos de acuerdo con la invención, que pueden usarse lógicamente también como el agente farmacéutico de acuerdo con la invención, en distintas dosificaciones a un organismo, en particular a un paciente humano. La cantidad eficaz y el tipo de administración pueden determinarse por el experto mediante ensayos rutinarios. La enseñanza previa de la invención y sus formas de realización son válidas y pueden usarse sin limitaciones sobre el procedimiento de tratamiento, siempre que parezca razonable.

Los compuestos de acuerdo con la invención, sus sales, isómeros, tautómeros, enantiómeros, diastereómeros, racematos, derivados, profármacos y/o metabolitos son eficaces no sólo en el caso de los cuadros clínicos mencionados, sino también en el diagnóstico y terapia de todas las enfermedades en relación con la cascada de señal de ATM, sobre todo con respecto a la inhibición de la proliferación y migración celular.

- 5 Además pueden usarse los inhibidores de acuerdo con la invención en el tratamiento de enfermedades retrovirales mediante una represión de la integración retroviral (R. Daniel (1999) Science 284: 644). Finalmente pueden usarse las sustancias inhibitorias de acuerdo con la invención como inmunomoduladores así como moduladores del mantenimiento de los telómeros.

10 Es objeto de la presente invención además el uso de un compuesto de acuerdo con la invención y/o derivado, sal, solvato, tautómero o estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente, para la inhibición de una proteína cinasa, y concretamente en particular ATM cinasa *in vitro*.

15 El uso mencionado de compuestos de acuerdo con la invención y/o sus solvatos, sales, tautómeros y/o estereoisómeros que pueden usarse farmacéuticamente, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, para la inhibición de serina-treonina-proteína cinasas, y concretamente en particular ATM cinasa, puede realizarse en modelos *in vitro* o *in vivo*. La susceptibilidad de una determinada célula frente al tratamiento con los compuestos de acuerdo con la invención puede determinarse mediante ensayo *in vitro*. Normalmente se cultiva un cultivo de la célula con un compuesto de acuerdo con la invención con distintas concentraciones durante un periodo de tiempo que sea suficiente para hacer posible que los agentes activos induzcan la muerte celular o inhiban la proliferación celular, la vitalidad celular o la migración, habitualmente entre aproximadamente una hora y una semana. Para ellos 20 ensayos *in vitro* pueden usarse células cultivadas de una muestra de biopsia. Entonces se determina la cantidad de células que quedan tras el tratamiento. El uso *in vitro* se realiza en particular en muestras de especies de mamífero que padecen cáncer, tumores, metástasis, alteraciones de la angiogénesis, enfermedades retrovirales, enfermedades inmunitarias y/o procesos de envejecimiento patogénicos. El huésped o paciente puede pertenecer a cualquier especie de mamífero, por ejemplo de una especie de primates, en particular ser humano, sin embargo también roedores (incluyendo ratones, ratas y hámsteres), conejos, caballos, vacas, perros, gatos etc.. Los modelos de animal son interesantes para estudios experimentales, facilitando éstos un modelo para el tratamiento de una enfermedad del ser humano.

25 El ensayo de varios compuestos específicos permite la elección del compuesto o bien del principio activo, que parece adecuado de la mejor manera para el tratamiento del paciente. La dosis *in vivo* del compuesto seleccionado se adapta ventajosamente a la susceptibilidad de la cinasa y/o gravedad de la enfermedad del paciente con respecto a los datos *in vitro*, de manera que se haya elevado notablemente la actividad terapéutica. La dosis varía dependiendo del compuesto específico usado, de la enfermedad específica, del estado del paciente etc. Normalmente es suficiente una dosis terapéutica para reducir considerablemente la población celular indeseada en el tejido diana, mientras se mantiene la viabilidad del paciente.

35 La enseñanza divulgada en el presente documento de la invención y sus formas de realización que se refieren al uso de compuestos como o bien para la preparación de un fármaco para el tratamiento es válida y puede aplicarse sin limitaciones al uso de los compuestos para la inhibición de la actividad cinasa, siempre que parezca razonable.

40 El tratamiento se continúa en general hasta que se encuentre una reducción considerable, por ejemplo al menos de aprox. un 50 % de reducción de la carga celular y puede continuarse hasta que ya no se detecte en el organismo ninguna célula indeseada. En ensayos de este tipo muestran y producen los compuestos de acuerdo con la invención un efecto inhibitorio que se documenta habitualmente mediante valores CI_{50} en un intervalo adecuado, preferentemente en el intervalo micromolar y más preferentemente en el intervalo nanomolar. La cinasa se inhibe en particular en un 50 % cuando la concentración de los compuestos es inferior a 1 μM , preferentemente es igual o inferior a 0,5 μM , de manera especialmente preferente es inferior a 0,1 μM , 0,05 μM o 0,001 μM . Esta concentración se designa como valor CI_{50} y se determina preferentemente con ayuda del ensayo descrito en el presente documento (CI_{50} ATM). " μM " de acuerdo con la nomenclatura habitual representa micromol por litro, "nM" representa nanomol por litro.

Ensayos

50 Los compuestos de acuerdo con la invención muestran una actividad biológica ventajosa que puede detectarse en el ensayo descrito en el presente documento, tal como por ejemplo ensayos a base de enzimas.

55 La medición de la actividad cinasa es una técnica bien conocida por el experto. Los sistemas de ensayo genéricos para la determinación de la actividad cinasa con sustratos, por ejemplo histona (Alessi *et al.* (1996) FEBS Lett. 399(3): 333) o la proteína mielina básica se han descrito en la bibliografía (Campos-González & Glenney (1992) JBC 267: 14535). Para la identificación de inhibidores de cinasa están a disposición distintos sistemas de ensayo. En el ensayo de proximidad por centelleo (Sorg *et al.* (2002) J Biomolecular Screening 7: 11) y el ensayo FlashPlate se

miden la fosforilación radiactiva de una proteína o péptido como sustrato con ATP. En el caso de existencia de un compuesto inhibidor no puede detectarse ninguna o puede detectarse una señal radiactiva reducida. Además son útiles las tecnologías de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia con resolución temporal homogénea (HTR-FRET) y de polarización fluorescente (FP) como procedimientos de ensayo (Sills *et al.* (2002) *J Biomolecular Screening* 191). Otros procedimientos ELISA no radiactivos usan fosfo-anticuerpos específicos (fosfo-Ac). El fosfo-Ac se une sólo al sustrato fosforilado. Esta unión puede detectarse con un segundo anticuerpo anti-oveja conjugado con peroxidasa mediante quimioluminiscencia.

En el contexto de la presente invención se determina la inhibición de la actividad de ATM preferentemente con ayuda del siguiente ensayo:

10 **Ensayo de ATM-cinasa – determinación de la inhibición de ATM (CI50 ATM):**

El valor CI₅₀ se determinó con ayuda de un ensayo de ATM-cinasa bioquímico. El ensayo está constituido por dos etapas: la reacción enzimática y la etapa de detección. En primer lugar se incuban la proteína ATM (*Ataxia Telangiectasia* mutada) y la sustancia de prueba en distintas concentraciones más proteína sustrato p53 y ATP. ATM media la fosforilación de p53 en varias posiciones, entre otros en el aminoácido S15. La cantidad de p53 fosforilado se determina con ayuda de anticuerpos específicos y de la técnica TR-FRET. El ensayo de ATM enzimático se realiza como ensayo de 384 pocillos basado en TR-FRET (HTRF™, Cisbio Bioassays). En la primera etapa se incubaba ATM recombinante humana purificada (ATM humana, longitud completa, GenBank-ID NM_000051, expresada en una línea celular de mamífero) en tampón de ensayo durante 15 minutos con el inhibidor de ATM en distintas concentraciones así como sin sustancia de prueba como control negativo o bien neutro. El tampón de ensayo contiene HEPES 25 mM pH 8,0, Mg(CH₃COO)₂ 10 mM, MnCl₂ 1 mM, 0,1 % de BSA, 0,01 % de Brij® 35, ditiotreititol (DTT) 5 mM. Las soluciones de sustancia de prueba se dispensaron con un ECHO 555 (Labcyte) en las placas de microtitulación. En la segunda etapa se añadieron p53 marcado con cmc recombinante humano purificado (p53 humano, longitud completa, GenBank-ID BC003596, expresado en células de insecto Sf21) y ATP y la mezcla de reacción se incubó durante 30 – 35 minutos a 22 °C. El volumen de ensayo farmacológicamente relevante asciende a 5 µl. Las concentraciones finales en el ensayo durante la incubación de la mezcla de reacción son 0,3 - 0,4 nM de ATM, 50 - 75 nM de p53 y 10 µM de ATP. La reacción enzimática se detiene mediante la adición de EDTA. La formación de p53 fosforilado como resultado de la reacción mediada por ATM en presencia de ATP se detecta a través de anticuerpos específicos [marcados con el fluoróforo europeo (Eu) como donador y d2 como aceptor (Cisbio Bioassays)], que hace posible FRET. Para ello se añaden 2 µl de solución de detención que contiene anticuerpos (HEPES 12,5 mM pH 8,0, EDTA 125 mM, cloruro de sodio 30 mM, fluoruro de potasio 300 mM, 0,006 % de Tween-20, 0,005 % de Brij®35, anticuerpo anti-phospho-p53(ser15)-Eu 0,21 nM, anticuerpo anti-cmyc-d2 15 nM) a la mezcla de reacción. Las placas se analizan tras incubación habitualmente durante 2 horas (entre 1,5 y 15 h) para el desarrollo de señales en un aparato de lectura de placas (EnVision, PerkinElmer) usando el modo TRF (así como con excitación con láser). Tras excitación del donador europeo con una longitud de onda de 340 nm se miden la luz de fluorescencia emitida tanto del aceptor d2 a 665 nm como también del donador Eu a 615 nm. La cantidad de p53 fosforilado es directamente proporcional al cociente de las cantidades de luz emitidas, es decir las unidades de fluorescencia relativas (RFU) en 665 nm y 615 nm. Los datos de medición se procesaron por medio del software Genedata Screener. Las determinaciones CI₅₀ se determinan en particular mediante adaptación de una curva de acción de dosis a los puntos de datos por medio de análisis de regresión no lineal.

40 CI₅₀ = la mitad de la concentración inhibidora máxima

ATP = adenosintrifosfato

TR-FRET = transferencia de energía por resonancia de fluorescencia con resolución temporal

HTRF® = fluorescencia con resolución temporal homogénea

HEPES = ácido 2-(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinil)-etanosulfónico

45 Mg(CH₃COO)₂ = acetato de magnesio

MnCl₂ = cloruro de manganeso (II)

BSA = albúmina de suero bovino

EDTA = etilendiamintetraacetato

TRF = fluorescencia con resolución temporal

50 La actividad de las sustancias de acuerdo con la invención en entorno celular puede determinarse con ayuda del siguiente ensayo:

Ensayo de pCHK2 celular:

Para la identificación de sustancias que inhiben la fosforilación de la proteína cinasa CHK2 en el aminoácido treonina68, se usó en células HCT116 un ensayo de análisis de "alto contenido" a base de inmunofluorescencia.

55 Ensayo de inmunofluorescencia basado en célula *in vitro* para la identificación de inhibidores de la fosforilación inducida con bleomicina de CHK2 (fosfo-Thr68) en la línea celular de carcinoma de colon humano HCT116:

Se siembran células HCT116 en densidad de células definida en placas de múltiples pocillos de 384 pocillos en medio de cultivo (DMEM high glucose, 2 mM GlutaMax, 1mM piruvato de Na, 10 % de FCS) y se incuban durante la noche a 37 °C y 10 % de CO₂. Al día siguiente se añaden las sustancias de prueba en intervalo de concentración definido (de 1 nM a 30 μM) en combinación con 10 mM de bleomicina, manteniéndose la concentración del disolvente DMSO constante en un 0,5 %. Tras cuatro horas de incubación a 37 °C y un 10 % de CO₂ se fijan las células (15 min, 4 % de formaldehído en PBS), se permeabilizan (10 min, 0,2 % de Triton X-100 en PBS) y tras bloqueo de sitios de unión inespecíficos (10 % de suero de cabra, 1 % de BSA en PBS) se incuban durante la noche a 4 °C con un anticuerpo anti-pCHK2 específico (Cell Signaling #2661). La detección de pCHK2 (Thr68) se realiza con un anticuerpo anti-IgG de conejo secundario marcado con Alexa488. La tinción paralela de ADN con yoduro de propidio permite la determinación del número de células. La detección de la señal de pCHK2 se realiza con un high-content-Imager (IMX Ultra de Molecular Devices) y análisis automático de imágenes con el software perteneciente al aparato MetaXpress. Se determina el número de núcleos celulares que presentan una señal de pCHK2 por medio de un fondo definido.

