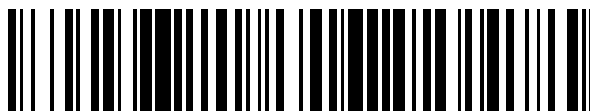


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 863 175**

51 Int. Cl.:

A61P 3/10	(2006.01) A61P 37/06	(2006.01)
A61P 9/00	(2006.01) C07D 471/04	(2006.01)
A61P 17/02	(2006.01) C07D 487/04	(2006.01)
A61P 25/02	(2006.01) C07D 491/048	(2006.01)
A61P 25/08	(2006.01) C07D 495/04	(2006.01)
A61P 25/28	(2006.01) C07D 493/04	(2006.01)
A61P 31/10	(2006.01) A61P 25/00	(2006.01)
A61P 35/02	(2006.01) A61P 29/00	(2006.01)
A61P 37/00	(2006.01) A61P 31/12	(2006.01)
A61P 37/02	(2006.01) A61P 35/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.01.2014 PCT/CN2014/070195**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.07.2014 WO14108053**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.01.2014 E 14738057 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2021 EP 2955185**

54 Título: **Inhibidores policíclicos sustituidos de la actividad de pirazol quinasa y uso de los mismos**

30 Prioridad:

08.01.2013 CN 201310005258

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

08.10.2021

73 Titular/es:

**SHANGHAI FOSUN PHARMACEUTICAL
DEVELOPMENT CO., LTD. (100.0%)
Building A, No. 1289 Yishan Road
Shanghai 200233, CN**

72 Inventor/es:

**LU, TAO;
WANG, YUE;
CHEN, YADONG;
LU, YI;
WANG, ZHANWEI;
JIN, QIAOMEI;
YANG, TAOTAO;
LIN, GUOWU;
GUO, QINGLONG y
ZHAO, LI**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

Observaciones:

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

ES 2 863 175 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

Inhibidores policíclicos sustituidos de la actividad de pirazol quinasa y uso de los mismos

Campo de la invención

5 La presente invención pertenece al campo de la química médica y se refiere a derivados de 4-(pirimidina/piridina heterocíclica sustituida de cinco miembros)amino-1H-3-pirazolcarboxamida, métodos para preparar los mismos y la composición farmacéutica que los contiene, así como su uso médico, especialmente el de antitumoral como inhibidor de proteína quinasa.

Antecedentes de la invención

10 En condiciones normales, el ciclo celular está regulado por un grupo de proteasas relacionadas, que tienen diferentes funciones biológicas que incluyen la inhibición o promoción del ciclo celular, en donde la mayoría de las proteínas que promueven el ciclo celular pertenecen a las quinasas. Las quinasas juegan un papel crucial en la regulación de proteínas para promover una función fisiológica importante. Su función principal in vivo es transferir el fosfato de la molécula de trifosfato de adenosina (ATP) de alta energía al receptor para regular la activación o desactivación del receptor de proteína y finalmente regular el ciclo celular. Sin embargo, se encuentra en muchas

15 células cancerosas que estas quinasas que regulan el ciclo celular normal estarán repentinamente fuera de control. Por tanto, se cree que, si se pudieran suprimir estas quinasas no reguladas, se controlaría la proliferación de células cancerosas. En los últimos años, la quinasa dependiente de ciclina (CDK), la Aurora quinasa, la quinasa tipo Polo (PLK), la quinesina (proteína del tallo de las quinesinas, KSP) y la quinasa de punto de control (CHK) y algunas otras dianas nuevas se encuentran estrechamente relacionadas con el ciclo celular.

20 Entre ellos, la coactivación de Aurora quinasa en el centrosoma y CDK es esencial para el inicio de la mitosis. Están relacionados entre sí y se promueven mutuamente en la regulación del ciclo celular y el proceso de mitosis. Se han investigado los inhibidores correspondientes de estos dos inhibidores y se han realizado investigaciones clínicas con diversos compuestos, lo que demuestra buenas perspectivas para el desarrollo de fármacos contra el cáncer.

25 Se ha encontrado que casi todos los tumores están asociados con un trastorno de la regulación del ciclo celular que puede causar un crecimiento celular descontrolado, diferenciación celular alterada y apoptosis anormal, y la activación excesiva de las CDK (quinasas dependientes de ciclina, CDK) es una de las razones importantes de estas condiciones. Las CDK son proteínas quinasas importantes de serina/treonina, que no ejercen actividad biológica per se hasta que se combinan con ciclinas. Una vez activadas, las CDK pueden catalizar la fosforilación del sustrato, activar cada fase del ciclo celular, realizar la síntesis de ADN y la mitosis en orden y finalmente inducir el crecimiento

30 y la proliferación celular. Mientras tanto, las CDK también pueden unirse a los inhibidores de CDK (CDI) para desempeñar un papel regulador negativo a fin de inhibir la progresión del ciclo celular y prevenir la división celular. Dado que las CDK son críticas en la regulación de la proliferación de células tumorales y la apoptosis, la inhibición selectiva de la actividad de las CDK en los tejidos tumorales podría desempeñar un papel positivo en el tratamiento de tumores y enfermedades malignas. Por lo tanto, el estudio y la detección de las CDK de inhibidores de moléculas pequeñas es uno de los campos candentes para el tratamiento del cáncer y el desarrollo de nuevos fármacos de quimioterapia.

35 CDK1, CDK2, CDK4 y CDK6 son los subtipos más importantes de CDK en la regulación de la progresión del ciclo celular. Debido al hecho de que la desregulación del ciclo celular es una de las principales causas de cáncer, si se puede evitar que el ciclo celular entre en la fase S, no se produciría una replicación aberrante del ADN. El proceso de la fase G1 a la S está regulado principalmente por CDK2/ciclina E, por lo tanto, los inhibidores de CDK2 pueden evitar que el ciclo celular entre en la fase S para una mayor replicación del ADN. Además, adicionalmente al control de la fase G1 a S, CDK2/ciclina A también controla el progreso de la fase S y G2 a lo largo del ciclo celular. Puede verse que CDK2 juega un papel muy importante en el ciclo celular y, por lo tanto, si la actividad de CDK2 puede inhibirse efectivamente, se controlará el ciclo celular y se suprimirá la proliferación incontrolada de células tumorales.

40 En los últimos años, se han descrito varios inhibidores de CDK de molécula pequeña y la mayoría de ellos muestra una buena actividad inhibidora contra CDK2. Ejercen la actividad inhibidora principalmente al unirse competitivamente al sitio activo de ATP de las CDK.

45 La familia Aurora es una proteína quinasa de serina/treonina. Hay tres tipos de subtipos de Aurora quinasa que son muy relevantes en estructura y funciones en las células humanas: Aurora A, B y C. Está involucrada en la regulación de la mitosis celular, incluida la duplicación del centrosoma, la formación del tallo bipolar y el reordenamiento cromosómico en el tallo, etc., y puede monitorizar con precisión el punto de control del husillo, abortar la progresión incorrecta del ciclo celular y completar el proceso de reparación. Durante el progreso del ciclo celular, las Aurora quinasas actúan principalmente en la fase M y comienzan una serie de eventos bioquímicos de mitosis combinados con CDK.

Aurora A y Aurora B están estrechamente relacionadas con el tumor. En primer lugar, Aurora A se encuentra en 20q13.2, mientras que Aurora B se encuentra en 17p13. Ambos se encuentran en segmentos cromosómicos de translocaciones, eliminaciones o amplificaciones activas, lo que significa que tienen una inestabilidad natural. Estos estudios sugieren que cuando Aurora A se sobreexpresa, es un oncógeno potencial. La amplificación de estas dos regiones cromosómicas prevalece en los tejidos tumorales de cáncer de mama y cáncer colorrectal y líneas celulares de cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer de próstata, neuroblastoma y cáncer de cuello uterino. En la actualidad, hay pocos estudios sobre los efectos cancerígenos de Aurora C.

Las auroras A, B y C son altamente homólogas en la región catalítica con solo diferencias breves en la secuencia de aminoácidos en el terminal de la región reguladora y el dominio catalítico. Los sitios activos en donde se unen los inhibidores se encuentran en la región bisagra. El anillo de purina de ATP se puede acomodar en un bolsillo hidrófobo de Aurora quinasa y formar un enlace de hidrógeno con los residuos de aminoácidos en la región bisagra. Los inhibidores de la Aurora quinasa pueden unirse competitivamente con el sitio de unión de ATP de la Aurora quinasa y también pertenecen a los inhibidores competitivos de ATP.

Se ha informado de que en la etapa terminal G2, la microinyección de anticuerpo de Aurora quinasa puede retrasar significativamente el inicio mitótico. Ahora se cree que el mecanismo es que la Aurora quinasa A como efector corriente abajo para los complejos CDK/ciclina activados participa en una serie de eventos bioquímicos para el inicio de la mitosis. Forma un bucle de activación interactivo de retroalimentación positiva con los complejos CDK/ciclina, es decir, los complejos CDK/ciclina activan en primer lugar las Aurora quinasas y las Aurora quinasas a su vez promueven la activación completa de las CDK y facilitan el posicionamiento dentro del núcleo del complejo. Estos dos eventos son importantes para el inicio de la mitosis. En resumen, durante el ciclo celular, la coactivación de Aurora quinasa y CDK en el centrosoma es una de las condiciones esenciales para el inicio de la mitosis celular, en donde se asocian mutuamente entre sí en la regulación del ciclo celular y el proceso de mitosis. Por tanto, si las actividades de Aurora quinasa y CDK se pueden inhibir simultáneamente, el crecimiento excesivo de células tumorales puede inhibirse doblemente. Por lo tanto, es de gran valor desarrollar nuevos inhibidores de múltiples dianas de CDK/Aurora.

A lo largo del ciclo celular, además del control de la fase G1 a la S, CDK2 también controla los procesos celulares de las fases S y G2. Por tanto, mediante la inhibición de CDK2, se puede prohibir la replicación normal del ADN en el ciclo celular. Mientras que en la fase M, la regulación de la mitosis celular se basa principalmente en Aurora A, que juega un papel insustituible en la duplicación del centrosoma, la formación del tallo bipolar, los reordenamientos cromosómicos y similares. Por tanto, se cree que la inhibición de Aurora A puede prevenir la mitosis celular. Por lo tanto, la búsqueda de moléculas pequeñas de múltiples dianas que se dirijan simultáneamente a CDK y Aurora quinasas y que afecten el ciclo celular de las células cancerosas de múltiples maneras sería una mejor manera de lograr el propósito del tratamiento del cáncer.

Hasta ahora, se han resuelto muchas estructuras cristalinas de CDK2 y Aurora A, y el modo de inhibición de los inhibidores y la diana es muy claro, lo que funciona como base para el diseño de fármacos basado en la estructura de inhibidores de múltiples diana. En comparación, los inhibidores de la quinasa CDK2 y Aurora A se unen competitivamente al bolsillo de unión de ATP, principalmente se unen a la enzima a través de enlaces de hidrógeno e interacciones hidrófobas. Hay algunas características comunes para los modos de acción de los inhibidores de moléculas pequeñas con estas dos quinasas y sus regiones de cofacilidad son las siguientes: la estructura tridimensional y las propiedades fisicoquímicas como enlaces de hidrógeno, distribución espacial hidrófoba e hidrófila son muy similares para CDK2 y Aurora A: 1) región de bisagra (bisagra): la región de bisagra es el área más importante para todos los inhibidores competitivos de ATP, y en esta área a menudo hay dos o tres enlaces de hidrógeno críticos; y los residuos en estas dos quinasas involucradas en la formación de los enlaces de hidrógeno son Glu81 y Leu83 para CDK2, y Glu211 y Ala213 para Aurora A. Además, varios segmentos planos hidrófobos a menudo se ubican en la región bisagra para asegurar algunos efectos hidrófobos. 2) región hidrófoba A: esta región se refiere a la cavidad hidrófoba formada entre la región bisagra y el ácido aspártico (Asp145 para CDK2 y Asp274 para Aurora A), que se encuentra cerca de la región del motivo quinasa DFG. Dado que la región del bucle tiene cierta flexibilidad, la selección de los fragmentos estructurales hidrófobos muestra cierta diversidad. 3) región hidrófila: ambos sitios activos de las dos quinasas contienen una región hidrófila, en donde la introducción de grupos hidrófilos en esta región será de gran importancia para modular las propiedades fisicoquímicas de los compuestos. La región hidrófila de CDK2 se encuentra cerca de Gln85 mientras que la de Aurora A está cerca de Leu215. Estas regiones de efecto farmacodinámico altamente superpuestas nos permiten diseñar inhibidores de múltiples dianas de CDK/Aurora. Los fármacos multidireccionales generados por la superposición de moléculas de ligando tienden a tener un peso molecular pequeño, buenas propiedades físicas y químicas y una resistencia a los fármacos mucho mejor.

En los últimos años, con el desarrollo del estudio con respecto a las proteínas quinasas, basado en la estructura y secuencia de genes, el concepto de familia de proteínas se presenta constantemente como una familia de enzimas

con estructura y función similar e involucradas en una variedad de transducción de señales y regulación celular. Las proteínas quinasas se pueden clasificar en una pluralidad de subfamilias en función de los diferentes sustratos fosforilados como proteína-tirosina, proteína-serina/treonina, lípidos, etc. Las proteínas quinasas se caracterizan por sus mecanismos de regulación, incluida la autofosforilación, transfosforilación con otras quinasas, interacciones proteína-proteína, interacciones proteína-lípido e interacciones proteína-polinucleótido. Una sola proteína quinasa puede participar en diversos mecanismos reguladores. Las proteínas quinasas catalizan el δ -fosfato en el extremo ATP y fosforilan el hidroxilo de cadena lateral de los residuos de serina, treonina o tirosina, que regulan su actividad de sustrato, median la mayoría de las vías de transducción de señales celulares y regulan muchos procesos celulares diferentes. Los procesos celulares incluyen, pero no se limitan a, proliferación, diferenciación, apoptosis, motilidad, transcripción, traducción y otros procesos de señalización. La fosforilación actúa como un interruptor molecular, regulando la función biológica de la proteína diana. La fosforilación de proteínas diana ocurre en respuesta a una variedad de señales extracelulares, eventos del ciclo celular, estrés ambiental o nutricional, etc. Las señales extracelulares incluyen hormonas, neurotransmisores, factores de crecimiento y diferenciación, etc. La proteína quinasa específica juega un papel en las vías de transducción de señales que activan o inactivan directa o indirectamente enzimas metabólicas, proteínas reguladoras, receptores, proteínas citoesqueléticas, canales o bombas iónicas o factores de transcripción. La transducción de señales incontrolada causada por deficiencias en el control de la fosforilación de proteínas se relaciona con muchas enfermedades, que incluyen inflamación, cáncer, diabetes, alergia/asma, enfermedades y trastornos del sistema inmunológico, enfermedades y trastornos del sistema nervioso central, así como enfermedades y trastornos de angiogénesis.

El quionoma de proteína humana contiene 518 miembros de proteína quinasas, incluidas 90 tirosina quinasas, 388 serina/treonina quinasas y 40 quinasas no clásicas. De acuerdo con el análisis filogenético, Hanks and Hunter han categorizado las proteínas quinasas humanas varias veces. Con el aumento de miembros de proteína quinasa clonados, su clasificación es cada vez más sistemática y detallada. Basándose en los árboles filogenéticos, propusieron una clasificación de todo el dominio catalítico de los miembros de la proteína quinasa publicada antes de junio de 1993. El árbol filogenético contiene cuatro grandes familias de quinasas: (a) Familia AGC, incluida la familia de proteínas quinasas dependientes de cAMP (PKA y la familia PKG), la familia de la proteína quinasa C, la familia de la quinasa del receptor adrenérgico B (BARK), la familia de la quinasa ribosómica S6 y otras quinasas relacionadas; (b) Familia CaMK, que incluye la familia de proteína quinasa regulada por calmodulina Ca^{2+} , familia Snf/AMPK y otras proteínas quinasas relacionadas; (c) familia CMGC, que incluye familia CDK, familia de quinasas Erk (MAP), familia de glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK3), familia de caseína quinasa II, familia Clk y otras quinasas relacionadas; y (d) familia de proteína tirosina quinasa (PTK). El árbol filogenético también incluye una serie de proteína quinasas que no pertenecen a ninguna de las cuatro familias. Cada gran familia podría clasificarse además en subfamilias y tiene al menos un ejemplo como Abelson quinasa (ABL), Akt/proteína quinasa B (Akt/PKB), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), quinasas de linaje mixto (MLK), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), tirosina quinasa con dominios similares a inmunoglobulina y EGF (TIE), receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR). Además de la estructura primaria, los miembros de la misma familia son muy consistentes en la topología, el modo de regulación y la especificidad del sustrato. Los miembros evolutivamente similares tienen una funcionalidad similar.