Además puede determinarse la acción, en particular inhibición, de otras cinasas y con ello la selectividad de los compuestos de acuerdo con la invención con ayuda de los siguientes ensayos:

mTOR (humana)

Se incubó mTOR (humana) con HEPES 50 mM pH 7,5, EGTA 1 mM, 0,01 % de Tween 20, 2 mg/ml del sustrato, MnCl₂ 3 mM y [γ -³³P-ATP] (actividad específica aproximadamente 500 cpm/pmol, concentración tal como se requiera). La reacción se inició mediante adición de una solución de MgATP. Tras una incubación de 40 minutos a temperatura ambiente se detuvo la reacción mediante adición del 3 % de ácido fosfórico. Entonces se añadieron gota a gota 10 μl de la solución de reacción a un P30 Filtermat y se lavó tres veces durante 5 min en ácido fosfórico 75 mM y una vez en metanol, se secó y se evaluó por medio de recuento por centello líquido.

PI3K p110α/p85α (humana), ensayo no radiactivo

Se incubó PI3K p110α/p85α (humana) en un tampón de ensayo de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato 10 μM y MgATP (concentración tal como sea necesaria). La reacción se inició mediante adición de solución de ATP. Tras una incubación de 40 minutos a temperatura ambiente se detuvo la reacción mediante adición de una solución que está constituida por EDTA y fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato biotilado. Finalmente se añadió el tampón de detección que está constituido por un anticuerpo monoclonal anti-GST etiquetado con europio, un dominio GRP1 PH marcado con GST y estreptavidina alofococianina. La placa se leyó por medio de fluorescencia con resolución temporal homogénea (HTRF) y las correspondientes señales se evaluaron con ayuda de la fórmula $HTRF = 10000 \times (Em665nm/Em620nm)$.

PI3K p110β/p85α (humana), ensayo no radiactivo

Se incubó PI3K p110β/p85α (humana) en un tampón de ensayo de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato 10 μM y MgATP (concentración tal como sea necesaria). La reacción se inició mediante adición de solución de MgATP. Tras un tiempo de incubación de 30 min a temperatura ambiente se detuvo la reacción mediante adición de una solución que está constituida por EDTA y fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato biotilado. Finalmente se añadió el tampón de detección que está constituido por un anticuerpo monoclonal anti-GST etiquetado con europio, un dominio GRP1 PH marcado con GST y estreptavidina alofococianina. La placa se leyó por medio de fluorescencia con resolución temporal homogénea (HTRF) y las correspondientes señales se evaluaron a través de la fórmula $HTRF = 10000 \times (Em665nm/Em620nm)$.

PI3K p110δ/p85α (humana), ensayo no radiactivo

Se incubó PI3K p110δ/p85α (humana) en un tampón de ensayo de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato 10 μM y MgATP (concentración tal como sea necesaria). La reacción se inició mediante adición de solución de MgATP. Tras un tiempo de incubación de 30 min a temperatura ambiente se detuvo la reacción mediante adición de una solución que está constituida por EDTA y fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato biotilado. Finalmente se añadió el tampón de detección que está constituido por un anticuerpo monoclonal anti-GST etiquetado con europio, un dominio GRP1 PH marcado con GST y estreptavidina alofococianina. La placa se leyó por medio de fluorescencia con resolución temporal homogénea (HTRF) y las correspondientes señales se evaluaron a través de la fórmula $HTRF = 10000 \times (Em665nm/Em620nm)$.

PI3K (p120γ) (humana), ensayo no radiactivo

Se incubó PI3K (p120γ) (humana) en un tampón de ensayo de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato 10 μM y MgATP (concentración tal como sea necesaria). La reacción se inició mediante adición de solución de MgATP. Tras un

tiempo de incubación de 30 min a temperatura ambiente se detuvo la reacción mediante adición de una solución que está constituida por EDTA y fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato biotilado. Finalmente se añadió el tampón de detección que está constituido por un anticuerpo monoclonal anti-GST etiquetado con europio, un dominio GRP1 PH marcado con GST y estreptavidina alofocianina. La placa se leyó por medio de fluorescencia con resolución temporal homogénea (HTRF) y las correspondientes señales se evaluaron a través de la fórmula $HTRF = 10000 \times (Em665nm/Em620nm)$.

MgATP = 5'-O-[hidroxi(((hidroxifosfinato)oxi]fosfinato)oxi)-fosfpril]adenosina de magnesio

MgCl₂ = dicloruro de magnesio

EGTA = ácido etilenglicol-bis(aminoetiléter)-N,N,N',N'-tetraacético

Tween 20 = polisorbato 20

Fármaco/composición farmacéutica

Es objeto de la invención también un fármaco o bien medicamento que comprende al menos un compuesto de acuerdo con la invención y/o sus solvatos, sales, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones.

Es objeto de la invención además una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de al menos un compuesto de acuerdo con la invención y/o una de sus sales, solvatos, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, opcionalmente junto con al menos un coadyuvante farmacéuticamente compatible o bien opcionalmente un vehículo y/o coadyuvante.

Un "fármaco", "medicamento" así como una "composición farmacéutica" o "formulación farmacéutica" ha de entenderse como cualquier agente que puede usarse en la profilaxis, terapia, control del desarrollo o tratamiento posterior de pacientes que muestran al menos temporalmente una modificación patogénica del estado total o bien del estado de partes individuales del organismo del paciente, preferentemente como consecuencia de cáncer, tumores y/o metástasis.

Para aumentar la acción protectora o terapéutica de los compuestos de acuerdo con la invención pueden añadirse adyuvantes farmacéuticamente compatibles. En el sentido de la invención, un "adyuvante" es cualquier sustancia que permita, refuerce o modifique una acción con los compuestos de acuerdo con la invención. Los adyuvantes conocidos son por ejemplo compuestos de aluminio, tal como por ejemplo hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio, saponina, tal como por ejemplo QS 21, dipéptido de muramilo o tripéptido de muramilo, proteínas, tal como por ejemplo gamma-interferón o TNF, MF 59, fosfatodibilcolina, escualeno o polioles. Igualmente, la co-aplicación de albúmina de huevo en adyuvante completo de Freund puede producir un aumento de la inmunidad mediada por célula y por consiguiente puede fomentar la acción de anticuerpos neutralizantes formados. Además, el ADN que tiene una propiedad inmunoestimuladora o que codifica una proteína con efecto adyuvante, tal como por ejemplo una citocina, puede aplicarse de manera paralela o en un constructo.

La introducción del agente farmacéutico en una célula o bien un organismo puede realizarse de acuerdo con la invención de cualquier modo y manera que permita que las cinasas se pongan en contacto con los compuestos contenidos en la composición, y en consecuencia se induzca una respuesta. El agente farmacéutico de la presente invención puede administrarse por vía oral, transdérmica, transmucosa, transuretral, vaginal, rectal, pulmonar, enteral y/o parenteral. El modo seleccionado de la administración depende de la indicación, de la dosis que va a administrarse, de parámetros específicos del individuo etc. En particular, los distintos modos de administración permiten una terapia específica del sitio que minimiza los efectos secundarios y reduce la dosis de principio activo. Las inyecciones muy especialmente preferentes son la inyección intradérmica, subcutánea, intramuscular o intravenosa. La administración puede realizarse por ejemplo con ayuda de las denominadas pistolas de vacunación o por medio de inyección. Es también posible facilitar la sustancia como aerosol que se inhale por el organismo, preferentemente un paciente humano.

Las formas de administración del agente farmacéutico se preparan con los vehículos y/o agentes de dilución sólidos o líquidos habituales y los coadyuvantes usados habitualmente de manera correspondiente al modo de administración deseado en una dosificación adecuada y de manera en sí conocida. Básicamente, los excipientes farmacéuticamente aceptables y conocidos por el experto pueden formar una parte del agente farmacéutico de acuerdo con la invención, variando la cantidad del material de excipiente, que se combina con el principio activo para preparar una dosificación individual, dependiendo del individuo que va a tratarse y del tipo de administración. Estas adiciones farmacéuticamente compatibles comprenden sales, tampón, cargas, estabilizadores, agentes formadores de complejo, antioxidantes, disolventes, aglutinantes, lubricantes, recubrimientos de comprimidos, sustancias de sabor, colorantes, conservantes, agentes de suspensión y similares. Ejemplos de tales excipientes son agua, aceites vegetales, alcoholes bencílicos, alquilenglicol, polietilenglicol, Kolliphor, triacetato de glicerol, gelatina, hidratos de carbono, tal como por ejemplo lactosa o almidón, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), estearato de magnesio, talco y vaselina.

La formulación farmacéutica puede encontrarse como comprimido, comprimido de película, gragea, comprimido para chupar, cápsula, píldora, polvo, granulado, jarabe, zumo, gotas, solución, dispersión, suspensión, supositorio, emulsión, implante, crema, gel, pomada, pasta, loción, suero, aceite, pulverización, aerosol, adhesivo, apósito o vendaje. Como forma de administración oral se preparan preferentemente comprimidos, comprimidos de película, grageas, comprimidos para chupar, cápsulas, píldoras, polvos, granulados, jarabes, zumos, gotas, soluciones, dispersiones o suspensiones – también como forma de depósito. Además se consideran formas farmacéuticas parenterales, tal como por ejemplo supositorios, suspensiones, emulsiones, implantes o soluciones, preferentemente soluciones aceitosas o acuosas. Para la administración tópica se formula el principio activo de fármaco con al menos un vehículo aceptable farmacéuticamente, tal como por ejemplo celulosa microcristalina, y eventualmente otros coadyuvantes, tal como por ejemplo agentes donadores de humedad, para dar formulaciones sólidas que pueden aplicarse sobre la piel, tal como por ejemplo cremas, geles, pomadas, pastas, polvos o emulsiones o bien para dar formulaciones líquidas que pueden aplicarse sobre la piel, tal como por ejemplo soluciones, suspensiones, lociones, sueros, aceites, pulverizaciones o aerosoles de manera habitual. Preferentemente se encuentra el agente farmacéutico como solución para inyección. Para la preparación de la solución para inyección pueden usarse medios acuosos, tal como por ejemplo agua destilada o soluciones salinas fisiológicas, incluyendo éstas últimas sales de adición ácidas y básicas. El agente farmacéutico puede encontrarse también como composición sólida, por ejemplo en el estado liofilizado y puede prepararse entonces mediante adición de un agente disolvente, tal como por ejemplo agua destilada, antes de su uso. Los principios básicos de la preparación de liofilizados los conoce muy bien el experto.

La concentración del compuesto activo en la formulación puede ascender a del 0,1 al 100 por ciento en peso. Es decisivo que la composición farmacéutica comprenda como principio activo una cantidad eficaz del compuesto junto con los coadyuvantes farmacéuticamente compatibles. Los términos “cantidad eficaz”, “cantidad activa” o “dosis eficaz” se usan en el presente documento de manera intercambiable y designan una cantidad del principio activo farmacéutico que tiene una acción profiláctica o terapéuticamente relevante sobre una enfermedad o modificación patológica en célula, tejido, órgano o mamífero. Una “acción profiláctica” impide la producción de una enfermedad o incluso la infección con un patógeno tras la penetración de agentes individuales de manera que se reduzca mucho su producción posterior o incluso se inactiven completamente. Una “acción profiláctica” comprende también el aumento de la función fisiológica normal. Una profilaxis es en particular aconsejable cuando un individuo presenta predisposiciones para la producción de las enfermedades mencionadas anteriormente, tal como por ejemplo una predisposición familiar, un defecto génico o una enfermedad superada hace poco. Una “acción terapéuticamente relevante” libera parcial o completamente uno, varios o todos los síntomas patológicos o conduce al retorno parcial o completo de uno, de varios o de todos los parámetros fisiológicos o bioquímicos que están en relación con la enfermedad o modificación patológica o son causales de ello, al estado normal. También se entiende el control del desarrollo como un tipo de tratamiento terapéutico cuando los compuestos se administran en determinados intervalos, por ejemplo para eliminar completamente los síntomas de una enfermedad. La respectiva dosis o bien el intervalo de dosis para la administración de los compuestos de acuerdo con la invención es suficientemente grande para conseguir el efecto profiláctico o terapéutico deseado de la inducción de una respuesta biológica o médica. En general se varía la dosis con la edad, la constitución y el sexo del paciente y se tiene en consideración la gravedad de la enfermedad. Se entiende que la dosis específica, la frecuencia y la duración de la administración dependen además de una pluralidad de factores, tal como por ejemplo de la capacidad del control de la diana y la capacidad de unión de los compuestos, el hábito nutricional del individuo que va a tratarse, el tipo de administración, la velocidad de excreción y la combinación con otros medicamentos. La dosis individual puede ajustarse tanto en relación a la enfermedad primaria como también en relación a la aparición de complicaciones eventuales. La dosis exacta puede determinarse por un experto con medios y procedimientos conocidos. Esta enseñanza de la invención es válida y puede aplicarse sin limitaciones a la composición farmacéutica que comprende los compuestos de acuerdo con la invención, siempre que parezca razonable.

En una forma de realización de la invención se administran los compuestos en una dosis de 0,01 mg a 1 g por unidad de dosificación, preferentemente entre 1 a 700 mg, de manera especialmente preferente de 5 a 100 mg. La dosificación diaria se encuentra en particular entre 0,02 y 100 mg/kg de peso corporal.

Debido a su inhibición de cinasa sorprendentemente fuerte y/o selectiva, en particular inhibición de ATM-cinasa, que regula los procesos celulares por medio de la reparación de ADN de cadena doble, pueden administrarse los compuestos de la invención en dosificación ventajosamente baja, mientras que consiguen en comparación con inhibidores menos potentes o bien menos selectivos una actividad biológica similar o incluso superior. Una dosis reducida va acompañada normalmente de efectos secundarios médicos reducidos. Además se refleja una inhibición altamente selectiva generalmente también mediante una reducción de efectos secundarios indeseados.

Todas las partes constituyentes o bien componentes mencionados así como otros de un medicamento o bien de una formulación farmacéutica son familiares para el experto y pueden experimentar en ensayos de rutina una configuración especial para la enseñanza de acuerdo con la invención.

Terapia de combinación

Los fármacos y las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de acuerdo con la invención y el uso de estos compuestos para el tratamiento de alteraciones mediadas por cinasa son un planteamiento prometedor para un amplio espectro de terapias, de manera que pueda conseguirse en el ser humano y animal una paliación directa e inmediata de síntomas. Esto es especialmente ventajoso para la lucha eficaz contra enfermedades graves tal como cáncer, o bien como monoterapia, tal como se ha mencionado anteriormente, o en combinación con otras terapias, tal como por ejemplo quimio- o radioterapia. La participación clave de ATM en procesos de reparación de ADN y la detección de que la falta de ATM-cinasa puede hacer que las células de mamífero se vuelvan más sensibles a la radiación, permite una aplicación terapéutica de inhibidores específicos de ATM en el contexto del tratamiento de por ejemplo tumores cancerígenos sólidos mediante radioterapia y/o mediante una quimioterapia dirigida preferentemente a daños en la cadena doble de ADN.

Para el fomento de la acción médica puede comprender la composición farmacéutica de manera correspondiente en una configuración de la invención también uno o varios principios activos adicionales, por ejemplo un agente antineoplásico, siendo concebible una administración simultánea o sucesiva. La acción terapéutica de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede consistir por ejemplo en que mediante la inhibición de cinasa actúan mejor determinados agentes antineoplásicos o mediante la reducción de la dosis se reduce el número de efectos secundarios de estos medicamentos. De manera correspondiente pueden administrarse los compuestos de acuerdo con la invención en combinación con otros principios activos, incluyendo agentes antineoplásicos.

En una forma de realización preferente de la invención se combina la composición farmacéutica de acuerdo con la invención con un agente antineoplásico o bien comprende éste. De manera correspondiente es objeto de la presente invención también un compuesto de acuerdo con la invención y/o derivado, sal, solvato, tautómero o estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente, para su uso en el tratamiento de cáncer, tumores y/o metástasis en combinación con al menos un agente antineoplásico.

Tal como se usa en el presente documento, se refiere el término “agente antineoplásico” a cualquier agente que se administra a un paciente con cáncer, tumores y/o metástasis para el fin del tratamiento del cáncer.

El agente antineoplásico se selecciona de manera especialmente preferente del grupo que comprende citocinas, quimiocinas, agentes pro-apoptóticos, interferones, compuestos radiactivos, moduladores del receptor de estrógenos, moduladores del receptor de andrógenos, moduladores del receptor retinoideo, agentes citotóxicos, agentes citoestáticos, inhibidores de prenil-proteína transferasa e inhibidores de angiogénesis o combinaciones de los mismos. Se prefiere que el agente antineoplásico modifique, en particular debilite el metabolismo de ácido nucleico y/o de proteínas, la división celular, la replicación de ADN, la biosíntesis de purina, pirimidina y/o aminoácidos, la expresión génica, el procesamiento de ARNm, la síntesis de proteínas, apoptosis o combinaciones de los mismos.

Los agentes antineoplásicos preferentes de acuerdo con la invención son aquellos que dañan el ADN de células tumorales y con ello intervienen en la replicación de ADN, la transcripción de ADN o la expresión génica. Para ello se tienen en cuenta en particular:

- agentes de alquilación, tal como altretamina, bendamustina, busulfán, carmustina, clorambucilo, clormetina, ciclofosfamida, dacarbazina, ifosfamida, improsulfantossilato, lomustina, melfalán, mitobronitol, mitolactol, nimustina, ranimustina, temozolomid, tiotepa, treosulfán, mecloretamina, carboquon, apaziquon, fotemustina, glufosfamida, palifosfamida, pipobromano, trofosfamida, uramustina,
- compuestos de platino, tal como carboplatino, cisplatino, eptaplatino, hidrato de miriplatino, oxaliplatino, lobaplatino, nedaplatino, picoplatino, satraplatino;
- inhibidores de DDR (*DNA damage response*), tal como inhibidores de topoisomerasa, por ejemplo etopósido, irinotecan, razoxan, sobuzoxan, topotecan, camptotecina, doxorubicina, amsacrina; inhibidores de poli-(ADP-ribosa)-polimerasa (PARP), por ejemplo talazoparib, olaparib, veliparib, rucaparib, CEP 9722, MK4827, BGB-290; inhibidores de ATR (relacionados con *Ataxia-telangiectasia* y Rad3), por ejemplo VE-822, AZ20, AZD6738;
- agentes de modificación de ADN, tal como amrubicina, bisantren, decitabina, mitoxantron, procarbazona, trabectedina, clofarabina, amsacrina, brostallicina, pixantrona, laromustina;
- antibióticos antineoplásicos, tal como bleomicina, dactinomicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, levamisol, miltefosina, mitomicina C, romidepsina, estreptozocina, valrubicina, zinostatina, zorubicina, daunorubicina, plicamicina, aclarubicina, peplomicina, pirarubicina;
- alfa-emisores, tal como alfaradina (dicloruro de ²²³Ra, Xofgio), ²¹¹At, ²¹³Bi, ²²⁵Ac, ²²⁷Th.

Se prefieren especialmente bleomicina, alfaradina, e inhibidores de DDR, por ejemplo etopósido, irinotecan, razoxan, sobuzoxan, topotecan, camptotecina, doxorubicina, amsacrina; talazoparib, olaparib, veliparib, rucaparib, CEP 9722, MK4827, BGB-290; VE-822, AZ20, AZD6738.

La invención puede practicarse también como kit que contiene los compuestos de acuerdo con la invención. El kit está constituido por envases (a) separados de una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la invención y/o un derivado, sal, solvato, tautómero y/o estereoisómero del mismo fisiológicamente inocuo, incluyendo mezclas en todas las relaciones, y (b) una cantidad eficaz de otro principio activo. El otro principio activo es preferentemente un agente antineoplásico.

El kit contiene recipientes adecuados, tal como por ejemplo cajas o cartones, botellas, sobres o ampollas individuales. El kit puede contener por ejemplo ampollas separadas, en las que se encuentra en cada caso una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la invención y/o sus derivados, solvatos, sales, tautómeros y/o estereoisómeros que pueden usarse farmacéuticamente, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, y una cantidad eficaz de otro principio activo de fármaco disueltas o en forma liofilizada. El kit de la invención puede incluir también un artículo que contiene instrucciones escritas o indica al usuario instrucciones escritas que explican el manejo de los compuestos de la invención.

Otra configuración de la presente invención se refiere a los compuestos de acuerdo con la invención en combinación con radioterapia y/o con al menos otro principio activo, preferentemente en combinación con radioterapia y/o un agente antineoplásico. Expresado de otra manera, otra configuración de la presente invención se refiere a los compuestos de acuerdo con la invención para su uso en el tratamiento de cáncer, tumores y/o metástasis en combinación con radioterapia. Además es objeto de la presente invención un compuesto de acuerdo con la invención y/o sal, solvato, tautómero o estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente, para su uso en la sensibilización de células cancerígenas frente a un agente antineoplásico y/o radiación ionizante.

Los métodos técnicos de radiación que se usan clínicamente comprenden preferentemente radiación de fotones (radiación de rayos X/gamma electromagnética, clásica), radiación de protones, radiación de iones pesados (carbono ionizado) así como radiación de neutrones, sin tener que limitarse a esto. El experto conoce estas radioterapias y otras terapias de radiación adecuadas en el sentido de la invención, tal como por ejemplo por Herrmann *et al.* (2006) *Klinische Strahlenbiologie*, Elsevier München, 4ª edición, 67-68; Bhide & Nutting (2010) *BMC Medicine* 8:25; Choi & Hung (2010) *Current Urology Reports* 11(3): 172. Como aplicación más frecuente se ha refinado la radiación de fotones técnicamente mediante el procedimiento IMRT (radioterapia modulada con intensidad) así como mediante técnicas de imagen (radioterapia conforme tridimensional) en la planificación y realización de la radiación para la focalización a ser posible exacta. Los compuestos de acuerdo con la invención consiguen en terapias y radiaciones existentes efectos sinérgicos y/o establecen de nuevo la actividad de terapias y radiaciones existentes. Aún otra configuración de la invención se refiere al uso de al menos un compuesto y/o sus derivados, sales, solvatos, tautómeros y/o estereoisómeros que pueden usarse farmacéuticamente, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, para la sensibilización de células cancerígenas frente a un agente antineoplásico y/o radiación ionizante (radioterapia) con la condición de que la sensibilización no se realice *in vivo* en el organismo humano o animal.

La sensibilización se realiza preferentemente *ex vivo* o *in vitro*, administrándose los compuestos a células, cultivos celulares, tejidos u órganos que comprenden serina-treonina-proteína cinasas. El uso *ex vivo* se emplea en particular en células animales que proceden de un organismo animal que está afectado de una enfermedad que se selecciona del grupo de cáncer, tumores, metástasis y/o alteraciones de la angiogénesis. Las células tratadas *ex vivo* o bien pueden mantenerse en cultivo posteriormente para estudios secundarios o pueden transferirse a un animal, pudiéndose tratar del animal huésped o de otro animal. La sensibilización *ex vivo* de acuerdo con la invención es ventajosa en particular para someter a prueba la acción específica de los compuestos, de modo que con evaluación de estos datos *ex vivo* pueda ajustarse previamente de manera correspondiente la dosis *in vivo*. Como resultado de esto se eleva significativamente el efecto terapéutico. Como alternativa, la invención está configurada también para la aplicación *in vivo* y se refiere a al menos un compuesto de acuerdo con la invención y/o sus sales, tautómeros y/o estereoisómeros fisiológicamente inocuos, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, para su uso para la sensibilización de células cancerígenas frente a un agente antineoplásico y/o radiación ionizante.