La CMGC es una proteína quinasa de serina/treonina, y los sitios de fosforilación se localizan principalmente en serina o treonina en un entorno rico en prolina. Los miembros de esta familia tienen una gran cantidad de secuencias intermedias en los subdominios funcionales X y XI. Debido a que Dyrk (MNB), Dyrk2, Dyrk3 tienen una alta homología con Yak1, están organizados en una familia. Como miembro de la familia CMGC, se mencionó anteriormente a CDK. CDK1, CDK2, CDK4 y CDK6 participan principalmente en la regulación de todo el ciclo celular, mientras que las otras CDK están asociadas a otros procesos bioquímicos. Por ejemplo, en un desarrollo neuronal adecuado, se requiere CDK5 y está implicada en la fosforilación de varias proteínas neuronales, como Tau, NUDE-1, sinapsina 1, DARPP32 y complejo Munc18/syntaxina 1A. Normalmente, la CDK5 neuronal se activa al unirse a la proteína p35/p39. Sin embargo, la actividad puede verse alterada al unirse con p25 (la forma trunca de p35). La conversión de p35 en p25 y el trastorno de la actividad de CDK5 pueden inducirse mediante isquemia, excitotoxicidad y péptido β -amiloide. Por tanto, la p25 está relacionada con la patogenia de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y se considera una diana directa para el tratamiento de estas enfermedades.

CDK7 es una nucleoproteína que tiene actividad cdc2CAK y se une a la ciclina H. CDK7 es un componente del complejo de transcripción TFIIH con actividad del dominio C-terminal (CTD) de la ARN polimerasa II. Sus vías bioquímicas mediadas por Tat están relacionadas con la regulación de la transcripción del VIH-1. CDK8 se une a la ciclina C y se relaciona con la fosforilación de la ARN polimerasa II CTD. De manera similar, el complejo CDK9/ciclina-T1 (complejo P-TEFb) se relaciona con el control de la extensión de la ARN polimerasa II. PTEF-b también requiere que el genoma del VIH-1 interactúe con la ciclina T1, a través de la cual se transcribe y activa

mediante la proteína Tat trans activada por virus. Por lo tanto, CDK7, CDK8, CDK9 y el complejo P-TEFb son dianas potenciales para el tratamiento antivírico.

La regulación de la actividad del complejo CDK/ciclina a nivel molecular requiere una serie de estimulación e inhibición de eventos de fosforilación y desfosforilación. La fosforilación de CDK se realiza mediante un grupo de quinasas activadoras de CDK (CAK) y/o algunas quinasas como wee1, Myt1 y Mik1. La desfosforilación se realiza mediante fosfatasa como cdc25 (a y c), pp2a o KAP.

Al mismo tiempo, se descubre que la sobreexpresión de ciclina D1 está relacionada con cáncer de esófago, cáncer de mama, cáncer escamoso y cáncer de pulmón de células no pequeñas. En la patogenia del cáncer de pulmón, la inactivación de genes supresores de tumores es ahora un punto crítico. El gen supresor de tumores p15/MTS2, que se denomina gen p15 y codifica la proteína p15, pertenece a la familia de proteínas INK4. Actúa sobre el complejo CDK y ciclina, inhibiendo específicamente la actividad de la quinasa CDK4 y la quinasa CDK16, evitando la fosforilación de la proteína R6, restringiendo el proceso celular de la fase G1 a la S y reduciendo así la proliferación celular.

La proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) es otro miembro de la familia de las quinasas CMGG y un tipo de proteína quinasa de serina/treonina. Puede transducir señales extracelulares en células y núcleos y regular la expresión génica mediante la activación de factores de transcripción a través de cascadas conservadoras de tres niveles (MAPKKK-MAPKK-MAPK). Esta vía existe en la mayoría de las células y está involucrada en una variedad de funciones celulares, como el movimiento celular, la apoptosis, la diferenciación y proliferación de las células y muchos otros procesos fisiológicos. Se han identificado cuatro vías de transducción de señales MAPK y cada una de ellas es muy específica con funciones individuales. Hasta cierto punto, estas vías de señal tienen cierta diafonía. La investigación con inhibidores y activadores en varias vías de señales no solo puede promover la comprensión del mecanismo de las vías de señales, sino también crear nuevas oportunidades para el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades. La vía de la señal ERK es una de las vías más estudiadas, en donde MEK es una enzima clave en la vía de transducción de señales Ras-Raf-MEK-ERK, que regula las respuestas celulares de acuerdo con diferentes señales de crecimiento. MEK tiene siete subtipos, que fosforilan y activan MAPK corriente abajo respectivamente. MEK1 y MEK2 activan ERK; MEK3 y MEK4 activan p38; y MEK5 y MEK6 activan JNK. Por lo tanto, MEK1/MEK2 se usa comúnmente como un objetivo de tratamiento del cáncer para desarrollar medicamentos contra el cáncer prometedores en la investigación de la vía de la señal ERK. La vía de la señal p38/MAPK es una rama importante de la vía MAPK, que puede ser activada por factores estresantes (como choque osmótico, UV, hipoxia), citoquinas, insulina y factores de crecimiento, e incluso puede activarse en reacciones inmunes e inflamatorias normales. Mientras tanto, el estudio de otra vía de señalización p38, el principal objetivo para el tratamiento de la artritis reumatoide en la investigación clínica, también se ha convertido en un punto caliente en los últimos años. La vía de la señal de c-Jun N-terminal quinasa (JNK)/proteína activada por estrés (SAPK) es un miembro importante de la familia de las MAPK en donde c-Jun es un miembro del complejo del factor de transcripción AP-1, involucrado en el control de la proliferación celular, transformación, supervivencia y apoptosis. JNK también fosforila p53 y algunas no nucleoproteínas. Es muy importante la fosforilación de la proteína diana mediada por JNK, que puede inducir la expresión génica de los genes IL, VEGF, COX-2, MMP-9, hemo oxigenasa-1, ICAM-1, NCX1, GnRHR y otras citoquinas. La vía de la señal JNK está involucrada en la inflamación y enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide, el síndrome de intestino irritable y la aterosclerosis. ERK5/BMK1, la vía de la señal de la proteína quinasa activada por mitógenos grandes (BMK1) de K5, es la vía más reciente descubierta en la familia MAPK. Sus factores de estrés extracelulares incluyen azúcar alto, oxígeno bajo, estrés por cizallamiento del flujo sanguíneo, especies reactivas al oxígeno (ROS), presión osmótica y una variedad de mitógenos como EGF, NGF, etc. ERK5/BMK1 también sigue la cascada MAPK, MEK2/3 (MAPK-KK) -MEK5 (MAPKK)-BMK1/ERK5 (MAPK). Una vez activado, ERK5 se mueve del citoplasma al núcleo y fosforila un gran número de dianas corriente abajo que incluyen MEF2C, c-Myc, Bim, AP-1, etc. ERK5 juega un papel importante en la supervivencia, proliferación y diferenciación celular. El estudio actual encontró que está estrechamente relacionado con los procesos patológicos de diabetes, enfermedad renal, fibrosis hepática y tumores.

La glucógeno sintasa quinasa-3 (GSK-3) es una serina/treonina quinasa que se presenta como dos isoformas expresadas de forma ubicua en humanos (GSK-3 α y GSK-3 β). GSK-3 participa en el desarrollo embrionario, la síntesis de proteínas, la proliferación celular, la diferenciación celular, la dinámica de los microtúbulos, la motilidad celular y la apoptosis celular. Asimismo, GSK-3 participa en la progresión de estados patológicos como diabetes, cáncer, enfermedad de Alzheimer, accidente cerebrovascular, epilepsia, enfermedad de las neuronas motoras y/o traumatismo craneal. Filogenéticamente, GSK-3 está más estrechamente relacionado con las CDK.

Como parte de la vía de respuesta a la insulina de los mamíferos, GSK-3 es capaz de fosforilar y, por tanto, inactivar la glucógeno sintasa. La regulación al alza de la actividad de la glucógeno sintasa y, por lo tanto, la síntesis de glucógeno a través de la inhibición de GSK-3 se ha considerado, por tanto, un medio potencial para combatir la diabetes mellitus tipo II o no insulín dependiente (NIDDM): una afección en donde los tejidos corporales se vuelven

resistentes a la estimulación de la insulina. LA inhibición de GSK-3, por ejemplo, mediante la inactivación de la proteína "diana de la rapamicina en mamíferos" (mTOR), puede aumentar la biosíntesis de proteínas. Finalmente, existe alguna evidencia de la regulación de la actividad de GSK-3 a través de la vía MAPK a través de la fosforilación de GSK-3 por quinasas como la proteína quinasa 1 activada por proteína quinasa activada por mitógenos (MAPKAP-K1 o RSK). Estos datos sugieren que la actividad de GSK-3 puede ser modulada por estímulos mitogénicos, de insulina y/o de aminoácidos.

Además, GSK-3 β es un componente clave en la vía de señalización de Wnt de vertebrados. Se ha demostrado que esta vía bioquímica es fundamental para el desarrollo embrionario normal y la regulación de la proliferación celular en tejidos normales. En respuesta a la estimulación de Wnt, GSK-3 se inhibe, lo que puede causar la desfosforilación del sustrato de GSK-3 (por ejemplo, Axina, el producto del gen de la poliposis adenomatosa (APC) y la β -catenina). La regulación aberrante de la vía Wnt está relacionada con muchos cánceres. Las mutaciones en APC y/o β -catenina son muy comunes en el cáncer colorrectal y otros tumores, lo que demuestra que la β -catenina es muy importante en la adhesión celular. Por tanto, GSK-3 también podría modular los procesos de adhesión celular hasta cierto punto. Aparte de las vías bioquímicas ya descritas, también hay datos que muestran que GSK-3 regula la división celular mediante la fosforilación de ciclina-D1 y fosforila factores de transcripción como c-Jun, CCAAT/proteína de unión potenciadora α (C/EBP α), c-Myc y/u otros sustratos como el factor nuclear de células T activadas (NFATc), el factor de choque térmico-1 (HSF-1) y la proteína de unión al elemento de respuesta c-AMP (CREB). Independientemente de la especificidad del tejido, GSK-3 también juega un papel en la regulación de la apoptosis celular. El papel de GSK-3 en la modulación de la apoptosis celular, a través de un mecanismo proapoptótico, puede ser de particular relevancia para las afecciones médicas en donde puede producirse la apoptosis neuronal. Algunos ejemplos son traumatismo craneoencefálico, accidente cerebrovascular, epilepsia, enfermedad de Alzheimer y enfermedades de las neuronas motoras, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal y enfermedad de Pick. Se ha demostrado in vitro que GSK-3 es capaz de hiperfosforilar la proteína Tau asociada a microtúbulos. La hiperfosforilación de Tau interrumpe su unión normal a los microtúbulos y también puede conducir a la formación de filamentos de Tau intracelulares. Se cree que la acumulación progresiva de estos filamentos conduce a una eventual disfunción y degeneración neuronal. Por tanto, la inhibición de la fosforilación de Tau mediante la inhibición de GSK-3 puede proporcionar un medio para limitar y/o prevenir los efectos neurodegenerativos.

Las proteínas tirosina quinasas (PTK), otra importante familia de proteínas quinasas, catalizan el grupo γ -fosfato de ATP en residuos de tirosina de muchas proteínas importantes y, por lo tanto, fosforilan el grupo hidroxilo de fenol. En las células normales (excepto en las células nerviosas), la fosforilación de la tirosina rara vez ocurre. Aunque la tirosina fosforilada es sólo el 0.5% de los aminoácidos fosforilados en el cuerpo, está demostrado que la fosforilación de la tirosina juega un papel importante en la regulación de muchos procesos celulares. Es un factor importante en la transducción de señales mediante la transducción de señales celulares. Además, las PTK participan en una serie de funciones celulares y están estrechamente relacionadas con el crecimiento, la diferenciación y la proliferación celular. Las PTK también juegan un papel muy importante en el crecimiento y proliferación de células malignas. Los trastornos de la función de la tirosina quinasa pueden conducir a la activación de sus vías de señalización corriente abajo y provocar trastornos de la proliferación celular, lo que finalmente conduce a la formación de tumores. Por tanto, los inhibidores de la tirosina quinasa son beneficiosos en la prevención y el tratamiento del cáncer.

Las PTK se pueden clasificar en tirosina quinasas no receptoras (NRTK) y tirosina quinasas receptoras (RTK) de acuerdo con si existen en los receptores de la membrana celular. Hasta ahora, se han encontrado 58 tipos de RTK. Estas proteínas quinasas poseen estructuralmente una región catalítica muy similar que consta de aproximadamente 270 residuos de aminoácidos. Las RTK son proteínas transmembrana y generalmente consisten en un dominio extracelular, un dominio transmembrana y un dominio quinasa intracelular. Las investigaciones clínicas implican que estos receptores y sus ligandos son muy relevantes para muchos tipos de cánceres. La sobreexpresión de los factores de crecimiento correspondientes que están implicados en los cánceres puede conducir a un exceso de señales de fosforilación de tirosina transducida en las células. Tales factores de crecimiento como los receptores de PDGF (receptor de PDGF α y β), el receptor del factor estimulante de colonias (CSF-I) (CSF-1R, c-Fms), FLT-3 y c-kit, etc. son relevantes para muchas enfermedades tales como proliferación e inflamación celular. Entre ellos, el gen FLT3, ubicado en el cromosoma 13q12, es un gen del factor de crecimiento hematopoyético temprano encontrado en 1991 y el receptor FLT3 codificado pertenece al tercer tipo de la familia de receptores RTK. Cuando el dominio extracelular del receptor FLT3 se une a sus ligandos endógenos, se formará el complejo homo o heterodímero que conducirá a la activación de la tirosina quinasa, abriendo el bucle activo y haciendo que la proteína sustrato se una al sitio de unión del ATP. En consecuencia, las proteínas del sustrato se fosforilan, lo que conduce a la transducción de una serie de señales posteriores que provocan la proliferación y diferenciación de las células. Los receptores FLT3 se encuentran ampliamente diseminados en las células madre/progenitoras hematopoyéticas, el timo, la linfa, la placenta, el cerebro, las gónadas y muchos otros tejidos. Sin embargo, la mutación del gen FLT3 (que incluye principalmente las mutaciones internas por duplicación en tándem del dominio yuxtamembrana y las mutaciones puntuales del dominio tirosina quinasa) y la sobreexpresión pueden dar lugar a una variedad de enfermedades

hematológicas malignas como la leucemia mielógena aguda. Como resultado, FLT-3 se convierte en un punto clave en el tratamiento del cáncer, particularmente en neoplasias hematológicas. La sobreexpresión o mutación de FLT-3 conduce a la inducción incontrolada de los receptores FLT3 y los canales descendentes que pueden causar la activación de Ras. Las neoplasias malignas hematológicas incluyen leucemia, linfoma (NHL), enfermedad de Hodgkin (también conocida como linfoma de Hodgkin) y mieloma similar a leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia promielocítica aguda (APL), leucemia linfocítica crónica (CLL) leucemia mielóide crónica (LMC), leucemia neutrofilica crónica (LNC), leucemia indiferenciada aguda (AUL), linfoma anaplásico de células grandes (LACG), leucemia linfocítica inmadura (LMP), leucemia monocítica de cosecha juvenil (LMMJ), LLA de células T adultas, mielodisplasia con trilineaje (AML/TMDS), leucemia de linaje mixto (MLL), síndromes mielodisplásicos (MDS), mielodisplasia (MPD), mieloma múltiple (MM) y sarcomas de la médula espinal.

Mientras tanto, los dominios extracelulares de RTK pueden unirse a ligandos específicos tales como factores de crecimiento, mientras que sus dominios intracelulares están fosforilados. Las rutas de señales y los procesos biológicos mediados por RTK se encuentran en la angiogénesis. Se muestra que la vía activada por RTK se selecciona en la angiogénesis. La activación de vías como VEGFR o PDGFR puede dar como resultado varios procedimientos de angiogénesis como proliferación celular, migración, supervivencia y permeabilidad vascular que están estrechamente relacionados con una serie de enfermedades vasculares.