En resumen ha de mantenerse que los compuestos de acuerdo con la invención pueden usarse de manera individual y/o en combinación con otras medidas de tratamiento, tal como por ejemplo intervenciones quirúrgicas, inmunoterapia, radioterapia y/o quimioterapia. Estas últimas se refieren a una terapia dirigida a la diana con un NME cualquiera (es decir NCE y/o NBE) como monoterapia y/o terapia de combinación on-target/off-target.

Todos los documentos citados en la descripción deben incluirse por el presente documento en su totalidad como referencia en la divulgación de la presente invención.

Se entiende que esta invención no está limitada a los compuestos, composiciones farmacéuticas, usos y procedimientos específicos, tal como se ha descrito en el presente documento, dado que tales cosas pueden variar. Se entiende además que la terminología usada en cuestión sirve exclusivamente para el fin de la descripción de formas de realización especiales y no debe limitar el alcance de protección de la invención. Tal como se usa en cuestión en la memoria descriptiva incluyendo las reivindicaciones dependientes, las formas de palabra en el

singular, tal como por ejemplo “un”, “uno”, “una” o “el” incluyen la correspondencia en el plural, siempre que el contexto no indique previamente de manera unívoca lo contrario. Por ejemplo, la referencia a “un compuesto” contiene un compuesto individual o varios compuestos que a su vez pueden ser idénticos o distintos, o la referencia a “un procedimiento” incluye etapas y procedimientos equivalentes que los conoce el experto.

5 Ejemplos

A continuación se explica en más detalle la invención por medio de ejemplos no limitativos para formas de realización concretas. Los ejemplos (en particular ejemplos de compuestos) han de interpretarse en particular en el sentido de que éstos no están limitados a las combinaciones de características ejemplificadas de manera concreta, sino que pueden combinarse libremente a su vez las características a modo de ejemplo, en tanto que se solucione el objetivo de la invención.

Procedimientos analíticos

RMN (¹H) se realizó con los siguientes parámetros.

Aparatos: Bruker Avance DRX 500, Bruker Avance 400, Bruker DPX 300

Condiciones estándar (en el caso individual desviándose)

15 Referencia: TMS

TD (time domain = número de puntos de datos o resolución digital): 65536

Disolvente: DMSO-d₆

NS (number of scans = frecuencia del muestreo): 32

SF (frecuencia del espectrómetro = frecuencia de emisión): véase anteriormente

20 TE (temperatura): 297 K

Las constantes de acoplamiento (J) se indican en hercios (Hz)

HPLC-EM se realizó con los siguientes parámetros.

Aparatos:

25 - Shimadzu LCMS-2020,

- Shimadzu SP-M20A 2010EV

- Shimadzu UFLC-MS 2010EV

Columnas usadas:

- Shim-pack VP-ODS,

- Shim-pack XR-ODS,

30 - Kinetex XB-C18 100A,

- Xbridge BEH C18,

- Gemini-NX 3u C18 110^a

- ACE UltraCore 2.5 SuperC18

Procedimientos: gradientes de disolvente con

35 - A: agua + 0,1 % de ácido fórmico, B: acetonitrilo + 0,1 % de ácido fórmico;

- A: agua + 0,05 % de ácido trifluoroacético, B: acetonitrilo + 0,05 % de ácido trifluoroacético

- A: agua + carbonato de amonio 5 mM, B: acetonitrilo

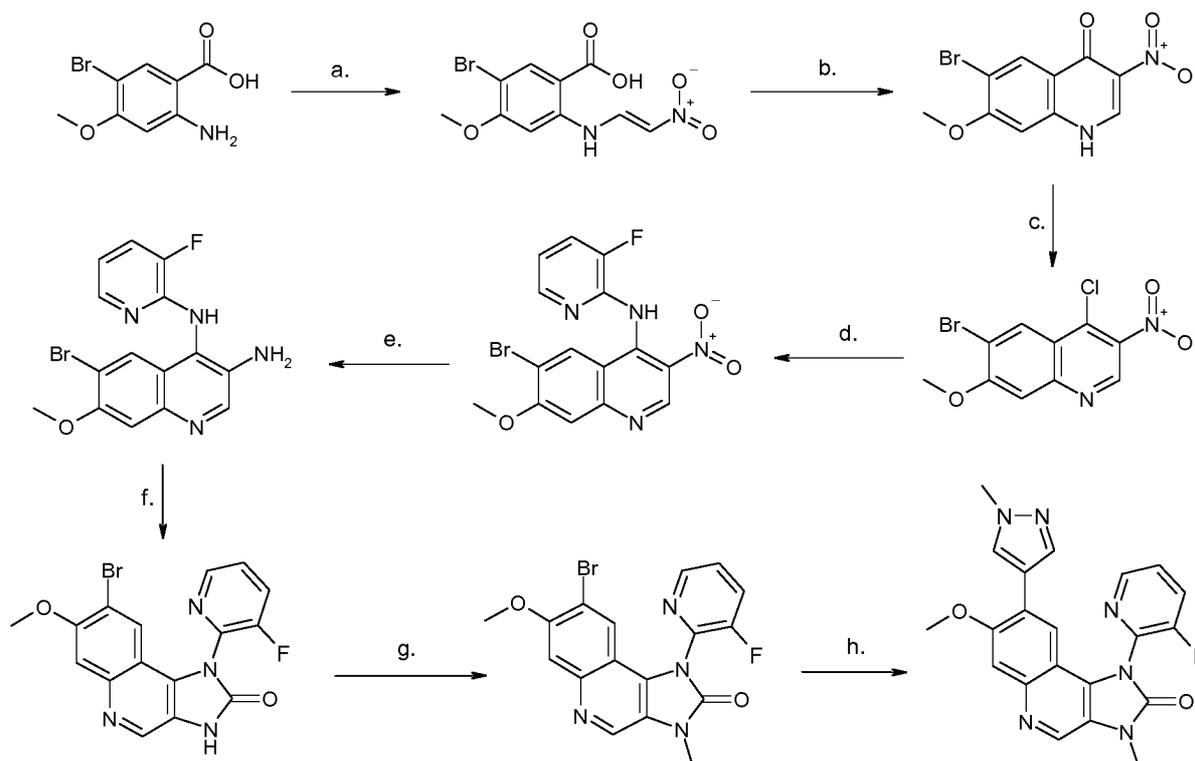
Longitud de onda de detección: 220 nm

Tipo de EM: API-ES

40

Descripción de las síntesis

EJEMPLO DE COMPARACIÓN 1: síntesis de 1-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona



5 Esquema 1

a) Síntesis de ácido 5-bromo-4-metoxi-2-[(E)-2-nitrovinil]amino]benzoico

A una solución de hidróxido de sodio (14,7 g, 368 mmol) en agua (33 ml) se añadió gota a gota con agitación nitrometano (0,63 ml, 11,7 mmol) a temperatura ambiente. A continuación se calentó lentamente durante 5 minutos hasta 45 °C con agitación. La solución de reacción se enfrió entonces hasta temperatura ambiente y se añadió gota a gota de nuevo nitrometano (0,63 ml, 11,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó posteriormente a continuación durante 10 minutos, produciéndose una solución rojiza, transparente. Tras calentar brevemente (5 minutos) hasta 50 °C se enfrió hasta temperatura ambiente y se decantó sobre hielo (11 g). La solución acuosa se acidificó con ácido clorhídrico concentrado cuidadosamente hasta pH < 2 y a continuación se añadió inmediatamente una solución de ácido 2-amino-5-bromo-4-metoxi-benzoico (8,00 g, 32,5 mmol) en agua (259 ml), acidificada con ácido clorhídrico concentrado (126 ml, 2,75 mol), con agitación. La suspensión obtenida se agitó durante la noche y a continuación se filtró. El residuo se secó a 50 °C, obteniéndose 9,60 g (93 %) de ácido 5-bromo-4-metoxi-2-[(E)-2-nitrovinil]amino]benzoico como sólido incoloro.

b) Síntesis de 6-bromo-7-metoxi-3-nitro-1H-quinolin-4-ona

Se disolvió ácido 5-bromo-4-metoxi-2-((E)-2-nitro-vinilamino)-benzoico (4,0 g, 12,6 mmol) en N,N-dimetilformamida (150 ml). A continuación se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (3,07 g, 18,9 mmol) a temperatura ambiente con agitación. La solución de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. A continuación se añadió acetonitrilo (120 ml). La suspensión obtenida se enfrió y después se filtró. El residuo amarillo se lavó con dietiléter y se secó a 40 °C durante la noche, obteniendo se 3,0 g (80 %) de 6-bromo-7-metoxi-3-nitro-1H-quinolin-4-ona como sólido incoloro.

25 c) Síntesis de 6-bromo-4-cloro-7-metoxi-3-nitro-quinolina

Bajo una atmósfera de nitrógeno seco se dispuso 6-bromo-7-metoxi-3-nitro-1H-quinolin-4-ona (2,50 g, 8,36 mmol). A continuación se añadieron cloruro de fosforilo (20 ml, 215 mmol) y N,N-dimetilformamida (0,13 ml, 1,68 mmol). La

solución de reacción se calentó durante 12 horas a 115 °C con agitación. A continuación se concentró a vacío y se purificó el residuo obtenido en gel de sílice mediante cromatografía (éter de petróleo/acetato de etilo = 87:13, proporciones en volumen), obteniéndose 2,40 g (90 %) de 6-bromo-4-cloro-7-metoxi-3-nitro-quinolina como sólido incoloro.

5 d) Síntesis de 6-bromo-N-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3-nitro-quinolin-4-amina

Bajo una atmósfera de nitrógeno seco se dispuso 3-fluoropiridin-2-amina (390 mg, 3,48 mmol), disuelta en N,N-dimetilformamida (10 ml). A continuación se añadió a la solución hidruro de sodio (630 mg, 26,3 mmol) y se agitó durante otros 5 minutos a temperatura ambiente. Después se añadió 6-bromo-4-cloro-7-metoxi-3-nitro-quinolina (1,00 g, 3,15 mmol) a la mezcla de reacción, se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente y a continuación se interrumpió mediante adición de agua helada (100 ml). La solución acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces con en cada caso 100 ml. Las fases orgánicas combinadas se secaron en sulfato de sodio libre de agua, se separaron por filtración y se concentraron a vacío hasta sequedad, obteniéndose 1,0 g (81 %) de 6-bromo-N-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3-nitro-quinolin-4-amina como sólido amarillo.

e) Síntesis de 6-bromo-N-4-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-quinolin-3,4-diamina

15 Se dispuso 6-bromo-N-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3-nitro-quinolin-4-amina (1,0 g, 2,54 mmol) bajo una atmósfera de gas protector de nitrógeno disuelta en metanol (50 ml). A continuación se añadió a la solución Ni Raney (100 mg, 1,17 mmol) y la mezcla de reacción se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno durante 30 minutos con presión normal. Tras airear con nitrógeno, se filtró la suspensión y el filtrado se concentró a vacío hasta sequedad, obteniéndose 0,8 g (87 %) de 6-bromo-N-4-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-quinolin-3,4-diamina como sólido amarillo.

20 f) Síntesis de 8-bromo-1-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona

Se dispuso 6-bromo-N-4-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-quinolin-3,4-diamina (0,8 g, 2,20 mmol) disuelta en tetrahidrofurano (25 ml). A continuación se añadieron 1,1'-carbonildiimidazol (1,78 g, 11,0 mmol) y base de Hünig (1,42 g, 11,0 mmol). La solución de reacción se calentó durante 2 horas a 40 °C con agitación. Después se interrumpió mediante adición de agua helada (200 ml). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo tres veces con en cada caso 50 ml. Las fases orgánicas combinadas se secaron en sulfato de sodio libre de agua, se separaron por filtración y se concentraron a vacío hasta sequedad, obteniéndose 0,8 g (93 %) de 8-bromo-1-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona como sólido amarillo claro.

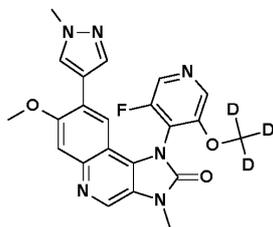
g) Síntesis de 8-bromo-1-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3-metil-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona

30 Bajo una atmósfera protectora de nitrógeno seco se dispuso 8-bromo-1-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (0,8 g, 2,06 mmol), disuelta en N,N-dimetilformamida (10 ml). A continuación se añadieron hidruro de sodio (412 mg, 17,2 mmol) y yoduro de metilo (1,46 g, 10,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una hora a temperatura ambiente. A continuación se interrumpió mediante adición de agua helada (100 ml). El precipitado obtenido se separó por filtración y se secó a vacío, obteniéndose 0,6 g (72 %) de 8-bromo-1-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3-metil-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona como sólido amarillo claro.

35 h) Síntesis de 1-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (ejemplo de compuesto 14)

Bajo una atmósfera de gas inerte de argón se dispusieron en un aparato cerrado 8-bromo-1-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3-metil-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (150 mg, 0,37 mmol), 1-metil-4-(tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (93 mg, 0,45 mmol), Pd(PPh₃)₄ (43 mg, 0,04 mmol) y carbonato de potasio (103 mg, 0,75 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) y agua (3 ml). La mezcla de reacción se calentó durante 2 horas con agitación hasta 80 °C. A continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y la mezcla de reacción se concentró a vacío hasta sequedad. El residuo se purificó previamente en gel de sílice mediante cromatografía (acetato de etilo/metanol = 10:1, proporciones en volumen). El material eluido se concentró hasta sequedad y el producto bruto obtenido se purificó finalmente por medio RP-HPLC preparativa (agua/acetonitrilo). Tras concentrar las fracciones de producto se obtuvo 1-(3-fluoro-2-piridil)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (60 mg, 40 %, ejemplo de compuesto 14) como sólido incoloro.

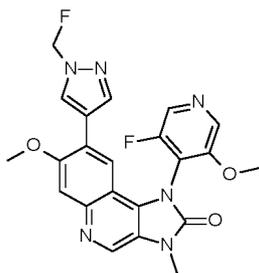
EJEMPLO 1: Síntesis de 1-[3-fluoro-5-(trideuteriometoxi)-4-piridil]-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (ejemplo de compuesto 145)



5 En un recipiente de reacción cerrado de 8 ml se dispusieron 1-(3-fluoro-5-hidroxi-4-piridil)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (145 mg, 0,33 mmol, 97 %), CD₃OD (0,3 ml), carbonato de potasio (143 mg, 1,03 mmol) y N,N-dimetilformamida (3 ml). La mezcla se agitó a 100 °C durante la noche. La reacción se interrumpió entonces mediante adición de 10 ml de agua. La solución se extrajo tres veces con en cada caso 10 ml de acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio libre de agua y se concentraron a vacío. El producto bruto se purificó por medio de HPLC preparativa. Se obtuvieron 20 mg (14 %) de

10 1-[3-fluoro-5-(trideuteriometoxi)-4-piridil]-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona como sólido blanco.

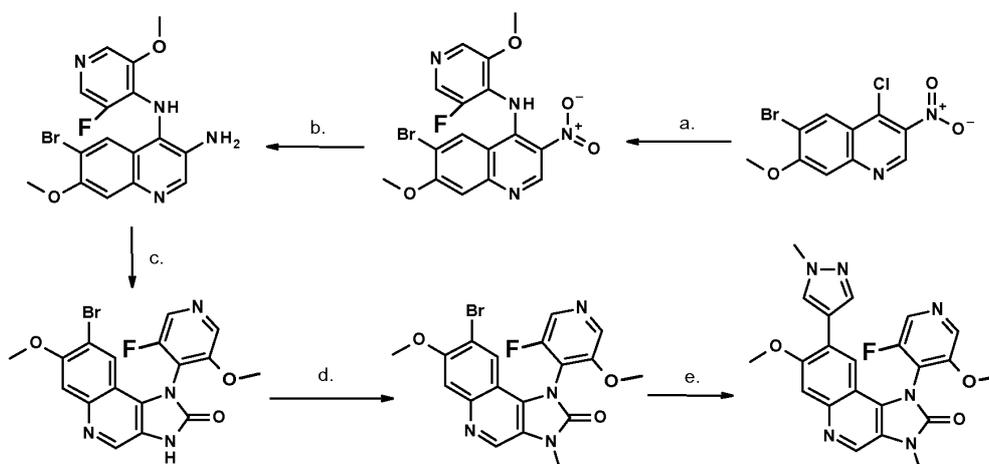
EJEMPLO 2: Síntesis de 1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-8-(1-fluorometil-1H-pirazol-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (ejemplo de compuesto 140)



15 En un recipiente de reacción cerrado de 30 ml se dispusieron 1-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3-metil-8-(1H-pirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (60 mg, 0,14 mmol, 97 %), carbonato de potasio (57,6 mg, 0,42 mmol) y N,N-dimetilformamida (5 ml). La mezcla se agitó durante 5 minutos a temperatura ambiente y se enfrió hasta 0 °C. Se añadió bromofluorometano (165 mg, 1,39 mmol, 95 %), se calentó la mezcla hasta temperatura ambiente y se agitó posteriormente durante hora. La reacción se interrumpió entonces mediante la adición de 50 ml de agua. La solución se extrajo tres veces con en cada caso 30 ml de acetato de etilo, se combinaron las fases orgánicas y se concentraron a vacío. El producto bruto se purificó por medio de HPLC preparativa. Se obtuvieron 5 mg (8 %) de

20 1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-8-(1-fluorometil-1H-pirazol-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona como sólido blanco.

EJEMPLO 3: Síntesis de 1-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (ejemplo de compuesto 4)



Esquema 2: Síntesis de ejemplo de compuesto 4

5 a. Síntesis de 6-bromo-N-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3-nitro-quinolin-4-amina

Bajo una atmósfera de nitrógeno seco se dispuso 3-fluoro-5-metoxipiridin-4-amina (447 mg, 3,02 mmol), disuelta en *N,N*-dimetilformamida (5 ml). A continuación se añadió a la solución hidruro de sodio (504 mg, 12,6 mmol, 60 %) y se agitó durante otros 5 minutos a temperatura ambiente. Después se añadió 6-bromo-4-cloro-7-metoxi-3-nitroquinolina (800 mg, 2,52 mmol) a la mezcla de reacción, se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente y a continuación se interrumpió mediante adición de agua helada (100 ml). El precipitado que precipita se separó por filtración, se lavó con agua helada y se secó, obteniéndose 1,0 g (94 %) de 6-bromo-N-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3-nitro-quinolin-4-amina como sólido amarillo.

15 b. Síntesis de 6-bromo-N4-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-quinolin-3,4-diamina

Se dispuso 6-bromo-N-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3-nitro-quinolin-4-amina (990 mg, 2,20 mmol) bajo una atmósfera de gas protector de nitrógeno, disuelta en metanol (100 ml). A continuación se añadió a la solución Ni Raney (100 mg, 1,17 mmol) y la mezcla de reacción se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno durante 30 minutos con presión normal. Tras airear con nitrógeno se filtró la suspensión y el filtrado se concentró a vacío hasta sequedad. El residuo se cristalizó en acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 0,86 g (99 %) de 6-bromo-N4-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-quinolin-3,4-diamina como sólido amarillo.

20 c. Síntesis de 8-bromo-1-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona

Se dispuso 6-bromo-N4-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-quinolin-3,4-diamina (0,85 g, 2,20 mmol) disuelta en tetrahidrofurano (20 ml). A continuación se añadieron 1,1'-carbonildiimidazol (1,84 g, 11,3 mmol) y base de Hünig (1,46 g, 11,3 mmol). La solución de reacción se calentó durante 16 horas a 40 °C con agitación. Después se interrumpió mediante adición de agua helada (200 ml). El precipitado que precipita se separó por filtración, se lavó con agua helada y se secó, obteniéndose 0,87 g (94 %) de 8-bromo-1-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona como sólido amarillo claro.

d. Síntesis de 8-bromo-1-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3-metil-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona

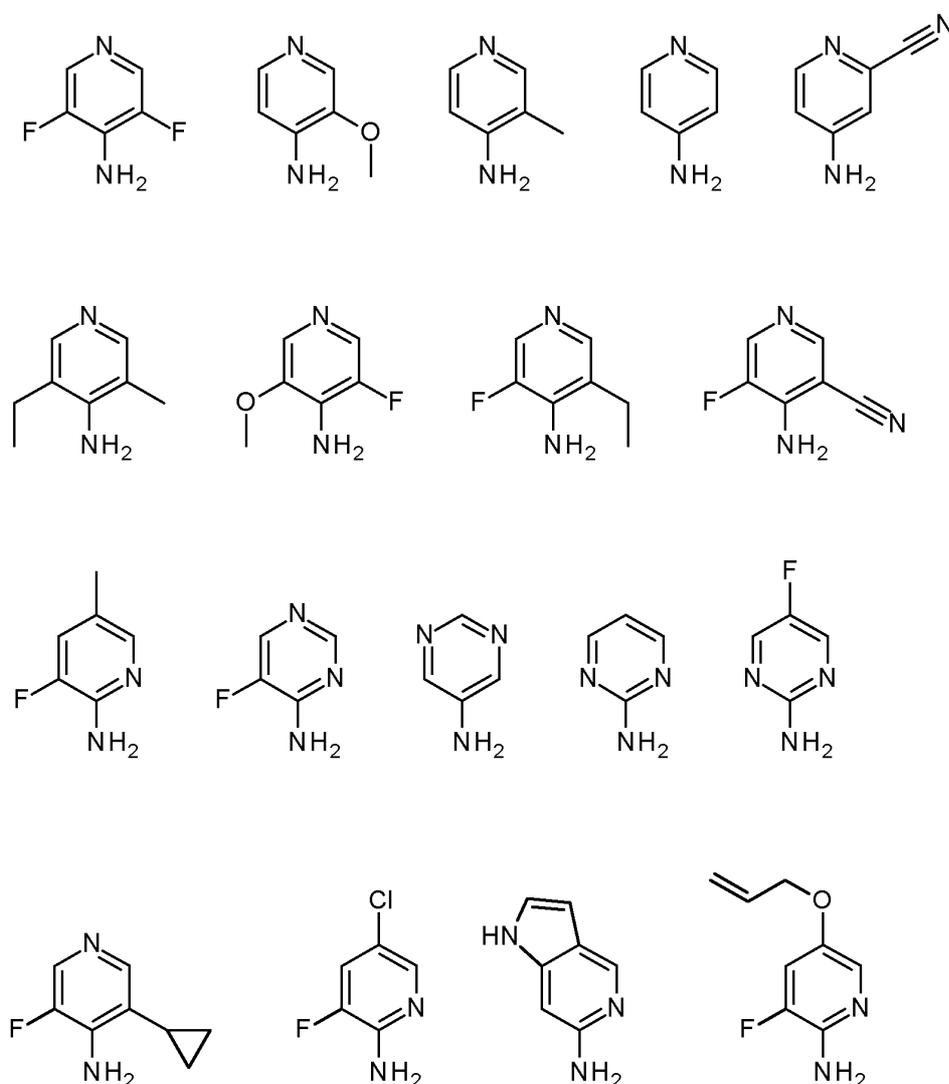
Bajo una atmósfera protectora de nitrógeno seco se dispuso 8-bromo-1-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (0,86 g, 1,94 mmol), disuelta en *N,N*-dimetilformamida (5 ml). A continuación se añadieron hidruro de sodio (388 mg, 9,71 mmol, 60 %) y yoduro de metilo (2,76 g, 19,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. A continuación se interrumpió mediante adición de agua helada (100 ml). El precipitado obtenido se separó por filtración y se secó a vacío, obteniéndose 0,70 g (80 %) de 8-bromo-1-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3-metil-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona como sólido amarillo claro.