Actualmente, existen 32 tirosina quinasas no receptoras (nRTK) que existen de forma continua o temporal en el citoplasma, o se unen a la proteína transmembrana en la célula. Por lo tanto, también se conocen como tirosina quinasa citoplasmática. En los tejidos tumorales, las nPTK a menudo se activan, promoviendo la proliferación celular, resistiendo la apoptosis y promoviendo el desarrollo y la progresión del tumor. Las nRTK contienen principalmente 10 familias: SRC, ABL, JAK, ACK, CSK, FAK, FES, FRK, TEC, SYK, etc. Las citoquinas pueden transducir señales a través de una variedad de vías para participar en la regulación del crecimiento celular, la diferenciación y la apoptosis. Generalmente, los receptores de citoquinas no contienen dominios RTK en el citoplasma, pero existen transducciones de señales mediadas por la citoquina cuando se une a su receptor en células dirigidas a citoquinas. Entre ellos, la quinasa Janus (JAK) y su STAT corriente abajo constituyen una vía de señalización importante y muchas citoquinas pueden activar la vía de señalización JAK/STAT. Cuando las citoquinas se unen a sus receptores, se producirán cambios conformacionales en el receptor citoplásmico, activando así los receptores de la familia de quinasas JAK asociados. La quinasa JAK induce la activación de STAT al promover su correspondiente fosforilación. El STAT activado luego se disocia de su receptor, forma un atenuador, entra en el núcleo y se une a la familia GAS mejorada, activando así la transcripción, induciendo la transformación celular y regulando alguna expresión génica relacionada con la proliferación y supervivencia celular que desempeñan un papel importante en la tumorigénesis.

En la actualidad, se investigan principalmente receptores de tirosina quinasas, tales como VEGFR y EGFR, y se han desarrollado inhibidores de la angiogénesis para ser una estrategia de tratamiento del cáncer sistémico. Los inhibidores de la proteína quinasa comercializados anteriormente son principalmente inhibidores de una sola diana contra una única diana. Aunque han alcanzado anteriormente logros notables en la terapia del cáncer, con el aumento en el uso del tiempo y los casos, hay cada vez más defectos. Por el contrario, los inhibidores de quinasas multidireccionales están mostrando algunas ventajas. Al apuntar simultáneamente a múltiples dianas y múltiples vías de señalización de quinasas, los inhibidores de quinasas de múltiples dianas no solo pueden evitar la resistencia a los medicamentos causada por una mutación de una sola diana, sino también expandir significativamente su espectro antitumoral. El fracaso de los inhibidores de una sola diana SU5416 y SU6668 indica que los inhibidores de quinasa de diana múltiple se convertirán en la corriente principal del desarrollo de inhibidores de quinasa en el futuro. SU5416 y SU6668 se dirigen a KDR y PDGFR- β respectivamente y fueron abortados debido a su escasa eficacia en las fases clínicas III y II. Sin embargo, el inhibidor de múltiples dianas sunitinib que se dirige a múltiples quinasas como KDR etc. finalmente tiene éxito en el mercado. La mayoría de los compuestos estudiados actualmente son inhibidores de múltiples dianas, ya que muestran una mejor actividad inhibidora y tolerancia del paciente en comparación con los inhibidores de una sola diana. Los inhibidores de tirosina de molécula pequeña que se comercializan actualmente o que se encuentran en ensayos clínicos se pueden dividir principalmente en las siguientes categorías de acuerdo con las estructuras químicas: quinazolinonas, indolinonas, piridazinas, cianoquinolinonas, pirrolopirimidinas, etc. con diferente capacidad de unión a quinasas angiogénicas se han aprobado recientemente para el tratamiento del cáncer avanzado en pacientes (carcinoma de células renales, tumor del estroma gastrointestinal y carcinoma hepatocelular). Muchos otros inhibidores de la tirosina quinasa antiangiogénicos se encuentran ahora en ensayos clínicos desde la fase I hasta la fase III. Además de la actividad antitumoral beneficiosa, también se demostró que estos fármacos tienen tolerancia y toxicidad clínicas.

El uso a largo plazo y en dosis altas de la inyección de taxanos ha dado como resultado una resistencia a los fármacos en los pacientes y ha conducido a una disminución de la eficacia. Cada vez hay más evidencias que muestran que la resistencia a los fármacos puede limitar la eficacia de los inhibidores de la tirosina quinasa del receptor diana. Por tanto, es de gran importancia para el desarrollo de una nueva generación de fármacos contra el

cáncer. Al mismo tiempo, los estudios demuestran que las enfermedades asociadas a quinasas están relacionadas de manera endógena, lo que dificulta que los inhibidores de una sola diana ejerzan su actividad inhibidora.

Debido a las funciones esenciales de CDK y Aurora A y sus proteínas relacionadas en las células en proliferación para la coordinación y promoción del ciclo celular, sus inhibidores correspondientes pueden usarse para el tratamiento de trastornos proliferativos, como el cáncer (las aplicaciones generalmente se dirigen a CDK o terapia específica de CDK), así como para el tratamiento de algunas otras enfermedades, tales como infecciones virales, enfermedades autoinmunes, enfermedades neurodegenerativas. Cuando se usa en combinación con agentes terapéuticos nuevos o existentes, la terapia dirigida a CDK también puede proporcionar beneficios clínicos en el tratamiento de enfermedades descritas anteriormente. En comparación con muchos agentes antitumorales existentes y con respecto a las tirosina quinasas mencionadas anteriormente, la mutación de CDK y la resistencia a fármacos de sus inhibidores ocurren relativamente menos. Por lo tanto, la terapia contra el cáncer dirigida a CDK podría tener ventajas sobre muchos agentes antitumorales actuales, ya que no interactuarían directamente con el ADN y, por lo tanto, deberían reducir el riesgo de desarrollo de tumores secundarios.

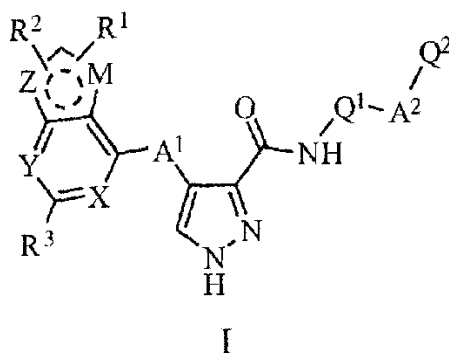
Los inhibidores de CDK de molécula pequeña de diana múltiple, tales como flavopiridol y UCN201, ya han mostrado una buena actividad antitumoral en ensayos clínicos I y II. Sin embargo, la mayoría de los inhibidores son de una sola diana y muchas empresas han realizado investigaciones en este aspecto. Por ejemplo, un nuevo inhibidor de CDK de molécula pequeña, AT7519, que ahora se encuentra en ensayos clínicos I/II, actúa sobre múltiples dianas como CDK1/ciclina B, CDK2/ciclina A, CDK3/ciclina E, y etc. Mientras tanto, AT7519 puede inducir la activación de su miembro proteico de la familia GSK-3 β al regular a la baja su nivel de fosforilación, lo que lleva a la apoptosis celular. Relativamente, los tipos de estructura de los inhibidores de la familia de proteínas quinasas cruzadas en la actualidad rara vez se informan y, por lo tanto, el desarrollo de inhibidores de quinasas que pueden actuar selectivamente sobre múltiples dianas específicas de enfermedades será de gran importancia.

Los documentos WO-A-2005/012256 y WO-A-2009/134658 describen ciertos compuestos como inhibidores de proteína quinasas.

Resumen

Sobre la base del estudio de inhibidores de molécula pequeña de CDK2 y Aurora A, de acuerdo con estructuras cristalinas de CDK2 y Aurora A, los presentes inventores construyeron modelos de relación estructura-actividad (SAR) y modelos de cribado virtual mediante herramientas de diseño de fármacos asistidas por ordenador. Además, los presentes inventores construyeron una biblioteca de compuestos enfocada mediante métodos de crecimiento de fragmentos. A través de la selección virtual, se identificaron y sintetizaron una serie de nuevos compuestos con la estructura original de 4-(pirimidina/piridina heterocíclica de cinco miembros sustituida)amino-1H-3-pirazolcarboxamida. Los ensayos farmacológicos mostraron que los compuestos de la invención no solo son buenos inhibidores duales de CDK2 y Aurora A, sino que también ejercen actividad inhibidora contra diversas quinasas de la familia CMGC y de la familia TK. También mostraron una potente actividad inhibidora contra múltiples líneas de células tumorales y algunas de ellas son ventajosas sobre el conocido inhibidor de CDK2 AT7519, el inhibidor de Aurora A AT-9283 y el inhibidor de múltiples diana estaurosporina.

La invención es como se define en y por las reivindicaciones adjuntas. La siguiente descripción se refiere a los compuestos de la invención, así como a los compuestos relacionados, definidos juntos por la fórmula (I):



o sales o tautómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

R¹, R² y R³ representan cada uno independientemente H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo, diarilalquilo, arilo o Het;

X e Y representan cada uno independientemente un átomo de N o un grupo CH, en donde el grupo CH puede estar opcionalmente sustituido con R⁴, y R⁴ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo, diarilalquilo, arilo o Het;

5 Z y M representan cada uno independientemente un grupo NH, O, S o CH con la condición de que uno de Z y M sea NH, O u S, en donde el grupo CH o NH puede estar opcional e independientemente sustituido con R⁵, y R⁵ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo, diarilalquilo, arilo o Het;

10 A¹ representa independientemente NH, O, S o grupo alquileo, en donde el grupo NH o alquileo puede estar opcional e independientemente sustituido por R⁶, y R⁶ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo, diarilalquilo, arilo o Het;

A² representa independientemente alquileo, C(O)NH, C(O), NHC(O), alquileo-C(O), C(O)-alquileo, alquileo-C(O)-alquileo o NHC(O)NH, en donde los grupos anteriores pueden estar cada uno opcional e independientemente sustituido con R⁷, y R⁷ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo, diarilalquilo, arilo o Het;

15 Q1 se selecciona de arilo o Het, en donde el arilo o Het pueden estar cada uno opcional e independientemente sustituido con uno o más R⁸, y R⁸ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo, diarilalquilo, arilo o Het;

20 Q2 se selecciona de arilo o Het, en donde el arilo o Het puede estar opcional e independientemente sustituido por uno o más R⁹, y R⁹ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo, diarilalquilo, arilo o Het;

el término "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono;

el término "alquileo" se refiere a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono;

25 el término "alcoxilo" se refiere a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene 1-6 átomos de carbono, o un grupo hidrocarburo saturado cíclico que tiene 3-6 átomos de carbono, o un grupo hidrocarburo saturado cíclico que tiene 3-6 átomos de carbono que está unido a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene 1-6 átomos de carbono; en donde cada átomo de carbono está opcionalmente sustituido con oxígeno;

30 el término "alquiltiol" se refiere a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene 1-6 átomos de carbono, o un grupo hidrocarburo saturado cíclico que tiene 3-6 átomos de carbono, o un grupo hidrocarburo saturado cíclico que tiene 3-6 átomos de carbono que está unido a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene 1-6 átomos de carbono; en donde cada átomo de carbono está opcionalmente sustituido con azufre;

35 el término "alcoxilalquilo" se refiere al grupo alquilo como se definió anteriormente, que está unido al grupo alcoxilo como se definió anteriormente;

40 el término "arilo" se refiere a un anillo carbónico seleccionado entre fenilo, naftilo, acenaftenilo o tetralilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente entre H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo, diarilalquilo, arilo o Het;

el término "aralquilo" o "diarilalquilo" se refiere al grupo alquilo como se definió anteriormente, que está unido al grupo arilo como se definió anteriormente;

45 el término "Het" se refiere a un grupo heterocíclico monocíclico seleccionado de piperidilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, furilo, tienilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo o piridazinilo seleccionado de quinicinilo, quinoxalinilo, indolilo, bencimidazolilo, benzoxazolilo, bencisoxazolilo, benzotiazolilo, bencisotiazolilo, benzofurilo, benzotienilo, 2,3-dihidro-1,4-benzodioxinilo o 1,3-benzodioxililo; en donde el grupo heterocíclico monocíclico o bicíclico está cada uno opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente entre halógeno, haloalquilo, hidroxilo, alquilo o alcoxilo;

50 el término "halógeno" se refiere a un sustituyente seleccionado entre fluoro (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I); el término "haloalquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene 1-6 átomos

de carbono, o un grupo hidrocarburo saturado cíclico que tiene 3-6 átomos de carbono, o un grupo hidrocarburo saturado cíclico que tiene 3-6 átomos de carbono que está unido a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene 1-6 átomos de carbono; en donde uno o más átomos de carbono están sustituidos con uno o más halógenos.

- 5 Los compuestos de la invención aquí reivindicada se definen por la fórmula (I), o las sales o tautómeros o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos o su combinación, en donde:

R^1 , R^2 y R^3 representan cada uno independientemente H o alquilo C_{1-4} ;

X e Y representan cada uno independientemente un átomo de N o un grupo CH;

- 10 Z y M representan cada uno independientemente un grupo NH, O, S o CH con la condición de que uno de Z y M sea NH, O o S;

A^1 representa NH;

A^2 representa independientemente alquilenos C_{1-4} en forma de cadena, C(O)NH, C(O) o NHC(O);

Q^1 es un anillo aromático sustituido o no sustituido seleccionado entre fenilo, naftilo, pirrolilo, furilo, tienilo, piridilo, pirazinilo o pirimidinilo y el sustituyente puede ser 1-2 halógeno o trifluorometilo;

- 15 Q^2 es morfolinilo o metilpiperazinilo.

En una realización preferible de la presente divulgación, que incluye compuestos de la invención y otros compuestos relacionados,

R^1 , R^2 y R^3 representan cada uno independientemente H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo o arilo;

- 20 X e Y representan cada uno independientemente un átomo de N o un grupo CH, en donde el grupo CH puede estar opcionalmente sustituido con R^4 , y R^4 puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo o arilo;

- 25 Z y M representan cada uno independientemente un grupo NH, O, S o CH con la condición de que uno de Z y M sea NH, O u S, en donde el grupo CH o NH puede estar opcional e independientemente sustituido con R^5 , y R^5 puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo o arilo;

A^1 representa independientemente NH, O, S o grupo alquilenos, en donde el grupo NH o alquilenos puede estar opcional e independientemente sustituido con R^6 , y R^6 puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo o arilo;

- 30 A^2 representa independientemente alquilenos, C(O)NH, C(O), NHC(O), alquilenos-C(O), C(O)-alquilenos, alquilenos-C(O)-alquilenos o NHC(O)NH, en donde los grupos anteriores pueden estar cada uno opcional e independientemente sustituido con R^7 , y R^7 puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo o arilo;

- 35 Q^1 se selecciona de arilo o Het, en donde el arilo o Het pueden estar cada uno opcional e independientemente sustituido con uno o más R^8 , y R^8 puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo o arilo;

Q^2 se selecciona de arilo o Het, en donde el arilo o Het puede estar opcional e independientemente sustituido por uno o más R^9 , y R^9 puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol, alcoxilalquilo, aralquilo o arilo. En otra realización preferible de la presente divulgación, que incluye compuestos de la invención y otros compuestos relacionados,

- 40 R^1 , R^2 y R^3 representan cada uno independientemente H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

X e Y representan cada uno independientemente un átomo de N o un grupo CH, en donde el grupo CH puede estar opcionalmente sustituido con R^4 , y R^4 puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

- 45 Z y M representan cada uno independientemente un grupo NH, O, S o CH con la condición de que uno de Z y M sea NH, O o S, en donde el grupo CH o NH puede estar opcional e independientemente sustituido con R^5 , y R^5 puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

A¹ representa independientemente NH, O, S o grupo alquileo, en donde el grupo NH o alquileo puede estar opcional e independientemente sustituido con R⁶, y R⁶ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

5 A² representa independientemente alquileo, C(O)NH, C(O), NHC(O), alquileo-C(O), C(O)-alquileo, alquileo-C(O)-alquileo o NHC(O)NH, en donde los grupos anteriores pueden estar cada uno opcional e independientemente sustituido con R⁷, y R⁷ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

10 Q¹ se selecciona de arilo o Het, en donde el arilo o Het puede estar cada uno opcional e independientemente sustituido con uno o más R⁸, y R⁸ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

Q² se selecciona de arilo o Het, en donde el arilo o Het pueden estar cada uno opcional e independientemente sustituido con uno o más R⁹, y R⁹ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo.