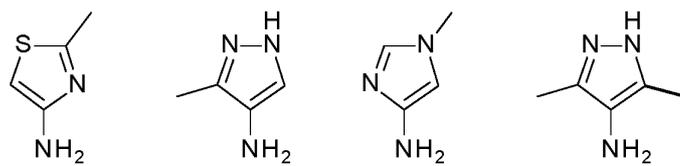
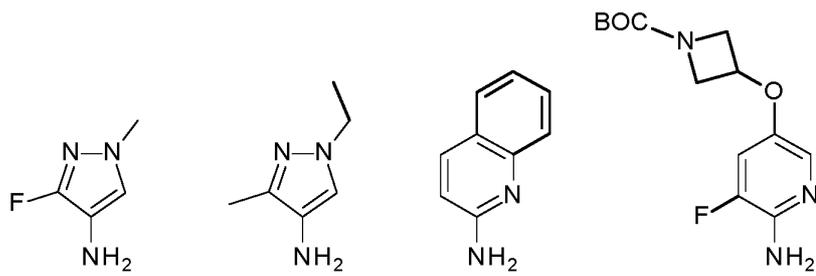
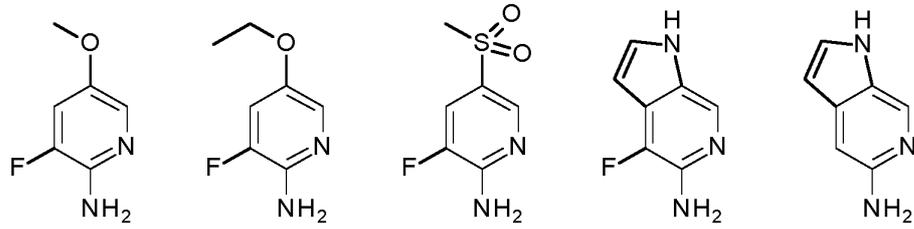
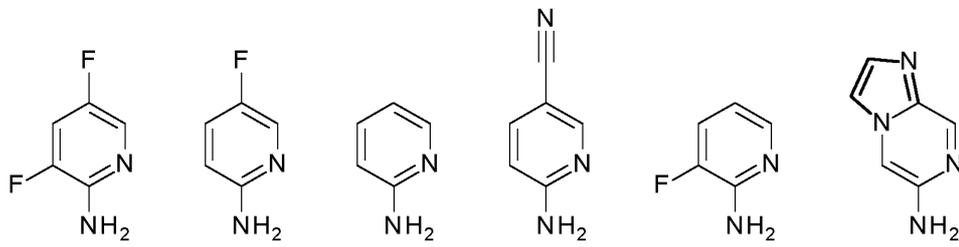
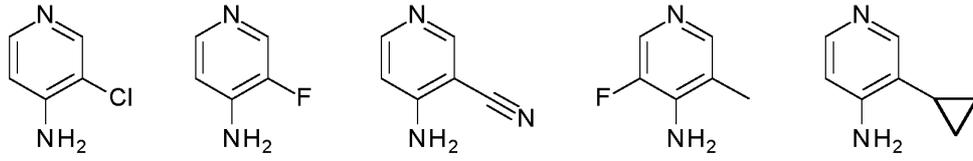
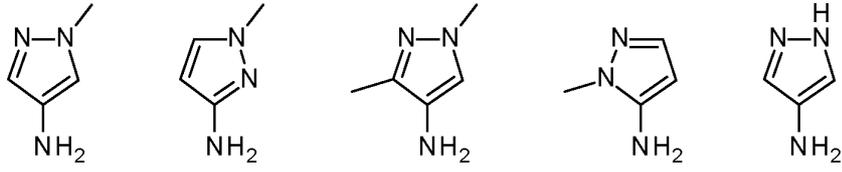
35 e. Síntesis de 1-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (ejemplo de compuesto 4)

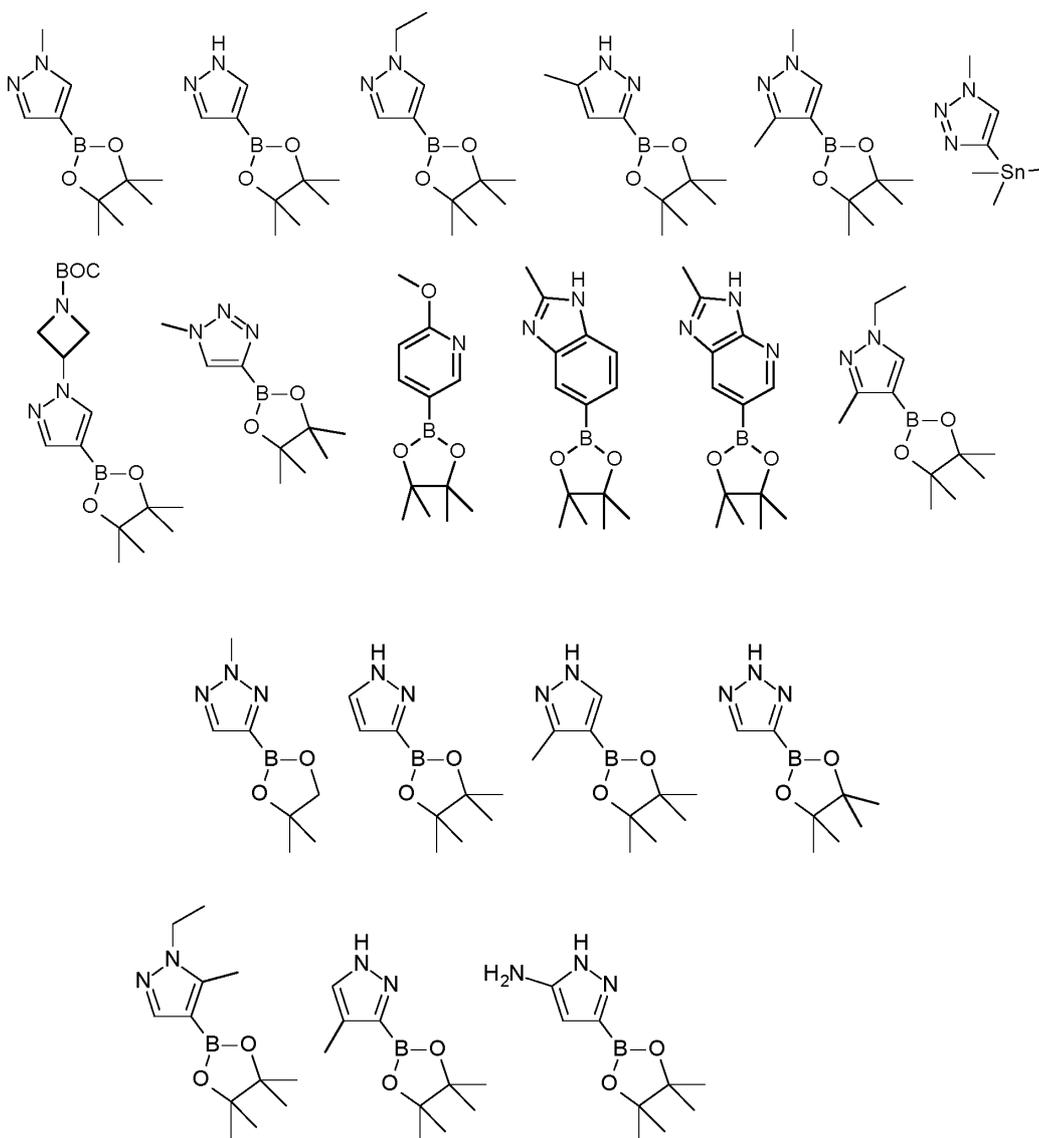
5 Bajo una atmósfera de gas inerte de argón se dispusieron en un aparato cerrado 8-bromo-1-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3-metil-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (150 mg, 0,33 mmol), 1-metil-4-(tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (88,4 mg, 0,44 mmol), Pd(PPh₃)₄ (76,6 mg, 0,07 mmol) y carbonato de potasio (91,6 mg, 0,66 mmol) en 1,4-dioxano (15 ml) y agua (5 ml). La mezcla de reacción se calentó durante 2 horas con agitación hasta 80 °C. A
 10 continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y la mezcla de reacción se concentró a vacío hasta sequedad. El residuo se purificó previamente en gel de sílice mediante cromatografía (acetato de etilo/metanol = 97:3, proporciones en volumen). El material eluido se concentró hasta sequedad y el producto bruto obtenido se purificó finalmente por medio de RP-HPLC preparativa (agua/acetonitrilo). Tras concentrar la fracciones de producto se obtuvo 1-(3-fluoro-5-metoxi-4-piridil)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (70 mg, 47 %, ejemplo de compuesto 4) como sólido incoloro.

Las abreviaturas usadas anteriormente, habituales en el campo técnico tienen los siguientes significados: MeOH: metanol; Pd(PPh₃)₄: tetrakis(trifenilfosfina)paladio; EtOAc: acetato de etilo; BOP: hexafluorofosfato de benzotriazoliloxitris(dimetilamino)-fosfonio; Pd₂(dba)₃: tris(dibencilidenacetona)dipaladio.

15 Los ejemplos de compuesto de acuerdo con la invención que se prepararon de manera correspondiente o bien de manera análoga a los EJEMPLOS anteriores, se encuentran en la siguiente tabla 2. Los derivados de amina, ésteres de ácido borónico o análogos usados o bien que pueden usarse para compuestos de este tipo están resumidos en el siguiente esquema 3.



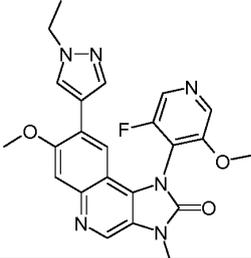
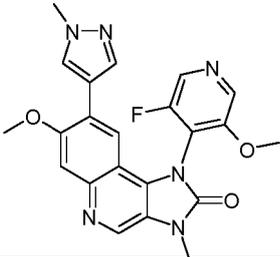
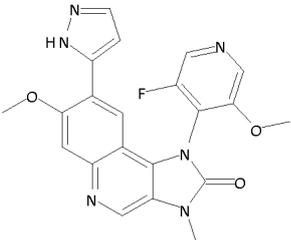
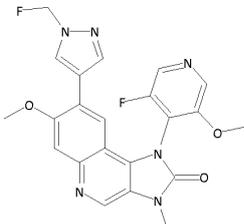
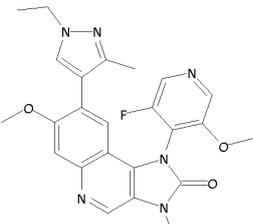


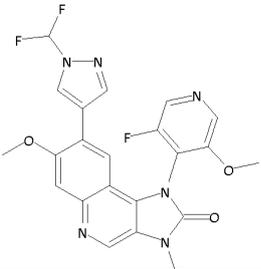
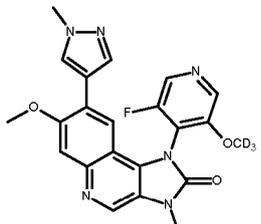
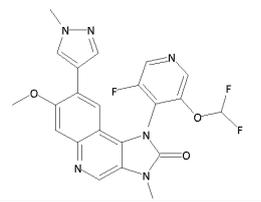
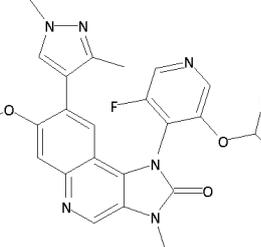
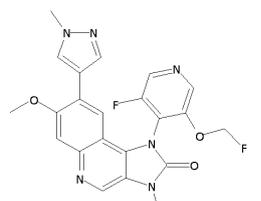