15 En otra realización preferible de la presente divulgación, que incluye compuestos de la invención y otros compuestos relacionados,

R¹, R² y R³ representan cada uno independientemente H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

20 X e Y representan cada uno independientemente un átomo de N o un grupo CH, en donde el grupo CH puede estar opcionalmente sustituido con R⁴, y R⁴ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

Z y M representan cada uno independientemente un grupo NH, O, S o CH con la condición de que uno de Z y M sea NH, O o S, en donde el grupo CH o NH puede estar opcional e independientemente sustituido con R⁵, y R⁵ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

25 A¹ representa independientemente NH, O, S o grupo alquileo, en donde el grupo NH o alquileo puede estar opcional e independientemente sustituido con R⁶, y R⁶ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

30 A² representa independientemente alquileo, C(O)NH, C(O), NHC(O), alquileo-C(O), C(O)-alquileo, alquileo-C(O)-alquileo o NHC(O)NH, en donde los grupos anteriores pueden estar cada uno opcional e independientemente sustituido con R⁷, y R⁷ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

Q¹ es un anillo aromático sustituido o no sustituido seleccionado de fenilo, naftilo, pirrolilo, furilo, tienilo, piridilo, pirazinilo o pirimidinilo, y los grupos anteriores pueden estar cada uno opcional e independientemente sustituido con uno o más R⁸, y R⁸ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

35 Q² es un anillo aromático seleccionado de fenilo, naftilo, pirazolilo, furilo, tienilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo; o anillo carbónico alifático C₃-C₈; o anillo heterociclo alifático seleccionado entre tetrahidropirrolilo, piperidilo, morfolinilo, metilpiperazinilo; y cada uno de los grupos anteriores puede estar opcional e independientemente sustituido con uno o más R⁸, y R⁸ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo.

En una realización preferible adicional de la presente divulgación, que incluye compuestos de la invención y otros compuestos relacionados,

40 R¹, R² y R³ representan cada uno independientemente H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

X e Y representan cada uno independientemente un átomo de N o un grupo CH, en donde el grupo CH puede estar opcionalmente sustituido con R⁴, y R⁴ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

45 Z y M representan cada uno independientemente un grupo NH, O, S o CH con la condición de que uno de Z y M sea NH, O u S, en donde el grupo CH o NH puede estar opcional e independientemente sustituido con R⁵, y R⁵ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

A¹ representa independientemente NH, O, S o grupo alquileo, en donde el grupo NH o alquileo puede estar opcional e independientemente sustituido con R⁶, y R⁶ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

5 A² representa independientemente alquileo, C(O)NH, C(O), NHC(O), alquileo-C(O), C(O)-alquileo, alquileo-C(O)-alquileo o NHC(O)NH, en donde los grupos anteriores pueden estar cada uno opcional e independientemente sustituido con R⁷, y R⁷ puede ser H, alquilo, ciano, halógeno, haloalquilo, hidroxilo, tiol, alcoxilo, alquiltiol o alcoxilalquilo;

Q¹ es un anillo aromático sustituido o no sustituido seleccionado entre fenilo, naftilo, pirrolilo, furilo, tienilo, piridilo, pirazinilo o pirimidinilo y el sustituyente puede ser 1-2 halógeno o trifluorometilo;

10 Q² es un anillo aromático seleccionado de fenilo, naftilo, pirazolilo, furilo, tienilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo; o anillo carbónico alifático C₃-C₈; o anillo heterociclo alifático seleccionado entre tetrahidropirrolilo, piperidilo, morfolinilo, metilpiperazinilo.

En una realización preferible de la presente divulgación, que incluye compuestos de la invención y otros compuestos relacionados,

15 R¹, R² y R³ representan cada uno independientemente H o alquilo C₁₋₄;

X e Y representan cada uno independientemente un átomo de N o un grupo CH;

Cada uno de Z y M representa independientemente un grupo NH, O, S o CH con la condición de que uno de Z y M sea NH, O o S;

A¹ representa independientemente un grupo NH, O, S o CH₂;

20 A₂ representa independientemente alquileo C₁₋₄ en forma de cadena, C(O)NH, C(O) o NHC(O);

Q¹ es un anillo aromático sustituido o no sustituido seleccionado entre fenilo, naftilo, pirrolilo, furilo, tienilo, piridilo, pirazinilo o pirimidinilo y el sustituyente puede ser 1-2 halógeno o trifluorometilo;

25 Q² es un anillo aromático seleccionado de fenilo, naftilo, pirazolilo, furilo, tienilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo; o anillo carbónico alifático C₃-C₈; o anillo heterociclo alifático seleccionado entre tetrahidropirrolilo, piperidilo, morfolinilo, metilpiperazinilo.

En otra realización preferible de la invención,

R¹, R² y R³ representan cada uno independientemente H o metilo;

A¹ representa NH;

A² representa CH₂;

30 Q¹ representa fenilo;

Q² representa morfolinilo o metilpiperazinilo.

De acuerdo con la invención, las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención incluyen las sales de adición ácida formadas por el compuesto de fórmula I con los siguientes ácidos: ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido naftalenosulfónico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido acético, ácido maleico o ácido succínico, ácido fumárico, ácido salicílico, ácido fenilacético, ácido amigdalico. Además, se incluyen las sales ácidas de base inorgánica, por ejemplo, la sal que contiene catión de metal alcalino, catión de metal alcalinotérreo o catión de amonio. Cuando está presente azufre y cuando la naturaleza de los átomos y grupos adyacentes es aceptable, puede existir en forma de -S-, -S(O)- o -S(O)₂-.

40 En los compuestos de fórmula I, se prefieren los siguientes compuestos:

4-(4-tieno[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-1)

4-(4-tieno[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-2)

4-(4-(6-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-3)

4-(4-tieno[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-1)

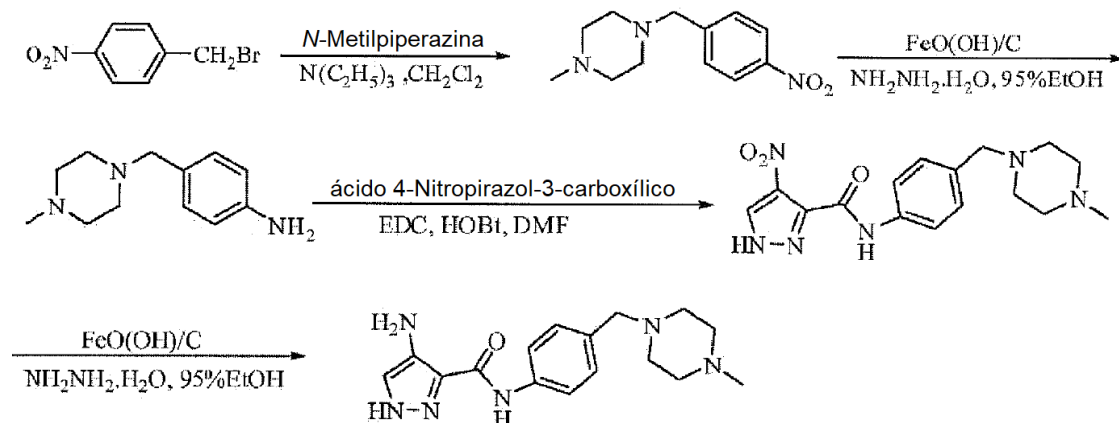
45 4-(4-tieno[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-2)

4-(4-(6-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-3)

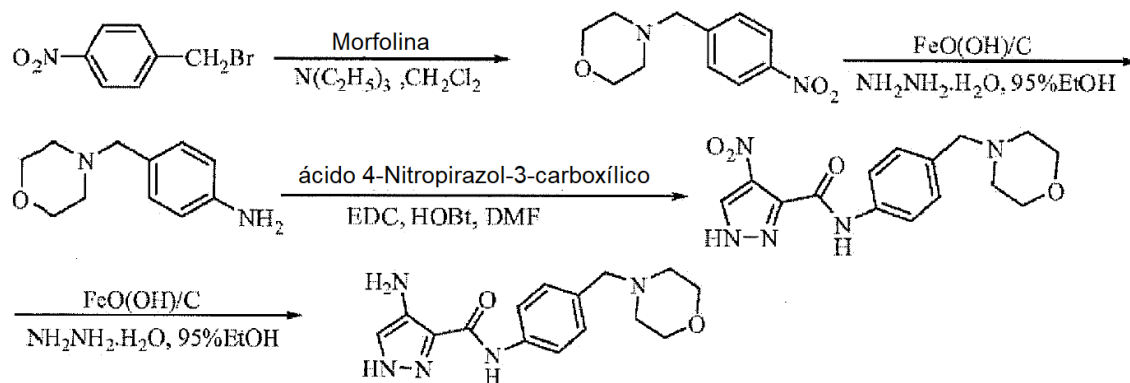
- 4-(4-(6-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-4)
 4-(4-(5-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-5)
 4-(4-(5-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-6)
 4-(4-(5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-7)
 5 4-(4-(5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-8)
 4-(4-tieno[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-9)
 4-(4-tieno[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-10)
 4-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-11)
 4-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-12)
 10 4-(4-(6-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-13)
 4-(4-(6-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-14)
 4-(4-(5-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-15)
 4-(4-(5-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-16)
 4-(4-(5H-pirrolo[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-17)
 15 4-(4-(5H-pirrolo[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-18)
 4-(4-(6-metil-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-19)
 4-(4-(6-metil-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-20)
 4-(4-furo[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-21)
 4-(4-furo[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-22)
 20 4-(4-furo[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-23)
 4-(4-furo[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-24)
 4-(4-tieno[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-25)
 4-(4-tieno[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-26)
 4-(4-(2-metiltieno[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-27)
 25 4-(4-(2-metiltieno[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-28)
 4-(7-tieno[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-29)
 4-(7-tieno[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-30)
 4-(7-(3-metiltieno[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-31)
 4-(7-(3-metiltieno[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-32)
 30 4-(4-furo[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-33)
 4-(4-furo[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-34)
 4-(4-(2-metilfuro[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-35)
 4-(4-(2-metilfuro[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-36)
 4-(7-furo[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-37)
 35 4-(7-furo[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-38)
 4-(7-furo[3,2-b]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-39)
 4-(7-furo[3,2-b]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-40)
 4-(4-furo[2,3-b]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-41)
 4-(4-furo[2,3-b]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-42)
 40 4-(7-(1H-pirrolo[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-43)
 4-(7-(1H-pirrolo[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-44)
 4-(7-(2-metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-45)
 4-(7-(2-metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-46)
 4-(4-(2-metiltieno[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-47)
 45 4-(4-(2-metiltieno[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-48)

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar de acuerdo con los siguientes procedimientos.

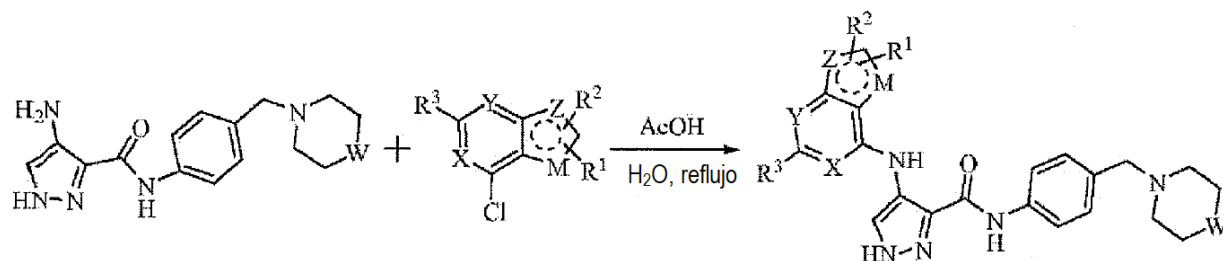
Esquema 1



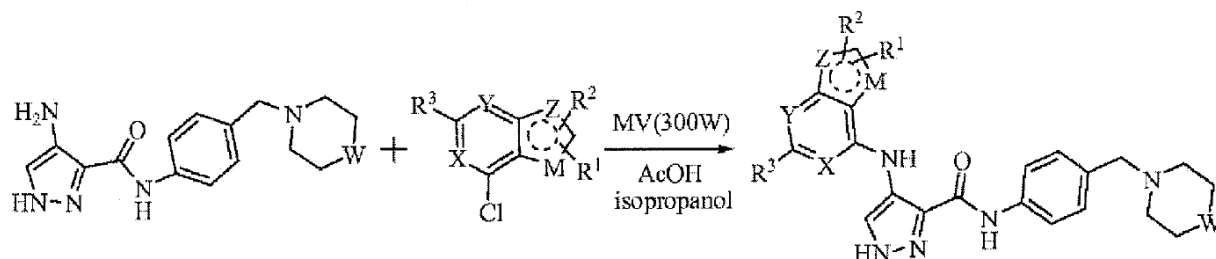
Esquema 2



Esquema 3

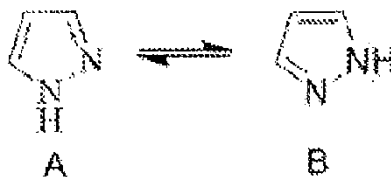


Esquema 4



- 5 Los compuestos de la invención se pueden preparar con los procesos anteriores o procesos similares, usando los materiales de partida correspondientes de acuerdo con las selecciones y posiciones de los sustituyentes.

En los compuestos de fórmula (I), el anillo de pirazol puede existir en dos formas tautoméricas A y B a continuación.



Otros ejemplos de formas tautoméricas incluyen, por ejemplo, formas ceto, enol y enolato, por ejemplo, como los siguientes pares tautoméricos: ceto/enol (como se ilustra a continuación), imina/enamina, amida/imino alcohol, amidina/amidina, nitroso/oxima, tiocetona/entiol y nitro/aci-nitro.

Los compuestos de fórmula (I) y sus subgrupos son inhibidores de las quinasas de la familia CMGC, en particular las seleccionadas entre quinasas dependientes de ciclina, glucógeno sintasa quinasas (GSK), proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) y quinasa similar a CDK (CLK). Los compuestos preferidos pueden inhibir una o más quinasas dependientes de ciclina, glucógeno sintasa quinasas (GSK) y proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), y la quinasa se selecciona de CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK9, GSK3, CHK2, ERK7, FGFR, VEGFR, JAK, JNK, KDR, PDGFR, C-SCR, Aurora y FLT3.

Los compuestos de la invención se pueden usar como inhibidores de las quinasas de la familia TK, especialmente las seleccionadas de la familia del receptor tirosina quinasa (especialmente receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), receptor del factor de crecimiento nervioso (NGFR), inhibidores de los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), del factor de crecimiento de hepatocitos (HGFR), del receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular (VGFR)) y de la familia de tirosina quinasas no receptoras (incluidas 10 familias como SRC, ABL, JAK, ACK, CSK, FAK, FES, FRK, TEC, SYK, etc.). Los compuestos pueden modular o inhibir las actividades de las quinasas de la familia CMGC y de la familia TK y, por tanto, se espera que sean útiles para proporcionar un medio para detener o restaurar la proliferación celular, la diferenciación y la anomalía relacionada con la transducción de señales. Por lo tanto, se anticipa que los compuestos serán útiles para tratar o prevenir trastornos proliferativos tales como cánceres. También se prevé que los compuestos de la invención serán útiles en el tratamiento de afecciones tales como inflamación, infección viral, diabetes mellitus tipo II o diabetes mellitus no insulino dependiente, enfermedades autoinmunes, traumatismo craneoencefálico, accidente cerebrovascular, epilepsia, enfermedades neurológicas (como la enfermedad de Alzheimer), enfermedad de las neuronas motoras.

Los compuestos de la invención también pueden usarse como inhibidores de GSK3. Como consecuencia de su actividad para modular o inhibir CDK quinasas y glucógeno sintasa quinasas, se espera que sean útiles para proporcionar un medio para detener o restaurar la diferenciación anormal de la célula. Por lo tanto, se anticipa que los compuestos serán útiles para tratar o prevenir trastornos proliferativos tales como cánceres. También se prevé que los compuestos de la invención serán útiles en el tratamiento de afecciones tales como infecciones virales, diabetes mellitus tipo II o diabetes mellitus no insulino dependiente, enfermedades autoinmunes, traumatismo craneoencefálico, apoplejía, epilepsia, enfermedades neurodegenerativas (como la enfermedad de Alzheimer), enfermedad de la motoneurona, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal y enfermedad de Pick. Un subgrupo de estados de enfermedad y afecciones en los que se prevé que los compuestos de la invención serán útiles incluye infecciones virales, enfermedades autoinmunes y enfermedades neurodegenerativas. Ejemplos de cánceres que pueden inhibirse incluyen, pero no se limitan a, carcinoma, por ejemplo, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon (por ejemplo, cáncer colorrectal), cáncer de pulmón. GSK-3b puede modular la proliferación y apoptosis de las células cancerosas regulando los factores proteicos como la glucógeno sintasa, p27 o similares y participando en las rutas de señales intracelulares clásicas, desempeñando un papel importante en la patogénesis de las enfermedades neuropsíquicas al participar en la modulación del neuroreceptor monoamínico, y mediar en la aparición de enfermedades neurodegenerativas mediante otros factores y vías. Por lo tanto, se está convirtiendo en un objetivo inhibitorio candente en el tratamiento de diversas enfermedades.