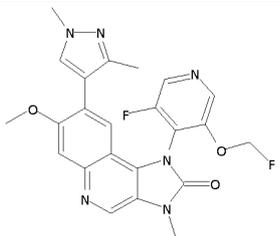
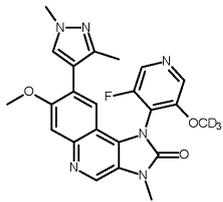
Esquema 3: Derivados de amina, ésteres de ácido borónico o análogos

Tabla 2

Ejem.	Fórmula estructural	Nombre	Cl ₅₀ (pCHK2)	Cl ₅₀ (ATM) [μM]
4		8-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	+++	< 0,001
	EM: 449 (M+H ⁺)	RMN-1H (400MHz,DMSO,ppm): 8,912 (s,1H),8,707-8,681 (m,2H),7,822(s,1H),7,527 (s,1H), 6,985 (s,1H), 3,927 (s,3H), 3,861 (s,3H), 3,766(s,3H),3,595 (s,3H), 1,744 (s,3H)		

Ejem.	Fórmula estructural	Nombre	Cl ₅₀ (pCHK2)	Cl ₅₀ (ATM) [μM]
13		8-(1-etil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	+++	< 0,001
	EM: 449 (M+H ⁺)	RMN-1H (400MHz,DMSO,ppm): 8,896 (s,1H), 8,789 (s,1H), 8,744 (s,1H),8,024 (s,1H), 7,527 (s,1H), 7,206 (s,1H), 7,158 (s,1H), 4,175-4,120 (m,2H), 4,002 (s,3H), 3,877 (s,3H), 3,333 (s,3H), 1,390-1,354 (m,3H)		
15		1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	+++	< 0,001
	EM: 435 (M+H ⁺)	RMN-1H (400MHz,DMSO,ppm): 8,896 (s,1H), 8,780 (s,1H), 8,739 (s,1H),8,007 (s,1H), 7,528 (s,1H), 7,176-7,149 (m,2H), 3,998 (s,3H), 3,870 (s,6H), 3,596 (s,3H)		
124		1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(2H-pirazol-3-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	++	< 0,05
	EM: 421 (M+H ⁺)	RMN-1H (400MHz,DMSO) ppm = 13,0 (d, J = 22,4Hz, 1H), 8,92 (d, J = 16,3Hz, 1H), 8,68 (dd, J = 15,0, 10,1Hz, 2H), 7,82 (s,1H), 7,70 (t, J = 1,9Hz,1H), 7,61-7,45 (m,1H), 6,73 (t, J = 2,1Hz, 1H), 3,98 (d, J = 7,6Hz, 3H), 3,84(d, J = 12,8Hz, 3H), 3,58 (s,3H),		
140		1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-8-(1-fluormetil-1H-pirazol-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	+++	< 0,001
	EM: 453 (M+H ⁺)	RMN-1H (400 MHz, DMSO-d6) 8,91 (s,1H), 8,74 (d, J = 16,3 Hz, 2H), 8,40(s,1H), 7,55 (s,1H), 7,40 - 7,35 (m,1H), 7,19 (s,1H), 6,22 (s,1H), 6,09 (s,1H), 4,00 (s,3H), 3,85 (s,3H), 3,59 (s,3H),		
142		8-(1-etil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	++	< 0,001

Ejem.	Fórmula estructural	Nombre	Cl ₅₀ (pCHK2)	Cl ₅₀ (ATM) [μM]
	EM: 463 (M+H ⁺)	RMN-1H (400 MHz, DMSO) ppm = 8,92 (s,1H), 8,71 (d, J = 11,5 Hz, 2H), 7,86 (s,1H), 7,54 (s,1H), 7,01 (s,1H), 4,07 (m,2H), 3,94 (s,3H), 3,88 (s,3H), 3,61 (s,3H), 1,78 (s,3H), 1,36 (t, J = 7,2 Hz, 3H),		
143		8-(1-difluorometil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	++	< 0,001
	EM: 471 (M+H ⁺)	RMN-1H (400 MHz, DMSO-d6) ppm = 8,93 (s,1H), 8,72 (d, J = 14,3 Hz,2H), 8,47 (s,1H), 7,83 (t, J = 58,9 Hz, 1H), 7,57 (s,1H), 7,52 (s,1H), 7,21(s,1H), 4,01 (s,3H), 3,85 (s,3H), 3,59 (s,3H),		
145		1-[3-fluoro-5-(trideuteriometoxi)-4-piridil]-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	++	< 0,001
	EM: 438 (M+H ⁺)	RMN-1H (300 MHz, DMSO-d6) ppm = 8,89 (s,1H), 8,75 (d, J = 12,1 Hz,2H), 7,99 (s,1H), 7,52 (s,1 H), 7,20 - 7,11 (m,2H), 3,99 (s,3H), 3,85 (s,3H), 3,31 (s,3H),		
146		1-(3-difluorometoxi-5-fluoro-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	+++	< 0,001
	EM: 471 (M+H ⁺)	RMN-1H (400 MHz, DMSO-d6) ppm = 9,06 (s,1H), 8,93 (d, J = 3,7 Hz,2H), 8,02 (s,1H), 7,58 (s,0H), 7,54 (s,1H), 7,42 (d, J = 1,6 Hz, 0H), 7,27 -7,20 (m,1H), 7,16 (s,1H), 4,01 (s,3H), 3,86 (s,3H), 3,62 (s,3H)		
147		1-(3-difluorometoxi-5-fluoro-piridin-4-il)-8-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	+++	< 0,001
	EM: 485 (M+H ⁺)	RMN-1H (400 MHz, DMSO-d6) ppm = 9,03 (s,1H), 8,96 (s,1H), 8,88 (s,1H), 7,84 (s,1H), 7,56 (d, J = 3,5 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 7,21(s,0H), 7,00 (s,1H), 3,95 (s,3H), 3,78 (s,3H), 3,62 (s,3H), 1,75 (s,3H)		
148		1-(3-fluoro-5-fluorometoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	+++	< 0,001

Ejem.	Fórmula estructural	Nombre	Cl ₅₀ (pCHK2)	Cl ₅₀ (ATM) [μM]
	EM: 453 (M+H ⁺)	RMN-1H (400 MHz, DMSO-d6) ppm = 9,04 - 8,79 (m,3H), 8,00 (s,1H), 7,54 (s,1H), 7,18 (d, J = 21,6 Hz, 2H), 5,95 (m,2H), 4,01 (s,3H), 3,86 (s,3H), 3,61 (s,3H),		
149		8-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-fluorometoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	+++	< 0,001
	EM: 467 (M+H ⁺)	RMN-1H (400 MHz, DMSO-d6) ppm = 9,00 - 8,75 (m,3H), 7,83 (s,1H), 7,55 (s,1H), 6,99 (s,1H), 5,93 (m,2H), 3,94 (s,3H), 3,77 (s,3H), (s,3H), 1,74(s,3H)		
150		8-(1,3-dimetilpirazol-4-il)-1-[3-fluoro-5-(trideuteriometoxi)-4-piridil]-7-metoxi-3-metil-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona	+++	< 0,001
	EM: 452 (M+H ⁺)	RMN-1H (400 MHz, DMSO-d6) ppm = 8,92 (s,1 H), 8,70 (d, J = 9,5 Hz,2H), 7,83 (s,1H), 7,54 (s,1H), 7,00 (s,1H), 3,94 (s,3H), 3,78 (s,3H), 3,60(s,3H), 1,75 (s, 3H),		

+++ : 0,2 μM o inferior

++ : > 0,2 μM a 1 μM

+ : > 1 μM a 2 μM

- 5 Los compuestos de acuerdo con la invención presentan no sólo una inhibición muy buena de ATM cinasa, adicionalmente éstos son también aún muy selectivos frente a otras cinasas, tal como por ejemplo mTOR, PI3K alfa, PI3K beta, PI3K delta y PI3K gamma, lo que se prueba por medio de los datos experimentales expuestos en la siguiente tabla 3:

Tabla 3

Ejm.	Cl ₅₀ (ATM) [μM]	Cl ₅₀ (PI3Kalpha) [μM]	Cl ₅₀ (PI3Kbeta) [μM]	Cl ₅₀ (PI3Kdelta) [μM]	Cl ₅₀ (PI3Kgamma) [μM]	Cl ₅₀ (mTOR) [μM]
4	< 0,001	> 5	> 30	> 10	> 30	> 30
13	< 0,001	> 5	> 30	> 10	> 30	> 10
15	< 0,001	> 30	> 30	> 30	> 30	> 30

- 10 Para los demás ejemplos de compuesto pudieron determinarse ya los siguientes valores ventajosos:

Con respecto a mTOR presentan los siguientes ejemplos de compuesto un Cl₅₀ (ATM) al menos 2000 veces más alto (en relación a Cl₅₀ (mTOR)), sobrepasando en algunos ejemplos de compuesto la relación de Cl₅₀ (ATM) : Cl₅₀ (mTOR) incluso 100.000: 140, 145, 147, 149.

- 15 Con respecto a PI3Kbeta presentan los siguientes ejemplos de compuesto un Cl₅₀ (ATM) al menos 2000 veces más alto (en relación a Cl₅₀ (PI3Kbeta)), sobrepasando en algunos ejemplos de compuesto la relación de Cl₅₀ (ATM) : Cl₅₀ (PI3Kbeta) 10.000: 145, 149.

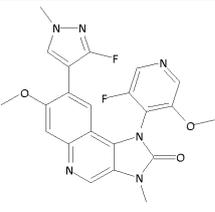
Con respecto a PI3Kdelta presenta el siguiente ejemplo de compuesto un Cl₅₀ (ATM) al menos 2000 veces más alto:

145.

Con respecto a PI3Kgamma presentan los siguientes ejemplos de compuesto un CI_{50} (ATM) al menos 2000 veces más alto: 145, 149.

EJEMPLO 4: otro compuesto que puede prepararse de manera correspondiente o bien de manera análoga a los EJEMPLOS anteriores, se encuentra en la siguiente tabla 4.

Tabla 4

300		<p>1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(3-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
-----	---	--

EJEMPLO 5: Composiciones farmacéuticas

Ejemplo A: frascos para inyección

10 Una solución de 100 g de principio activo de acuerdo con la invención y 5 g de hidrogenofosfato de disodio se ajusta en 3 l de agua bidestilada con ácido clorhídrico 2 N hasta pH 6,8, es esteriliza por filtración, se introduce en frascos para inyección, se liofiliza en condiciones estériles y se cierra de manera estéril. Cada frasco para inyección contiene 5 mg de principio activo de acuerdo con la invención.

Ejemplo B: supositorios

15 Se funde una mezcla de 20 g de principio activo de acuerdo con la invención con 100 g de lecitina de soja y 1400 g de manteca de cacao, se vierte en moldes y deja enfriar. Cada supositorio contiene 20 mg de principio activo de acuerdo con la invención.

Ejemplo C: solución

20 Se prepara una solución de 1 g de principio activo de acuerdo con la invención, 9,38 g de $NaH_2PO_4 \cdot 2 H_2O$, 28,48 g de $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ y 0,1 g de cloruro de benzalconio en 940 ml de agua bidestilada. Se ajusta hasta pH 6,8, se rellena hasta 1 l y se esteriliza mediante radiación. Esta solución puede usarse en forma de gotas culares.

Ejemplo D: pomada

Se mezclan 500 mg de principio activo de acuerdo con la invención con 99,5 g de vaselina en condiciones asépticas.

Ejemplo E: comprimidos

25 Una mezcla de 1 kg de principio activo de acuerdo con la invención, 4 kg de lactosa, 1,2 kg de almidón de patata, 0,2 kg de talco y 0,1 kg de estearato de magnesio se prensa de manera habitual para dar comprimidos de manera que cada comprimido contiene 10 mg de principio activo de acuerdo con la invención.

Ejemplo F: grageas

30 De manera análoga al ejemplo E se presan comprimidos que se recubren después de manera habitual con un recubrimiento de sacarosa, almidón de patata, talco, tragacanto y colorante.

Ejemplo G: cápsulas

Se introducen 2 kg de principio activo de acuerdo con la invención de manera habitual en cápsulas de gelatina dura, de modo que cualquier cápsula contenga 20 mg de principio activo de acuerdo con la invención.

Ejemplo H: ampollas

Una solución de 1 kg de principio activo de acuerdo con la invención en 60 l de agua bidestilada se esteriliza por filtración, se introduce en ampollas, se liofilizan en condiciones estériles y se cierran de manera estéril. Cada ampolla contiene 10 mg de principio activo de acuerdo con la invención.

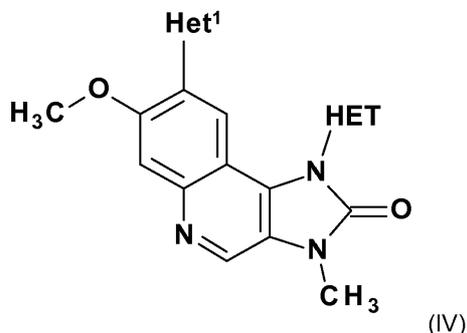
5 **Ejemplo I:** pulverización para inhalación

Se disuelven 14 g de principio activo de acuerdo con la invención en 10 l de solución de NaCl isotónica y se introduce la solución en recipientes para pulverización habituales en el comercio con mecanismo de bomba. La solución puede pulverizarse en la boca o nariz. Un golpe de pulverización (aprox. 0,1 ml) corresponde a una dosis de aprox. 0,14 mg.

10

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (IV)



en el que

- 5 Het¹ significa pirazolilo, que puede estar no sustituido o mono-, di- o trisustituido independientemente entre sí con Hal o A;
- A en cada caso independientemente significa alquilo no ramificado o ramificado con 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de C, en el que independientemente entre sí 1, 2, 3, 4 o 5 átomos de H pueden estar sustituidos por Hal,
- Hal significa F, Cl, Br o I,
- 10 HET se selecciona de: 3-difluorometoxi-5-fluoro-piridin-4-ilo, 3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-ilo, 3-fluoro-5-fluorometoxi-piridin-4-ilo, 3-fluoro-5-(trideuteriometoxi)-piridin-4-ilo,

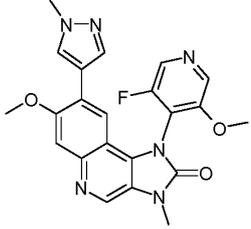
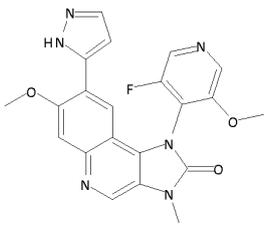
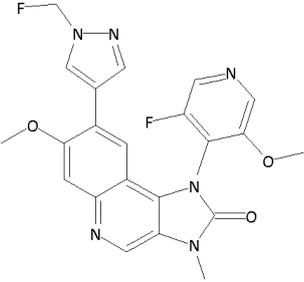
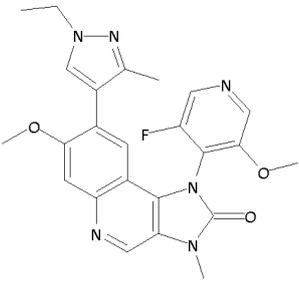
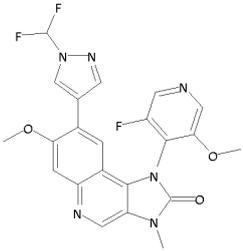
y/o sal, solvato, tautómero, estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente.

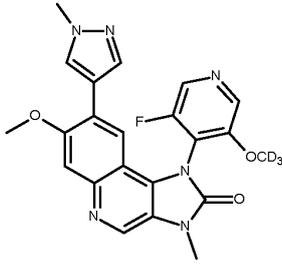
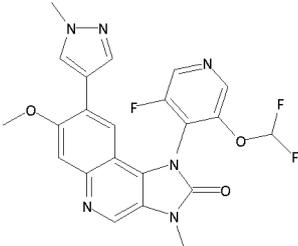
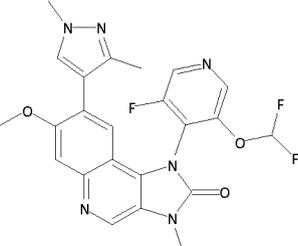
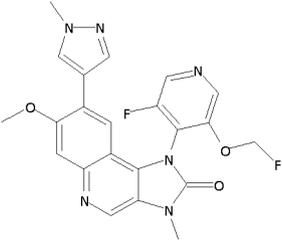
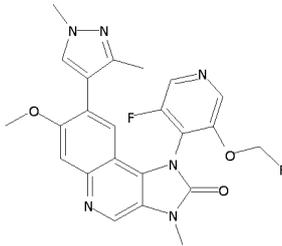
2. Compuesto de fórmula (IV) según la reivindicación 1, en el que Het¹ se selecciona de: 1H-pirazol-4-ilo, 2H-pirazol-3-ilo, 1H-pirazol-3-ilo, 1-metil-1H-pirazol-4-ilo, 3-metil-1H-pirazol-4-ilo, 5-metil-1H-pirazol-3-ilo, 4-metil-1H-pirazol-3-ilo, 1-fluorometil-1H-pirazol-4-ilo, 1-difluorometil-1H-pirazol-4-ilo, 1,3-dimetil-1H-pirazol-4-ilo, 1-etil-1H-pirazol-4-ilo, 1-etil-3-metil-1H-pirazolilo, 3-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-ilo,
- 15

y/o sal, solvato, tautómero, estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente.

3. Compuesto según la reivindicación 1, seleccionado de:

	<p>8-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>8-(1-etil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>

	<p>1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(2H-pirazol-3-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-8-(1-fluormetil-1H-pirazol-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>8-(1-etil-3-metil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>8-(1-difluorometil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>

	<p>1-[3-fluoro-5-(trideuteriometoxi)-4-piridil]-7-metoxi-3-metil-8-(1-metilpirazol-4-il)imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-difluorometoxi-5-fluoro-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-difluorometoxi-5-fluoro-piridin-4-il)-8-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-fluoro-5-fluorometoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>8-(1,3-dimetil-1H-pirazol-4-il)-1-(3-fluoro-5-fluorometoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>

	<p>8-(1,3-dimetilpirazol-4-il)-1-[3-fluoro-5-(trideuteriometoxi)-4-piridil]-7-metoxi-3-metil-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>
	<p>1-(3-fluoro-5-metoxi-piridin-4-il)-7-metoxi-3-metil-8-(3-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-il)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona</p>

y/o sal, solvato, tautómero, estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente.

4. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 3 y/o sal, solvato, tautómero o estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente, para su uso como medicamento.
5. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 3 y/o sal, solvato, tautómero o estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente, para su uso en el tratamiento de cáncer, tumores y/o metástasis.
6. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 3 y/o sal, solvato, tautómero o estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente, para su uso en el tratamiento de cáncer, tumores y/o metástasis en combinación con radioterapia.
7. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 3 y/o sal, solvato, tautómero o estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente, para su uso en el tratamiento de cáncer, tumores y/o metástasis en combinación con al menos un agente antineoplásico.
8. Compuesto y/o sal, solvato, tautómero, estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente, para su uso según una de las reivindicaciones 5 a 7, en el que el tumor se selecciona del grupo de enfermedades de células escamosas, vejiga, estómago, riñón, cabeza, garganta, esófago, cuello uterino, glándula tiroides, intestino, hueso, hígado, cerebro, próstata, tracto genitourinario, sistema linfático, laringe, pulmón, piel, sangre y sistema inmunitario y/o el cáncer se selecciona del grupo de leucemia monocítica, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, cáncer de páncreas, glioblastoma, carcinoma de intestino, carcinoma de mama, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfática aguda, leucemia linfática crónica, linfoma de Hodgkin y linfoma de no Hodgkin.
9. Composición farmacéutica que contiene una cantidad eficaz al menos de un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 3 y/o una sal, un solvato, un tautómero o un estereoisómero del mismo que puede usarse farmacéuticamente, opcionalmente junto con al menos un coadyuvante farmacéuticamente compatible.
10. Composición farmacéutica según la reivindicación 9, que contiene además al menos un agente antineoplásico.
11. Kit que está constituido por envases separados de
 - (a) una cantidad eficaz de un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 3 y/o sal, solvato, tautómero o estereoisómero que puede usarse farmacéuticamente y
 - (b) una cantidad eficaz de otro agente antineoplásico.
12. Composición farmacéutica según la reivindicación 10, en la que el al menos un agente antineoplásico se selecciona de: agentes de alquilación, compuestos de platino, inhibidores de topoisomerasa, inhibidores de poli-

(ADP-ribosa)-polimerasa (PARP), inhibidores de ATR (relacionados con *Ataxia*-telangiectasia y Rad3), antibióticos antineoplásicos y alfa-emisores.

5 13. Composición farmacéutica según la reivindicación 10, en la que el al menos un agente antineoplásico se selecciona de: altretamina, bendamustina, busulfán, carmustina, clorambucilo, clormetina, ciclofosfamida, dacarbazina, ifosfamida, improsulfantosilato, lomustina, melfalán, mitobronitol, mitolactol, nimustina, ranimustina, temozolomid, tiotepa, treosulfán, mecloretamina, carboquon, apaziquon, fotemustina, glufosfamida, palifosfamida, pipobromano, trofosfamida, uramustina; carboplatino, cisplatino, eptaplatino, hidrato de miriplatino, oxaliplatino, lobaplatino, nedaplatino, picoplatino, satraplatino; etopósido, irinotecan, razoxan, sobuzoxan, topotecan, camptotecina, doxorubicina, amsacrina; talazoparib, olaparib, veliparib, rucaparib, CEP 9722, MK4827, BGB-290; 10 VE-822, AZ20, AZD6738; amrubicina, bisantren, decitabina, mitoxantron, procarbazona, trabectedina, clofarabina, amsacrina, brostallicina, pixantrona, laromustina; bleomicina, dactinomicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, levamisol, miltefosina, mitomicina C, romidepsina, estreptozocina, valrubicina, zinostatina, zorubicina, daunurobicina, plicamicina, aclarubicina, peplomycin y pirarubicina.

15 14. Kit según la reivindicación 11, en el que el al menos un agente antineoplásico se selecciona de: agentes de alquilación, compuestos de platino, inhibidores de topoisomerasa, inhibidores de poli-(ADP-ribosa)-polimerasa (PARP), inhibidores de ATR (relacionados con *Ataxia*-telangiectasia y Rad3), antibióticos antineoplásicos y alfa-emisores.

20 15. Kit según la reivindicación 11, en el que el al menos un agente antineoplásico se selecciona de: altretamina, bendamustina, busulfán, carmustina, clorambucilo, clormetina, ciclofosfamida, dacarbazina, ifosfamida, improsulfantosilato, lomustina, melfalán, mitobronitol, mitolactol, nimustina, ranimustina, temozolomid, tiotepa, treosulfán, mecloretamina, carboquon, apaziquon, fotemustina, glufosfamida, palifosfamida, pipobromano, trofosfamida, uramustina; carboplatino, cisplatino, eptaplatino, hidrato de miriplatino, oxaliplatino, lobaplatino, nedaplatino, picoplatino, satraplatino; etopósido, irinotecan, razoxan, sobuzoxan, topotecan, camptotecina, doxorubicina, amsacrina; talazoparib, olaparib, veliparib, rucaparib, CEP 9722, MK4827, BGB-290; VE-822, AZ20, 25 AZD6738; amrubicina, bisantren, decitabina, mitoxantron, procarbazona, trabectedina, clofarabina, amsacrina, brostallicina, pixantrona, laromustina; bleomicina, dactinomicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, levamisol, miltefosina, mitomicina C, romidepsina, estreptozocina, valrubicina, zinostatina, zorubicina, daunurobicina, plicamicina, aclarubicina, peplomycin y pirarubicina.