Los compuestos de la invención pueden ser útiles para inhibir la actividad de la quinasa FLT3 de una célula o un sujeto, o para tratar las afecciones asociadas con la actividad o expresión de la quinasa FLT3.

Ejemplos de cánceres que pueden inhibirse incluyen, pero no se limitan a, carcinoma, por ejemplo cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon (por ejemplo, cáncer colorrectal como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), cáncer de riñón, cáncer de epidermis, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma, cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer de esófago, cáncer de vesícula biliar, cáncer de ovario, cáncer de páncreas (por ejemplo, cáncer de páncreas exocrino), cáncer de estómago, cáncer de cuello uterino, cáncer de tiroides, cáncer de próstata o cáncer de piel (por ejemplo, cáncer de células escamosas); tumor hematopoyético de linaje linfóide (por ejemplo, leucemia, leucemia linfocítica aguda,

linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de células pilosas o linfoma de Burkett); tumor hematopoyético de linaje mieloide (por ejemplo, leucemia mielógena aguda o crónica, síndrome mielodisplásico o leucemia promielocítica); cáncer folicular de tiroides; tumor de origen mesenquimatoso (por ejemplo, fibrosarcoma o rhabdomyosarcoma); tumor del sistema nervioso central o periférico (por ejemplo, astrocitoma, neuroblastoma, glioma o schwannoma); melanoma; seminoma; teratocarcinoma; osteosarcoma; xeroderma pigmentoso; queratocantoma; cáncer folicular de tiroides; sarcoma de Kaposi, linfoma de células B y leucemia linfocítica crónica.

El uso de los compuestos de la invención como inhibidor de las quinasas de la familia CMGC y TK se puede determinar mediante los procedimientos de los siguientes Ejemplos y los niveles de actividad de los compuestos se pueden determinar mediante valores de IC₅₀.

Las pruebas farmacológicas y los resultados se resumen a continuación.

(1) Ensayo de actividad inhibidora de CDK2 del compuesto objetivo

Las actividades inhibidoras de los compuestos sintetizados para CDK2/A se determinan mediante transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) y se compararon con el fármaco de control positivo para seleccionar los compuestos con mejores actividades. CDK2/A se compró en forma de un kit o se obtuvo mediante purificación.

Procedimientos: CDK2/A se diluye a una concentración adecuada con diluyente de quinasa. La mezcla de reacción de la quinasa contiene CDK2/A, sustrato peptídico, HEPES (pH 7.5), BRIJ-35, MgCl₂ y EDTA. El sustrato de fosfopeptido CDK2 se usa como control de la fosforilación al 100% y libre de ATP como control de la fosforilación al 0%. Después de 1 h, se añade el reactivo de desarrollo A diluido al sistema de reacción. Luego se deja que la reacción prosiga durante 1 h y luego se apaga con el reactivo de detención. La longitud de onda de excitación es de 400 nm y la intensidad de fluorescencia se detecta a 445 nm (cumarina) y 520 nm (fluoresceína). Las inhibiciones de los compuestos ensayados se calculan de acuerdo con la fórmula.

(2) Ensayo de actividad inhibidora de Aurora A del compuesto objetivo

Las actividades inhibidoras de los compuestos sintetizados para Aurora A se determinan mediante transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) y se compararon con el fármaco de control positivo para seleccionar los compuestos con mejores actividades. Aurora A se compró en forma de kit o se obtuvo mediante purificación.

Procedimientos: Se diluye Aurora A a una concentración adecuada con diluyente de quinasa. La mezcla de reacción de la quinasa contiene Aurora A, sustrato peptídico, HEPES (pH 7.5), BRIJ-35, MgCl₂ y EDTA. El sustrato de fosfopeptido Aurora A se utiliza como control del 100% de fosforilación y libre de ATP como control del 0% de fosforilación. Después de 1 h, se añade el reactivo de desarrollo A diluido al sistema de reacción. Luego se deja que la reacción prosiga durante 1 h y luego se detiene con el reactivo de detención. La longitud de onda de excitación es de 400 nm y la intensidad de fluorescencia se detecta a 445 nm (cumarina) y 520 nm (fluoresceína). Las inhibiciones de los compuestos ensayados se calculan de acuerdo con la fórmula.

(3) Resultados de CDK2, inhibición de las Aurora quinasas A

Compuesto No.	% de Inhibición de CDK2% (1×10^{-6} mol/l)	% de Inhibición de Aurora A (1×10^{-6} mol/l)	Compuesto No.	% de Inhibición de CDK2% (1×10^{-6} mol/l)	% de Inhibición de Aurora A (1×10^{-6} mol/l)
I-1	70.91	67.88	I-25	59.48	59.70
I-2	46.60	52.17	I-26	73.14	61.07
I-3	62.47	75.19	I-27	72.62	67.82
I-4	52.73	64.46	I-28	76.91	67.63
I-5	51.24	58.62	I-29	76.17	64.39
I-6	60.68	54.80	I-30	73.13	55.09
I-7	65.12	54.93	I-31	45.34	70.27
I-8	54.65	48.49	I-32	38.28	67.45
I-9	65.03	67.63	I-33	44.93	45.08

I-10	56.23	54.89	I-34	65.75	50.52
I-11	67.90	64.26	I-35	73.23	55.99
I-12	66.39	49.44	I-36	64.51	56.23
I-13	67.00	60.82	I-37	72.22	59.65
I-14	65.78	66.26	I-38	64.85	50.95
I-15	73.16	57.43	I-39	37.58	42.11
I-16	50.49	56.18	I-40	20.24	40.70
I-17	65.96	62.17	I-41	56.16	42.64
I-18	64.99	53.66	I-42	54.20	51.83
I-19	65.01	70.28	I-43	76.09	55.02
I-20	62.25	60.72	I-44	75.91	54.94
I-21	66.01	60.80	I-45	60.11	63.21
I-22	66.33	48.54	I-46	68.57	60.73
I-23	60.65	59.67	AT-7519	74.96	38.02
I-24	67.10	49.16	AT-9283	39.68	77.36

(4) Selección de múltiples dianas de los compuestos probados

El experimento se basa en la plataforma HotSpot para la detección de quinasas proporcionada por RCB mediante el método de quinasas estándar radiomarcada. La quinasas (que se clona en el dominio de quinasas que expresa el virus baciliforme y se determina el valor de IC50, y el sistema de virus baciliforme FastBac se utiliza como virus baciliforme), los sustratos y los procesos (Sustrato + [33P]-ATP 33P-Sustrato + ADP) se utilizan para detectar la interacción del compuesto de prueba y las enfermedades asociadas con 342 quinasas o mutantes relacionados. El sistema es el sistema de cribado de alto rendimiento más completo para los compuestos que afectan a las quinasas humanas. En el experimento, se utilizan ATP 10 μ M, [33P]ATP y péptidos biotinilados y se utiliza placa SA-flash para medir la tasa de incorporación de 33P. Se utilizaron varias concentraciones diluidas con una serie de solución madre de DMSO. Los valores de IC50 de los compuestos se determinan mediante análisis de regresión usando datos correspondientes a diferentes concentraciones, o se usa una sola concentración para determinar la tasa de inhibición. Los compuestos sintetizados se criban contra 342 quinasas a una dosis única de 10 μ M en orificios dobles de acuerdo con el proceso de cribado estándar. La estaurosporina se usa a la concentración inicial de 10 μ M, en una dilución de 4 veces para 10 dosis como control positivo. Se utilizan otros controles positivos a una concentración inicial de 20 μ M, en una dilución de 3 veces para 10 dosis. Las 342 quinasas probadas son proporcionadas por Reaction Biology en Pennsylvania. El DMSO se adquirió en Sigma, Estados Unidos.

Las quinasas probadas: ABL1(1), ABL2/ARG(2), ACK1(3), AKT1(4), AKT2(5), AKT3(6), ALK(7), ALK1/ACVRL1(8), ALK2/ACVR1(9), ALK3/BMPR1A(10), ALK4/ACVR1B(11), ALK5/TGFB1(12), ALK6/BMPR1B(13), ARAF(14), ARK5/NUAK1(15), ASK1/MAP3K5(16), Aurora A(17), Aurora B(18), Aurora C(19), AXL(20), BLK(21), BMPR2(22), BMX/ETK(23), BRAF(24), BRK(25), BRSK1(26), BRSK2(27), BTK(28), c-Kit(29), c-MER(30), c-MET(31), c-Src(32), CAMK1a(33), CAMK1b(34), CAMK1d(35), CAMK1g(36), CAMK2a(37), CAMK2b(38), CAMK2d(39), CAMK2g(40), CAMK4(41), CAMKK1(42), CAMKK2(43), CDC7/DBF4(44), CDK1/ciclina A(45), CDK1/ciclina B(46), CDK1/ciclina E(47), CDK16/ciclina Y (PCTAIRE)(48), CDK2/ciclina A(49), CDK2/Ciclina A1(50), CDK2/ciclina E(51), CDK3/ciclina E(52), CDK4/ciclina D1(53), CDK4/ciclina D3(54), CDK5/p25(55), CDK5/p35(56), CDK6/ciclina D1(57), CDK6/ciclina D3(58), CDK7/ciclina H(59), CDK9/ciclina K(60), CDK9/ciclina T1(61), CHK1(62), CHK2(63), CK1a1(64), CK1d(65), CK1epsilon(66), CK1g1(67), CK1g2(68), CK1g3(69), CK2a(70), CK2a2(71), CLK1(72), CLK2(73), CLK3(74), CLK4(75), COT1/MAP3K8(76), CSK(77), CTK/MATK(78), DAPK1(79), DAPK2(80), DCAMKL1(81), DCAMKL2(82), DDR1(83), DDR2(84), DLK/MAP3K12(85), DMPK(86), DMPK2(87), DRAK1/STK17A(88), DYRK1/DYRK1A(89), DYRK1B(90), DYRK2(91), DYRK3(92), DYRK4(93), EGFR(94), EPHA1(95), EPHA2(96), EPHA3(97), EPHA4(98), EPHA5(99), EPHA6(100), EPHA7(101), EPHA8(102), EPHB1(103), EPHB2(104), EPHB3(105), EPHB4(106), ERBB2/HER2(107), ERBB4/HER4(108), ERK1(109), ERK2/MAPK1(110), ERK5/MAPK7(111), ERK7/MAPK15(112), FAK/PTK2(113), FER(114), FES/FPS(115), FGFR1(116), FGFR2(117), FGFR3(118), FGFR4(119), FGR(120), FLT1/VEGFR1(121), FLT3(122), FLT4/VEGFR3(123), FMS(124), FRK/PTK5(125), FYN(126), GCK/MAP4K2(127),

GLK/MAP4K3(128), GRK1(129), GRK2(130), GRK3(131), GRK4(132), GRK5(133), GRK6(134), GRK7(135), GSK3a(136), GSK3b(137), Haspin(138), HCK(139), HGK/MAP4K4(140), HIPK1(141), HIPK2(142), HIPK3(143), HIPK4(144), HPK1/MAP4K1(145), IGF1R(146), IKKa/CHUK(147), IKKb/IKBKB(148), IKKe/IKBKE(149), IR(150), IRAK1(151), IRAK4(152), IRR/INSRR(153), ITK(154), JAK1(155), JAK2(156), JAK3(157), JNK1(158), JNK2(159), JNK3(160), KDR/VEGFR2(161), KHS/MAP4K5(162), LATS1(163), LATS2(164), LCK(165), LCK2/ICK(166), LIMK1(167), LIMK2(168), LKB1(169), LOK/STK10(170), LRRK2(171), LYN(172), LYN B(173), MAPKAPK2(174), MAPKAPK3(175), MAPKAPK5/PRAK(176), MARK1(177), MARK2/PAR-1Ba(178), MARK3(179), MARK4(180), MEK1(181), MEK2(182), MEK3(183), MEKK1(184), MEKK2(185), MEKK3(186), MELK(187), MINK/MINK1(188), MKK4(189), MKK6(190), MLCK/MYLK(191), MLCK2/MYLK2(192), MLK1/MAP3K9(193), MLK2/MAP3K10(194), MLK3/MAP3K11(195), MNK1(196), MNK2(197), MRCKa/CDC42BPA(198), MRCKb/CDC42BPB(199), MSK1/RPS6KA5(200), MSK2/RPS6KA4(201), MSSK1/STK23(202), MST1/STK4(203), MST2/STK3(204), MST3/STK24(205), MST4(206), MUSK(207), MYLK3(208), MYO3b(209), NEK1(210), NEK11(211), NEK2(212), NEK3(213), NEK4(214), NEK5(215), NEK6(216), NEK7(217), NEK9(218), NLK(219), OSR1/OXSR1(220), P38a/MAPK14(221), P38b/MAPK11(222), P38d/MAPK13(223), P38g(224), p70S6K/RPS6KB1(225), p70S6Kb/RPS6KB2(226), PAK1(227), PAK2(228), PAK3(229), PAK4(230), PAK5(231), PAK6(232), PASK(233), PBK/TOPK(234), PDGFRa(235), PDGFRb(236), PDK1/PDPK1(237), PHKg1(238), PHKg2(239), PIM1(240), PIM2(241), PIM3(242), PKA(243), PKAcB(244), PKAcg(245), PKCa(246), PKCb1(247), PKCb2(248), PKCd(249), PKCepsilón(250), PKCeta(251), PKCg(252), PKCiota(253), PKCmu/PRKD1(254), PKCnu/PRKD3(255), PKCtheta(256), PKCzeta(257), PKD2/PRKD2(258), PKG1a(259), PKG1b(260), PKG2/PRKG2(261), PKN1/PRK1(262), PKN2/PRK2(263), PKN3/PRK3(264), PLK1(265), PLK2(266), PLK3(267), PLK4/SAK(268), PRKX(269), PYK2(270), RAF1(271), RET(272), RIPK2(273), RIPK3(274), RIPK5(275), ROCK1(276), ROCK2(277), RON/MST1R(278), ROS/ROS1(279), RSK1(280), RSK2(281), RSK3(282), RSK4(283), SGK1(284), SGK2(285), SGK3/SGKL(286), SIK1(287), SIK2(288), SIK3(289), SLK/STK2(290), SNARK/NUAK2(291), SRMS(292), SRPK1(293), SRPK2(294), SSTK/TSSK6(295), STK16(296), STK22D/TSSK1(297), STK25/YSK1(298), STK32B/YANK2(299), STK32C/YANK3(300), STK33(301), STK38/NDR1(302), STK38L/NDR2(303), STK39/STLK3(304), SYK(305), TAK1(306), TAOK1(307), TAOK2/TAO1(308), TAOK3/JIK(309), TBK1(310), TEC(311), TESK1(312), TGFBR2(313), TIE2/TEK(314), TLK1(315), TLK2(316), TNIK(317), TNK1(318), TRKA(319), TRKB(320), TRKC(321), TSSK2(322), TSSK3/STK22C(323), TTBK1(324), TTBK2(325), TXK(326), TYK1/LTK(327), TYK2(328), TYRO3/SKY(329), ULK1(330), ULK2(331), ULK3(332), VRK1(333), VRK2(334), WEE1(335), WNK1(336), WNK2(337), WNK3(338), YES/YES1(339), ZAK/mLTK(340), ZAP70(341), ZIPK/DAPK3(342).

Los resultados de algunos compuestos se muestran en la Figura 1: Los compuestos muestran más del 90% de actividades de inhibición para casi 200 quinasas (el número de quinasas está marcado en el exterior) y muestran selectividad para la familia GMGC: familia CDK quinasas CDK6/ciclina D1 (57), CDK6/ciclina D3 (58), CDK4/ciclina D1 (53), CDK4/ciclina D3 (54), CDK5/p35 (56), GSK3b quinasas (137), CDK5/p25 (55), CDK16/ciclina Y PIM1 (48), DAPK2 (98), ERK7/MAPK15 (112); y familia TK: KDR/VEGFR2 (161), FLT1/VEGFR1 (121), FLT4/VEGFR3 (123), FLT3 (122). Las actividades inhibitorias son más del 99%.

Los compuestos de la invención se ensayan para determinar la IC₅₀ frente a quinasas de la familia GMGC y de la familia TK. La concentración inicial es 1 µM. La dilución en serie se prepara en una solución de DMSO al 100%, 10 puntos para cada compuesto al triple. La mezcla de reacción contiene ATP 20 µM, quinasas y péptido biotinilado de sustrato. Los resultados se criban mediante un método de marcación con isótopos marcados con ³³P cuantitativo, preciso y sensible para la detección. % trl = [(señal compuesta probada - señal de control positivo)/(señal de control negativo - señal de control positivo)] %. Control negativo = DMSO (100% Ctrl); Control positivo = compuesto de control (0% Ctrl). Los valores de IC₅₀ se calculan usando la ecuación de Hill y la curva estándar de respuesta a la dosis. Algunos resultados de IC₅₀ calculados por Prism Graphpad 5 se enumeran en la siguiente tabla.

Quinasa	I-1	I-3	I-II	I-13 I-21		I-27	Estaurosporina
	IC ₅₀ * (µM)						
CDK1/ciclina A	0.157	0.142	0.128	0.158	0.173	0.164	0.003
CDK1/ciclina B	0.087	0.079	0.071	0.088	0.096	0.091	0.003
CDK1/ciclina E	0.096	0.087	0.078	0.097	0.106	0.100	0.003
CDK2/ciclina A	0.015	0.014	0.013	0.015	0.017	0.016	0.001
CDK2/ciclina A1	0.009	0.009	0.008	0.010	0.011	0.010	0.001
CDK3/ciclina E	0.190	0.171	0.155	0.191	0.210	0.198	0.004

Quinasa	I-1	I-3	I-II	I-13 I-21		I-27	Estaurosporina
	IC ₅₀ * (μM)						
CDK4/ciclina D1	0.006	0.006	0.006	0.008	0.007	0.007	0.009
CDK5/p35	0.015	0.013	0.012	0.015	0.016	0.015	0.002
CDK6/ciclina D1	0.005	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.003
CDK7/ciclina H	0.522	0.495	0.471	0.583	0.611	0.575	0.256
CDK9/ciclina K	0.039	0.037	0.035	0.043	0.045	0.043	0.018
ERK7/MAPK15	0.007	0.007	0.007	0.008	0.008	0.008	0.006
FGFR1	0.304	0.274	0.247	0.305	0.335	0.316	0.005
FGFR2	0.233	0.210	0.189	0.234	0.257	0.242	0.003
FGFR3	0.807	0.728	0.657	0.811	0.890	0.841	0.018
FLT1/VEGFR1	0.020	0.019	0.019	0.023	0.024	0.022	0.015
FLT3	0.000	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
FLT4/VEGFR3	0.005	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.002
GSK3b	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.005
JAK2	0.795	0.716	0.644	0.795	0.875	0.826	0.001
JNK1	1.000	1.128	1.243	1.547	1.428	1.328	2.280
JNK2	1.000	1.171	1.325	1.650	1.490	1.383	2.710
KDR/VEGFR2	0.035	0.033	0.031	0.039	0.041	0.038	0.015

Los resultados indican que los compuestos sintetizados muestran actividad y selectividad contra la familia del receptor de tirosina quinasa (RTK), tal como FGFR1, FGFR2, KDR/VEGFR2, FLT1/VEGFR1, FLT3, FLT4/VEGFR3; y la familia CGCM, tal como CDK quinasa, GSK3b, JAK, ERK7/MAPK15 y similares, especialmente alta actividad y selectividad contra quinasa CDK, GSK3β y FLT3. Los compuestos muestran actividades inhibitoras contra VEGFR y CDK al mismo tiempo, mostrando un gran significado.

(4) Ensayo de la actividad antitumoral in vitro del compuesto diana

Las actividades inhibitoras contra diversas líneas de células cancerosas, como la línea celular de cáncer de mama MDA231, la línea celular de cáncer de estómago MGC803, la línea celular de cáncer de estómago BSG823, la línea celular de leucemia K562, la línea celular de cáncer de mama MCF-7, la línea celular de cáncer de mama resistente MCF-7, línea celular de leucemia NB4, la línea celular de cáncer de hígado HEPG2, la línea celular de endotelio de vena del cordón umbilical HUVEC, la línea celular de cáncer de pulmón A549, la línea celular de cáncer de colon HCT116, la línea celular de cáncer de pulmón de células grandes H460, la línea celular de cáncer de hígado 7721, la línea de células cancerosas H1229 de pulmón y similares se determinan con el método MTT.

Método MTT: la deshidrogenasa asociada con NADP en las mitocondrias de células vivas es capaz de reducir MTT exógeno en cristal violeta azulado insoluble (Formazan), que se precipita en la célula. Una célula muerta no tiene esa función. Se utiliza DMSO o líquido triple (10% SDS-5% isobutanol- HCl 0.01 mol/l) para disolver el cristal en la celda. La OD determinada a 570 nm por un lector de microplacas puede reflejar indirectamente la cantidad de células vivas.

Procedimientos: las células tumorales en fase de crecimiento logarítmico se siembran en placas de 96 pozos y se incuban durante 24 h, a las que se les añade la muestra para cribado (como en el caso de las células suspendidas, la muestra se puede añadir directamente). Las células se incuban adicionalmente en CO₂ al 5% a 37°C durante 48 h y luego se añade MTT y las células se incuban durante 4 h más. El cristal se disuelve con DMSO y la detección se realiza en un lector de microplacas.

Las actividades antitumorales de algunos compuestos diana in vitro contra células de cáncer de colon HCT116, células de cáncer de hígado 7721 y células de cáncer de pulmón H1299 se indican a continuación:

Compuesto	HCT-116 (IC ₅₀ /μM)	7721 (IC ₅₀ /μM)	H1299 (IC ₅₀ /μM)
I-1	0.13	6.232	3.30
I-3	0.89	5.09	6.17
I-16	32.27	54.19	88.97
I-21	9.58	17.39	7.66
I-22	8.63	18.09	10.31
I-29	0.26	4.95	3.84
I-39	> 200	> 200	> 200
AT-7519	21.18	> 200	9.32
AT-9283	21.25	61.18	10.76

5 Las actividades antitumorales del compuesto diana (I-1) contra la línea celular de cáncer de mama MDA231, la línea celular de cáncer de estómago MGC803, la línea celular de cáncer de estómago BSG823, la línea celular de leucemia K562, la línea celular de cáncer de mama MCF-7, la línea celular de cáncer de mama resistente a MCF-7, la línea celular de leucemia NB4, la línea celular de cáncer de hígado HEPG2, la línea celular de endotelio de la vena del cordón umbilical HUVEC, la línea celular de cáncer de pulmón A549, la línea celular de cáncer de colon HCT116, la línea celular de cáncer de pulmón de células grandes H460 se exponen a continuación.

Línea celular	I-1 (IC ₅₀ /μM)	AT-7519 (IC ₅₀ /μM)
MDA231	5.45	2.58
MGC803	2.27	1.93
BSG823	20.73	16.72
K562	3.20	3.24
MCF7	0.42	2.04
MCF7 resistente	3.73	22.10
NB4	0.74	0.62
HEPG2	25.24	53.58
HUVEC	2.54	5.67
A549	50.26	53.52
HCT116	0.25	2.63
H460	2.72	5.63

10 Los resultados de la prueba farmacológica demuestran que los compuestos de la invención tienen actividad inhibidora de multiquinasas y pueden usarse en el tratamiento o prevención de enfermedades clínicas asociadas con inhibidores de quinasas, tales como melanoma, cáncer de hígado, cáncer de riñón, leucemia aguda, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, cáncer de piel, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de mama, síndrome mielodisplásico, cáncer de esófago, cáncer gastrointestinal o mesotelioma.

15

Formulaciones farmacéuticas

El compuesto activo se puede administrar solo o en forma de composición farmacéutica (por ejemplo, formulación). La composición comprende al menos un compuesto activo de la invención y uno o más vehículos, adyuvantes, excipientes, diluyentes, cargas, estabilizantes, conservantes farmacéuticamente aceptables. Por consiguiente, en un aspecto adicional, la invención proporciona el compuesto sintetizado y el subgrupo del mismo en forma de composición farmacéutica, por ejemplo, la fórmula (I) como se define en el presente documento y el subgrupo del mismo. Las composiciones farmacéuticas pueden estar en cualquier forma adecuada para administración oral, parenteral, tópica, intranasal, oftálmica, ótica, rectal, intravaginal o transdérmica. Cuando la composición esté destinada a la administración parenteral, se puede formular para la administración intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea o para la administración directa en un órgano o tejido diana mediante inyección, infusión u otros medios de administración.

Algunas formulaciones farmacéuticas se preparan como sigue.

1) Formulación liofilizada: Se colocan alícuotas del compuesto formulado de fórmula (I) y su subgrupo como se definió anteriormente en viales de 50 ml y se liofilizan. Durante la liofilización, la composición se congela usando un protocolo de congelación de un paso a -45°C. La temperatura se eleva a -10°C para el fusiónamiento, luego se baja a -45°C para congelar, seguido del primer secado a 25°C durante aproximadamente 3400 minutos, y luego el segundo secado a 50°C. La presión durante el primer y segundo secado se establece en 80 militor. 2) Formulación de tableta: Se prepara una composición de tableta (252 mg) que contiene el compuesto sintetizado mezclando 50 mg del compuesto con 197 mg de lactosa (BP) como diluyente y 3 mg de estearato de magnesio como lubricante y comprimiendo para formar una tableta de una manera conocida. 3) Formulación de cápsulas: Se prepara una formulación de cápsulas mezclando 100 mg del compuesto sintetizado con 100 mg de lactosa y llenando la mezcla resultante en cápsulas de gelatina dura opacas estándar. 4) Formulación inyectable I: se puede preparar una composición parenteral para administración mediante inyección disolviendo el compuesto sintetizado (por ejemplo, en forma de sal) en agua que contiene propilenglicol al 10% para dar una concentración de compuesto activo del 1.5% en peso. La solución se filtra para esterilidad y luego se sella el vial. 5) Formulación inyectable II: Se prepara una composición parenteral para inyección disolviendo el compuesto sintetizado (por ejemplo, en forma de sal) (2 mg/ml) y manitol (50 mg/ml) en agua. La solución se filtra para esterilidad y se envasa en viales o ampollas sellables de 1 ml. 6) Formulación para inyección subcutánea: se prepara una composición para administración subcutánea mezclando el compuesto sintetizado con aceite de maíz de calidad farmacéutica para dar una concentración de 5 mg/ml. La composición se esteriliza y se introduce en un recipiente adecuado.

El compuesto de fórmula (I) y los subgrupos del mismo como se definen en este documento pueden ser útiles como agente antifúngico. El compuesto puede usarse en medicina animal (por ejemplo, en el tratamiento de mamíferos como humanos), o en el tratamiento de plantas (por ejemplo, en agricultura y horticultura), o como agente antifúngico general, por ejemplo, como conservante y desinfectante. En otro aspecto, la invención proporciona una composición antifúngica para uso agrícola (incluida la horticultura), que comprende el compuesto de fórmula (I) y el subgrupo del mismo como se define aquí anteriormente y un diluyente o vehículo agrícolamente aceptable.

Por ejemplo, la actividad antifúngica del compuesto sintetizado se determina usando el siguiente protocolo, que comprende *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida albicans*-ATCC 36082 y *Cryptococcus neoformans*. Los microorganismos de prueba se mantienen en agar inclinado Sabourahd Dextrose Agar a 4°C. La suspensión singlete de cada microorganismo se prepara cultivando la levadura durante la noche a 27°C en un tambor giratorio en caldo de levadura-nitrógeno base (YNB) con aminoácidos (Difco, Detroit, Michigan), (pH 7.0) y ácido morfolinpropanosulfónico 0.05 (MOPS). Después, la suspensión se centrifuga y se lava dos veces con NaCl al 0.85% antes de someter a sonicación la suspensión de células lavadas durante 4 segundos (Branson Sonifier, modelo 350, Danbury, Conn.). La blastospora singlete se cuenta en un hemocitómetro y se ajusta a la concentración deseada en NaCl al 0.85%. La actividad del compuesto de prueba se determina usando una técnica de microdilución en caldo modificado. El compuesto de prueba se diluye en DMSO a una proporción de 1.0 mg/ml y luego se diluye a 64 µg/ml en caldo YNB (pH 7.0) con MOPS (se usa fluconazol como control) para proporcionar una solución de trabajo de cada compuesto. Utilizando una placa de 96 pozos, se preparan los pozos 1 y 3-12 con caldo YNB, se preparan diluciones diez veces mayores de la solución del compuesto en los pozos 2-11 (los intervalos de concentración son 64-0.125 µg/ml). El pozo 1431 sirve como control de esterilidad y blanco para el ensayo espectrofotométrico. El pozo 12 sirve como control de crecimiento. La placa de microtitulación se inocula con 10 µl en cada uno de los pozos 2-11 (el inóculo final es de 104 organismos/ml). La placa inoculada se incuba durante 48 horas a 35°C. Los valores de MIC se determinan espectrofotométricamente midiendo la absorbancia a 420 nm (Automatic Microplate Reader, DuPont Instruments, Wilmington, Delaware) después de agitar las placas durante 2 minutos con un mezclador vórtex (Vorte-Genie 2 Mixer, Scientific Industries, Inc., Bolemia, New York). El criterio de valoración de la CIM se define como la concentración de fármaco más baja que muestra una reducción del crecimiento de aproximadamente el 50% (o más) en comparación con el pozo de control. Con respecto al ensayo de turbidez, éste se define como la concentración de fármaco más baja a la que la turbidez en el pozo es <50% del control (IC₅₀). La concentración citolítica mínima (MCC) se determina subcultivando todos los pozos de la placa de

96 pozos en una placa Sabourahd Dextrose Agar (SDA), incubando durante 1-2 días a 35°C y luego comprobando la viabilidad.

Se exponen algunos resultados como sigue.

Compuesto	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida albicans</i> - ATCC 36082	<i>Cryptococcus neoformans</i>
	MIC (µg/ML)			
I-1	2.08	2.30	2.90	3.64
I-3	2.11	1.88	5.08	4.89
I-5	1.12	5.14	11.06	7.28
I-7	9.81	10.29	14.71	17.75
I-9	8.70	10.70	12.74	15.57
I-11	11.20	7.72	7.45	15.03
I-13	0.98	3.24	5.85	4.23
I-15	5.78	5.00	6.77	9.40
I-17	2.76	4.70	9.49	7.99
I-19	6.45	8.58	11.80	12.86
I-21	9.76	8.29	7.82	13.84
I-23	4.32	3.24	2.92	5.82
I-25	0.96	1.08	3.38	2.83
I-27	1.02	3.57	5.48	4.06
I-29	6.47	4.21	2.73	7.81

- 5 La invención también proporciona un método para tratar una infección fúngica en una planta o semilla que comprende tratar la planta o semilla con una cantidad eficaz antifúngica de una composición fungicida como se define anteriormente.

El compuesto se disuelve en acetona, con diluciones en serie posteriores en acetona para obtener un intervalo de concentraciones deseadas. El volumen de tratamiento final se obtiene añadiendo 9 volúmenes de solución acuosa de Tween-20™ al 0.05% o TritonX-100™ al 0.01%, de acuerdo con el patógeno. Luego, la composición se usa para probar la actividad del compuesto de la invención contra el tizón de la hoja del tomate (*Phytophthora infestans*) usando el siguiente protocolo. Se permite que las semillas de tomate (variedad Rutgers) crezcan en una mezcla para macetas a base de turba sin tierra hasta que las plántulas tengan entre 10 y 20 cm de altura. A continuación, las plantas se pulverizan hasta que se escurran con el compuesto de ensayo a una velocidad de 100 ppm. Después de 24 horas, las plantas de ensayo se inoculan mediante pulverización con una suspensión acuosa de esporangios de *Phytophthora infestans* y se mantienen en una cámara de rocío durante la noche. A continuación, las plantas se transfieren al invernadero hasta que se desarrolla la enfermedad en las plantas de control no tratadas.

Algunos resultados de los compuestos de prueba se exponen como sigue.

Compuesto	Severidad del tizón de la hoja del tomate ^a			
	0.0001	0.001	0.01	0.1
I-1	+++	++	+	-
I-3	++	++	-	-
I-5	+++	++	+	-
I-7	++	++	-	-

Compuesto	Severidad del tizón de la hoja del tomate ^a			
	0.0001	0.001	0.01	0.1
I-9	++	++	-	-
I-11	+++	++	+	-
I-13	++	++	+	-
I-15	++	++	+	-
I-17	+++	++	+	-
I-19	++++	++	+	-
I-21	++++	++	+	-
I-23	+++	++	-	-
I-25	++	++	+	-
I-27	++++	++	+	-
I-29	+++	++	+	-
Control	++++	++++	++++	+++
^a ++++:> 60% tizón, +++: 40-60% tizón, ++: 15-40% tizón, +: 0-15% tizón, -: sin tizón				

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra las tasas de inhibición de algunos compuestos contra 342 quinasas, en donde las quinasas se muestran en número de serie (ver lo anterior).

5 Descripción detallada de la invención

El punto de fusión se determina con un tubo para punto de fusión tipo b, en donde el medio es aceite de metilsilicona y el termómetro no está corregido. El espectro de IR se determina con el espectrómetro de infrarrojos Nicolet Impact 410, en donde la compresión se realiza con KBr. ¹HRMN se realiza con el espectrómetro de RMN con transformadas de Fourier JEOL FX90Q, el espectrómetro de RMN BRUKER ACF-300 y el espectrómetro de RMN BRUKER AM-500 (estándar interno TMS). La MS se determina con el espectrómetro de masas Nicolet 2000 con transformadas de Fourier y el espectrómetro de masas MAT-212. La reacción de microondas se realiza con el microondas de modo único CEM Discover.

Ejemplo 1 (intermedio)

4-metil-1-(4-nitrobencil)piperazina (I-a)

Se añadieron bromuro de p-nitrobencilo (10 g, 46.3 mmol) y diclorometano (100 ml) a un matraz de una boca de 500 ml, al que se añadió lentamente y gota a gota una mezcla de N-metilpiperazina (4.7 g, 47.0 mmol) y trietilamina (7.1 g, 70.3 mmol) en diclorometano (20 ml) en un baño de hielo. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1 h. El agotamiento de los materiales de partida se confirmó mediante TLC (acetato de etilo:éter de petróleo = 1:2). Se añadieron 150 ml de cloroformo y 100 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio a la mezcla de reacción, que se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se extrajo con cloroformo (100 ml x 3). Las capas orgánicas se combinaron y lavaron con agua y cloruro de sodio saturado una vez, respectivamente (100 ml x 1). El secado se realizó con sulfato de magnesio seco seguido de filtración. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvieron 8.5 g de un sólido amarillento; Rendimiento: 78.1%. El producto se utiliza para la reacción posterior sin más purificación. ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.15 (3H, s, -CH₃), 2.3-2.5 (8H, m, -CH₂-x4), 3.5 (2H, s, -CH₂-), 7.5 (2H, d, J = 8.7 Hz, ArH), 8.1 (2H, d, J = 8.7 Hz, ArH).

Ejemplo 2 (intermedio)

4-(4-nitrobencil)morfolina (I-b)

Se añadieron bromuro de p-nitrobencilo (10 g, 46.5 mmol) y diclorometano (100 ml) en un matraz de una sola boca de 500 ml, al que se añadió lentamente y gota a gota una mezcla de morfolina 4.1 g (47.1 mmol) y trietilamina (7.1 g, 70.3 mmol) en diclorometano (20 ml) en un baño de hielo. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1 h. El agotamiento de los materiales de partida se confirmó mediante TLC (acetato de etilo:éter de petróleo = 1:2). Se añadieron 150 ml de cloroformo y 100 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio a la mezcla de reacción, que se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se extrajo con cloroformo (100 ml x 3). Las capas orgánicas se combinaron y lavaron con agua y cloruro de sodio saturado una vez, respectivamente (100 ml x 1). El secado se realizó con sulfato de magnesio seco seguido de filtración. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvieron 8.7 g de un sólido amarillento (I-b); Rendimiento: 84.5%. El producto se utilizó para la reacción posterior sin purificación adicional.

$^1\text{H-RMN}$ [300MHz, DMSO- d_6]: δ 2.3 (4H, m, -NCH $_2$ -x2), 3.3-3.5 (6H, m, -OCH $_2$ -x2, -CH $_2$ -), 6.9 (2H, d, J = 8.7 Hz, ArH), 7.6 (2H, d, J = 8.7 Hz, ArH).

Ejemplo 3 (intermedio)

4-((4-metil-1-piperazinil)metil)anilina (I-c)

Se añadieron I-a crudo (8.5 g, 36.2 mmol), FeO(OH)/C, 2.0 g como catalizador y etanol al 95% (100 ml) a un matraz de una boca de 500 ml, que se sometió a reflujo. Al sistema de reacción se añadió lentamente y gota a gota una mezcla de 25 ml de hidrato de hidrazina y 20 ml de etanol al 95%. El agotamiento de los materiales de partida se confirmó mediante TLC (metanol:cloroformo = 1:15). La filtración por succión se realizó mientras la mezcla de reacción estaba caliente. La torta de filtrado se lavó dos veces con etanol caliente (30 ml x 2). Después de eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvo un sólido blanco, que se secó al vacío para dar 6.7 g (I-c); Rendimiento: 90.3%. El producto se utilizó para la reacción posterior sin purificación adicional.

$^1\text{H-RMN}$ [300MHz, DMSO- d_6]: δ 2.1 (3H, s, -CH $_3$), 2.3-2.5 (8H, m, -CH $_2$ -x4), 3.5 (2H, s, -CH $_2$ -), 4.0 (2H, s, -NH $_2$), 7.5 (2H, d, J = 8.7 Hz, ArH), 8.1 (2H, d, J = 8.7 Hz, ArH).

Ejemplo 4 (intermedio)

4-((4-morfolino)metil)anilina (I-d)

Se añadieron I-b crudo (8.5 g, 38.3 mmol), FeO(OH)/C, 2.0 g como catalizador y etanol al 95% (100 ml) en un matraz de una boca de 500 ml, que se sometió a reflujo. Al sistema de reacción se añadió lentamente y gota a gota una mezcla de 25 ml de hidrato de hidrazina y 20 ml de etanol al 95%. El agotamiento de los materiales de partida se confirmó mediante TLC (metanol:cloroformo = 1:20). La filtración por succión se realizó mientras la mezcla de reacción estaba caliente. La torta de filtrado se lavó dos veces con etanol caliente (30 ml x 2). Después de eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvo un sólido blanco, que se secó al vacío para dar 6.6 g (I-d); Rendimiento: 89.7%. El producto se utilizó para la reacción posterior sin purificación adicional.

$^1\text{H-RMN}$ [300MHz, DMSO- d_6]: δ 2.3 (4H, m, -NCH $_2$ -x2), 3.2 (4H, m, -OCH $_2$ -x2), 3.5 (2H, s, -CH $_2$ -), 4.9 (2H, s, -NH $_2$), 6.5 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 6.9 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH).

Ejemplo 5 (intermedio)

N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-nitro-1H-3-pirazolcarboxamida (I-e)

Ic crudo (7.5 g 36.6 mmol), ácido 4-nitro-1H-pirazol-3-carboxílico (6.3 g, 40.1 mmol), EDC·HCl (8.4 g, 44.0 mmol), HOBT (6.0 g, 44.4 mmol) y DMF anhidro (100 ml) se añadieron a un matraz de fondo redondo de 250 ml, que se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. El agotamiento de los materiales de partida se confirmó mediante TLC (metanol:cloroformo = 1:10). La mezcla de reacción se vertió en 200 ml de agua helada y se obtuvo una gran cantidad de precipitación sólida amarillenta, que se dejó reposar y se filtró con succión para dar un sólido amarillo. El crudo se recrystalizó en la mezcla de disolventes de acetato de etilo y metanol para dar 11.1 g (I-e); Rendimiento: 88.2%; pf: 194-196°C; MS [M+H] $^+$ 345.3.

$^1\text{H-RMN}$ [300MHz, DMSO- d_6]: δ 2.2 (3H, s, -CH $_3$), 2.3-2.4 (8H, m, -CH $_2$ -x4), 3.4 (2H, s, -CH $_2$ -), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.6 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.8 (1H, s, ArH), 10.6 (1H, s, -NHCO-), 14.2 (1H, s, -NH-, Pirazol).

Ejemplo 6 (intermedio)

N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-nitro-1H-3-pirazolcarboxamida (I-f)

Id crudo (7.5 g, 39.0 mmol), ácido 4-nitro-1H-pirazol-3-carboxílico (6.3 g, 40.1 mmol), EDC·HCl (8.4 g, 44.0 mmol), HOBT (6.0 g, 44.4 mmol) y DMF anhidra (100 ml) se añadieron a un matraz de fondo redondo de 250 ml, que se

agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. El agotamiento de los materiales de partida se confirmó mediante TLC (metanol:cloroformo = 1:20). La mezcla de reacción se vertió en 200 ml de agua helada y se adquirió una gran cantidad de precipitación sólida amarillenta, que se dejó reposar y se filtró con succión para dar un sólido amarillo. El crudo se recrystalizó en la mezcla de disolventes de acetato de etilo y metanol para dar 11.6 g (I-f); Rendimiento: 89.7%; pf: 208-210°C; MS [M+H]⁺ 332.4.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.4 (4H, t, J = 4.1 Hz, -NCH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J = 4.1 Hz, -OCH₂-x2), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.6 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.9 (1H, s, ArH), 10.7 (1H, s, -NHCO-), 14.2 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 7 (intermedio)

N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida (I-g)

Se añadieron I-e crudo (6.0 g, 17.4 mmol), FeO(OH)/C, 2 g como catalizador y etanol al 95% (100 ml) a un matraz de una boca de 250 ml, que se calentó a reflujo. Al sistema de reacción se añadió lentamente y gota a gota una mezcla de 25 ml de hidrato de hidrazina y 20 ml de etanol al 95%. El agotamiento de los materiales de partida se confirmó mediante TLC (metanol:cloroformo = 1:10). La filtración por succión se realizó mientras la mezcla de reacción estaba caliente. La torta de filtrado se lavó dos veces con etanol caliente (30 ml x 2). Después de eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvo un sólido blanquecino. El crudo se recrystalizó en la mezcla de disolventes de acetato de etilo y metanol para dar 3.5 g (I-g); Rendimiento: 63.9%. pf: 199-201°C, MS [M+H]⁺ 315.8.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.3-2.5 (8H, m, -CH₂-x4), 3.3 (2H, s, -CH₂-), 4.7 (2H, s, -NH₂), 7.1-7.2 (3H, m, ArH), 7.7 (2H, d, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 12.7 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 8 (intermedio)

N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida (I-h)

Se añadieron I-f crudo (6.0 g, 18.1 mmol), FeO(OH)/C, 2 g como catalizador y etanol al 95% (100 ml) a un matraz de una boca de 250 ml, que se calentó a reflujo. Al sistema de reacción se añadió lentamente y gota a gota una mezcla de 25 ml de hidrato de hidrazina y 20 ml de etanol al 95%. El agotamiento de los materiales de partida se confirmó mediante TLC (metanol:cloroformo = 1:10). La filtración por succión se realizó mientras la mezcla de reacción estaba caliente. La torta de filtrado se lavó dos veces con etanol caliente (30 ml x 2). Después de eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvo un sólido blanquecino. El crudo se recrystalizó en la mezcla de disolventes de acetato de etilo y metanol para dar 3.2 g (I-h); Rendimiento: 58.6%. P: 216-218°C, MS [M+H]⁺ 302.0.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.5 (4H, m, -NCH₂-x2), 3.3 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, m, -OCH₂-x2), 4.7 (2H, s, -NH₂), 7.2 (3H, m, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 12.7 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 9

4-(4-tieno[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-1)

129 mg (0.41 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida, 70 mg (0.41 mmol) de 4-clorotieno [2,3-d]pirimidina y 25 ml de ácido acético acuoso al 50% se añadieron a un matraz de una sola boca de 50 ml, que se calentó a reflujo. El agotamiento de los materiales de partida se confirmó mediante TLC (metanol:cloroformo = 1:10). La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se ajustó con solución acuosa saturada de NaOH a pH 8-9, y se extrajo con acetato de etilo tres veces (50 ml x 3). Los extractos se combinaron, se secaron con sulfato de magnesio seco. Después de la filtración por succión y eliminación del disolvente a presión reducida, se obtuvo un sólido amarillento. El crudo se sometió a cromatografía en columna (fase móvil: metanol:cloroformo = 1:15) para dar 70 mg (I-1). Rendimiento: 37.8%; pf: 285-287°C, [M+H]⁺ 449.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.5 (1H, d, J=5.4 Hz, ArH), 7.7-7.8 (3H, m, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 10.0 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 10

4-(4-tieno[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-2)

El compuesto I-2 (78 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 124 mg (0.41 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.41 mmol) de 4-clorotieno[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 43.6%; pf: 262-265°C; MS [M+H]⁺ 436.2.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.5 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J=8.4, ArH), 7.5 (1H, d, J=6.0Hz, ArH), 7.7-7.8 (3H, m, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.9 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 11

- 5 4-(4-(6-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-3)

El compuesto I-3 (75 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 120 mg (0.38 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 120 mg (0.38 mmol) de 4-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 42.9%; pf: 235-238°C, MS [M+H]⁺463.3.

- 10 ¹H-RMN [300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1(3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.2 (1H, s, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.5 (2H, s, ArH), 9.8 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 12

4-(4-(6-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-4)

- 15 El compuesto I-4 (80 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 118 mg (0.38 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.38 mmol) de 4-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 47.0%, pf: > 280°C, MS [M+H]⁺450.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.4 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 7.2 (1H, s, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J=8.4Hz, ArH), 8.5 (2H, s, ArH), 9.8 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

- 20 **Ejemplo 13**

4-(4-(5-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-5)

El compuesto I-5 (72 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 120 mg (0.38 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.38 mmol) de 4-cloro-5-metiltieno[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 41.1%; pf: 245-247°C, MS [M+H]⁺463.3.

- 25 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4(8H, m, -CH₂-x4), 2.8 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.4 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 8.7 (1H, s, ArH), 10.2 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 14

4-(4-(5-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-6)

- 30 El compuesto I-6 (64 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 118 mg (0.38 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.38 mmol) de 4-cloro-5-metiltieno[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 37.6%; pf: > 280°C, MS [M+H]⁺450.3.

- 35 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.4(4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 2.8 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.4 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 8.7 (1H, s, ArH), 10.2 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 15

4-(4-(5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-(4-metil-1-piperazinil)metil) fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-7)

- 40 El compuesto I-7 (66 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 111 mg (0.35 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.35 mmol) de 4-cloro-5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 39.3%, pf: 264-267°C; MS [M+H]⁺477.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 2.6 (3H, s, -CH₃), 2.8 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 8.7 (1H, s, ArH), 10.2 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol)

Ejemplo 16

4-(4-(5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-8)

El compuesto I-8 (73 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 110 mg (0.35 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.35 mmol) de 4-cloro-5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 44.5%; pf: 254-256°C, MS [M+H]⁺464.3.

- 5 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.4 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 2.6 (3H, s, -CH₃), 2.8 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 8.7 (1H, s, ArH), 10.2 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 17

4-(4-tieno[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-9)

- 10 El compuesto I-9 (88 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 129 mg (0.41 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.41 mmol) de 4-clorotieno[3,2-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 47.8%; pf: > 280°C, MS [M+H]⁺ 449.3.

- 15 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.2 (3H, s, -CH₃), δ2.3-2.5 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.3 (2H, d, J=8.4 Hz, ArH), 7.5 (1H, d, J = 5.3 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.2 (1H, d, J=5.3 Hz, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 8.7 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 18

4-(4-tieno[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-10)

- 20 El compuesto I-10 (93 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 128 mg (0.41 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.41 mmol) de 4-clorotieno[3,2-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 52.0%; pf: 275-277°C; MS [M+H]⁺436.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.4 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J=8.4 Hz, ArH), 7.5 (1H, d, J = 5.2 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.3 (1H, d, J=5.2 Hz, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 8.7 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 19

- 25 4-(4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-11)

El compuesto I-11 (63 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 144 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 4-cloro-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 32.0%; pf: 229-230°C, MS [M+H]⁺432.3.

- 30 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.5 (1H, s, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pyrrole), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 20

4-(4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-12)

- 35 El compuesto I-12 (70 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 142 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 4-cloro-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 36.6%, pf: 213-214°C, MS [M+H]⁺ 419.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.4 Hz, -CH₂-x2), 2.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.4 Hz, -CH₂-x2), 6.5 (1H, s, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

- 40 **Ejemplo 21**

4-(4-(6-metil-7H-pirrol[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-13)

El compuesto I-13 (56 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 132 mg (0.42 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.42 mmol) de 4-cloro-6-metil-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 23.0%; pf: 268-270°C, MS [M+H]⁺ 446.3.

¹H-NMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (11H, m, -CH₂-x4, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.5 (1H, s, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 22

- 5 4-(4-(6-metil-7H-pirrol[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-14)

El compuesto I-14 (61 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 130 mg (0.42 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.42 mmol) de 4-cloro-6-metil-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 33.7%, pf: 271-273°C, MS [M+H]⁺ 433.3.

- 10 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (7H, m, -CH₂-x2, -CH₃), 2.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.4 Hz, -CH₂-x2), 6.5 (1H, s, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 23

4-(4-(5-metil-7H-pirrol[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-15)

- 15 El compuesto I-15 (53 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 132 mg (0.45 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.45 mmol) de 4-cloro-5-metil-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 28.3%; pf: 258-261°C, MS [M+H]⁺ 446.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

- 20 **Ejemplo 24**

4-(4-(5-metil-7H-pirrol[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-16)

El compuesto I-16 (62 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 130 mg (0.45 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.45 mmol) de 4-cloro-5-metil-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 34.3%, pf: 267-269°C, MS [M+H]⁺ 433.3.

- 25 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.4 Hz, -CH₂-x2), 2.4 (2H, s, -CH₂-), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.6 (4H, t, J=4.4 Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 25

4-(4-(5H-pirrol[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-17)

- 30 El compuesto I-17 (50 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 144 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 4-cloro-5H-pirrol[3,2-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 25.4%; pf: 261-263°C, MS [M+H]⁺ 432.3.

- 35 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.2 (1H, s, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 26

4-(4-(5H-pirrol[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-18)

- 40 El compuesto I-18 (67 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 142 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 4-cloro-5H-pirrol[3,2-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 35.1%, pf: 258-260°C, MS [M+H]⁺ 419.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.4 Hz, -CH₂-x2), 2.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.4 Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.2 (1H, s, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 27

4-(4-(6-metil-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-19)

El compuesto I-19 (55 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 132 mg (0.42 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.42 mmol) de 4-cloro-6-metil-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 29.4%; pf: 265-267°C, MS [M+H]⁺ 446.3.

- 5 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 28

4-(4-(6-metil-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-20)

- 10 El compuesto I-20 (69 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 130 mg (0.42 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.42 mmol) de 4-cloro-6-metil-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 38.1%, pf: 268-270°C, MS [M+H]⁺ 433.3.

- 15 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.4 Hz, -CH₂-x2), 2.4 (2H, s, -CH₂-), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.6 (4H, t, J=4.4 Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 29

4-(4-furo[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-21)

- 20 El compuesto I-21 (45 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 143 mg (0.45 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.45 mmol) de 4-clorofuro[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 23.0%; pf: 255-257°C, MS [M+H]⁺ 433.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.1 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 7.2 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.0 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 30

- 25 4-(4-furo[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-22)

El compuesto I-22 (53 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 141 mg (0.45 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.45 mmol) de 4-clorofuro[2,3-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 27.9%, pf: > 280°C, MS [M+H]⁺ 420.3.

- 30 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 7.1 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 8.0 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 31

4-(4-furo[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-23)

- 35 El compuesto I-23 (71 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 143 mg (0.45 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.45 mmol) de 4-clorofuro[3,2-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 36.2%; pf: 277-279°C, MS [M+H]⁺ 433.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.2 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.8 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.2 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

- 40 **Ejemplo 32**

4-(4-furo[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-24)

El compuesto I-24 (80 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 141 mg (0.45 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.45 mmol) de 4-clorofuro[3,2-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 42.1%, pf: 271-273°C, MS [M+H]⁺ 420.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.8 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.2(1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 33

5 4-(4-tieno[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-25)

Se disolvieron 129 mg (0.41 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil) metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida, 70 mg (0.41 mmol) de 4-clorotieno[3,2-c]piridina y 1 ml de ácido acético glacial en isopropanol (8 ml). La mezcla de reacción se calentó en el microondas (300 W) a 190°C durante 30 min. Se destiló el isopropanol a presión reducida y el resultante sólido se disolvió con agua destilada. Se utilizó una solución acuosa saturada de hidróxido de sodio para ajustar el pH a 8-9 y la mezcla se extrajo con acetato de etilo tres veces (50 ml x 3). Los extractos se combinaron y se secaron con sulfato de magnesio seco. Después de la filtración con succión, el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para dar un sólido amarillento. El crudo se sometió a cromatografía en columna (fase móvil: metanol:cloroformo = 1:15) para dar I-25 (67 mg). Rendimiento: 36.4%, pf: 268-270°C, MS [M+H]⁺448.3.

15 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.5 (1H, d, J=5.4 Hz, ArH), 7.7-7.8 (3H, m, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 10.0 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 34

4-(4-tieno[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-26)

20 El compuesto I-26 (71 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 128 mg (0.41 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.41 mmol) de 4-clorotieno[3,2-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 39.7%, pf: 269-271°C, MS [M+H]⁺435.3.

25 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2Hz, -CH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.5 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J=8.4 Hz, ArH), 7.5 (1H, d, J=5.4 Hz, ArH), 7.7-7.8 (3H, m, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.9 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 35

4-(4-(2-metiltieno[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-27)

30 El compuesto I-27 (68 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 121 mg (0.38 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.38 mmol) de 4-cloro-2-metiltieno[3,2-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 38.6%; pf: 267-269°C, MS [M+H]⁺462.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.6 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.2 (1H, s, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J=8.4 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 10.0 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 36

35 4-(4-(2-metiltieno[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-28)

El compuesto I-28 (59 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 119 mg (0.38 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.38 mmol) de 4-cloro-2-metiltieno[3,2-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 34.5%, pf: 265-267°C, MS [M+H]⁺449.3.

40 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2Hz, -CH₂-x2), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.5 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.2 (1H, s, ArH), 7.3 (2H, d, J=8.4 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J=8.4 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.9 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 37

4-(7-tieno[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-29)

45 El compuesto I-29 (59 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 129 mg (0.41 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.41 mmol) de 7-clorotieno[2,3-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 30.4%; pf: 274-276°C, MS [M+H]⁺ 448.3.n

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.2 (3H, s, -CH₃), δ2.3-2.5 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J=8.4 Hz, ArH), 7.5 (1H, d, J = 5.3 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.2 (1H, d, J=5.3 Hz, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 38

5 4-(7-tieno[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-30)

El compuesto I-30 (81 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 128 mg (0.41 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.41 mmol) de 7-clorotieno[2,3-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 45.3%, pf: 271-273°C, MS [M+H]⁺435.3.

10 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.4 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J=8.4 Hz, ArH), 7.5 (1H, d, J = 5.2 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.3 (1H, d, J=5.2 Hz, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 39

4-(7-(3-metiltieno[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-31).

15 El compuesto I-31 (71 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 121 mg (0.38 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.38 mmol) de 7-cloro-3-metiltieno[2,3-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 40.3%; pf: 258-260°C, MS [M+H]⁺462.3.

20 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.2 (3H, s, -CH₃), δ2.3-2.5 (8H, m, -CH₂-x4), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J=8.4 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.2 (1H, s, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 40

4-(7-(3-metiltieno[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-32).

25 El compuesto I-32 (71 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 119 mg (0.38 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.38 mmol) de 7-cloro-3-metiltieno[2,3-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 42.7%, pf: 275-277°C, MS [M+H]⁺449.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.4 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J=8.4 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.3 (1H, s, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 41

30 4-(4-furo[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-33)

El compuesto I-33 (75 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 120 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 4-clorofuro[3,2-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 38.1%; pf: 268-270°C, MS [M+H]⁺432.3.

35 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.1 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 7.2 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.0 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 42

4-(4-furo[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-34).

40 El compuesto I-34 (68 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 119 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 4-clorofuro[3,2-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 35.6%, pf: 268-271°C, MS [M+H]⁺419.3.

45 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.1 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.0 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 43

4-(4-(2-metilfuro[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-35)

El compuesto I-35 (47 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 144 mg (0.42 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.42 mmol) de 4-cloro-2-metilfuro[3,2-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 25.1%; pf: 274-276°C, MS [M+H]⁺446.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.1 (1H, s, ArH), 7.2 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 44

10 4-(4-(2-metilfuro[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-36)

El compuesto I-36 (63 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 142 mg (0.42 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.42 mmol) de 4-cloro-2-metilfuro[3,2-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 34.8%, pf: 275-277°C, MS [M+H]⁺433.3.

15 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.1 (1H, s, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 45

4-(7-furo[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-37)

20 El compuesto I-37 (45 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 132 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 7-clorofuro[2,3-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 22.8%; pf: 258-261°C, MS [M+H]⁺432.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.2 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.8 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.3 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 46

4-(7-furo[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-38)

El compuesto I-38 (47 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 130 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 7-clorofuro[2,3-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 24.6%, pf: 268-272°C, MS [M+H]⁺419.3.

30 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.8 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 7.9 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.3 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 47

35 4-(7-furo[3,2-b]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-39)

El compuesto I-39 (48 mg) se preparó de manera similar a I-25, usando 144 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 7-clorofuro[3,2-b]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 24.4%; pf: 268-270°C, MS [M+H]⁺432.3.

40 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.2 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.4 (1H, s, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.8 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.2 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.3 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 48

4-(7-furo[3,2-b]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-40)

El compuesto I-40 (53 mg) se preparó de manera similar a 1-25, usando 142 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 7-clorofuro[3,2-b]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 27.7%, pf: 275-278°C, MS [M+H]⁺419.3.

- 5 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 6.7 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.8 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.2 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.3 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 49

4-(4-furo[2,3-b]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-41)

- 10 El compuesto I-41 (64 mg) se preparó de manera similar a 1-25, usando 144 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 4-clorofuro[2,3-b]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 32.5%; pf: 273-276°C, MS [M+H]⁺432.3.

- 15 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 6.7 (1H, d, J=8.0Hz, ArH), 7.1 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 7.2 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.7 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.0 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.2 (1H, d, J=8.0Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 50

4-(4-furo[2,3-b]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-42)

- 20 El compuesto I-42 (56 mg) se preparó de manera similar a 1-25, usando 142 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 4-clorofuro[2,3-b]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 29.3%, pf: 269-271°C, MS [M+H]⁺419.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2Hz, -CH₂-x2), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2Hz, -CH₂-x2), 6.7 (1H, d, J=8.0Hz, ArH), 7.1 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 7.3 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.2 Hz, ArH), 8.0 (1H, d, J = 2.5 Hz, ArH), 8.2 (1H, d, J=8.0Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 51

4-(7-(1H-pirrolo[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (1-43)

El compuesto 1-43 (64 mg) se preparó de manera similar a 1-25, usando 145 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 7-cloro-1H-pirrolo[2,3-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 32.3%; pf: 279-282°C, MS [M+H]⁺431.3.

- 30 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.4 (1H, d, J = 8.0 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.0 (1H, d, J=8.0Hz, ArH), 8.2 (1H, s, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 52

4-(7-(1H-pirrolo[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (1-44)

- 35 El compuesto 1-44 (52 mg) se preparó de manera similar a 1-25, usando 143 mg (0.46 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.46 mmol) de 7-cloro-1H-pirrolo[2,3-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 27.1%, pf: 265-267°C, MS [M+H]⁺420.3.

- 40 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.4Hz, -CH₂-x2), 2.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.4Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.4 (1H, d, J = 8.0 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.0 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.2 (1H, s, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 53

4-(7-(2-metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-45)

- 45 El compuesto I-45 (49 mg) se preparó de manera similar a 1-25, usando 132 mg (0.42 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.42 mmol) de 7-cloro-2-metil-1H-pirrolo[2,3-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 26.2%; pf: 276-278°C, MS [M+H]⁺ 445.3.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.4 (8H, m, -CH₂-x4), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.4 (1H, d, J = 8.0 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.0 (1H, d, J=8.0Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 54

- 5 4-(7-(2-metil-1H-pirrol[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-46)

El compuesto I-46 (73 mg) se preparó de manera similar a 1-25, usando 131 mg (0.42 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.42 mmol) de 7-cloro-2-metil-1H-pirrol[2,3-c]piridina como materiales de partida. Rendimiento: 40.1%, pf: 254-258°C, MS [M+H]⁺432.3.

- 10 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.4Hz, -CH₂-x2), 2.4 (2H, s, -CH₂-), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.6 (4H, t, J=4.4Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.4 (1H, d, J = 8.0 Hz, ArH), 7.6 (1H, s, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.0 (1H, d, J=8.0 Hz, ArH), 8.4 (1H, s, ArH), 9.2 (1H, s, -NHCO-), 10.2 (1H, s, -NH-), 12.0 (1H, s, Pirrol), 13.4 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 55

4-(4-(2-metiltieno[3,2-d]pirimidin)ilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-47)

- 15 El compuesto I-47 (85 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 120 mg (0.38 mmol) de N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.38 mmol) de 4-cloro-2-metiltieno[3,2-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 49.7%; pf: > 280°C, MS [M+H]⁺463.3.

- 20 ¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.1 (3H, s, -CH₃), 2.2-2.5 (8H, m, -CH₂-x4), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.4 (1H, d, J=4.1Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.2 (1H, d, J=4.1Hz, ArH), 8.6 (1H, s, ArH), 9.6 (1H, s, -NHCO-), 10.3 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 56

4-(4-(2-metiltieno[3,2-d]pirimidin)ilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-48)

- 25 El compuesto 1-48 (93 mg) se preparó de manera similar a I-1, usando 119 mg (0.38 mmol) de N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-4-amino-1H-3-pirazolcarboxamida y 70 mg (0.38 mmol) de 4-cloro-2-metiltieno[3,2-d]pirimidina como materiales de partida. Rendimiento: 54.4%, pf: 259-262°C, MS [M+H]⁺450.2.

¹H-RMN[300MHz, DMSO-d₆]: δ2.3 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 2.6 (3H, s, -CH₃), 3.4 (2H, s, -CH₂-), 3.6 (4H, t, J=4.2 Hz, -CH₂-x2), 7.3 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 7.4 (1H, d, J=4.1Hz, ArH), 7.8 (2H, d, J = 8.4 Hz, ArH), 8.2 (1H, d, J=4.1Hz, ArH), 8.5 (1H, s, ArH), 9.7 (1H, s, -NHCO-), 10.4 (1H, s, -NH-), 13.5 (1H, s, Pirazol).

Ejemplo 57

- 30 1. Materiales experimentales

Reactivos y materiales: compuesto 1, mesilato del compuesto 1 (1S), compuesto 2, mesilato del compuesto 2 (2S), acetonitrilo, acetato de etilo, metanol, columna cromatográfica Hypersil ODS (4.6 mm × 200 mm, 5 mm), tubo de centrifuga, tubo EP, punta de pipeta, guante de goma, jeringa (1 ml), etc.

2. Instrumentos

- 35 Agilent 1200 HPLC (Agilent Technologies Co., Ltd., Estados Unidos), Vibrador de temperatura constante para baño de agua modelo SHZ-88 (Jintan Instrument Co., Ltd., China), limpiador ultrasónico modelo KQ3200DB (Kunshan Ultrasonic Instrument Co., Ltd., China), Fotómetro de espectrometría ultravioleta modelo UV-2102PCS (Shanghai Longnike Instrument Co., Ltd., China), Centrífuga de mesa modelo TGL-16 (Shanghai Anting Science Instrument Co., Ltd., China), Modelo XW-80A Mezcladores Vórtex (Shanghai Jinke, China), Balanza electrónica Mettler Toledo
- 40 modelo PL203 (Suiza).

Animales: ratas Wistar macho (con peso de 200±20 g) (China Pharmaceutical University, China).

3. Medición de la solubilidad en agua

- 45 Se añadió una cantidad en exceso de muestra a un matraz triangular de 50 ml, al que se añadieron 10 ml de agua destilada, y luego se hizo vibrar el matraz en un vibrador de temperatura constante a 25°C durante 72 h. La solución se centrifugó a 10000 r/min durante 15 min y luego el sobrenadante se filtró con una membrana de microfiltración

0.22 μM para eliminar el fármaco no disuelto. Se dosificaron 2 ml de filtrado con metanol a 10 ml. El contenido de fármaco se determinó con una inyección de muestra de 20 μL . Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3 Medición de la solubilidad en agua

Fármaco	Compuesto (1-1)	Compuesto (I-1-S)	Compuesto (I-2)	Compuesto (I-2-S)
Solubilidad ng/ml	< 100	645	< 80	576

- 5 Los resultados de la Tabla 3 muestran que las solubilidades en agua de los compuestos I-1 y I-2 aumentan cuando forman mesilatos (I-1-S) y (I-2-S).

4. Medición del coeficiente de partición lípido-agua (LogP)

- 10 Se dejó que n-octanol y agua destilada se saturaran entre sí durante 24 h. Se pesó con precisión una cantidad de la muestra en un matraz aforado de 50 ml y se dosificó con n-octanol saturado con agua (la muestra se disolvió completamente). Se colocó una solución de 10 ml de la muestra en n-octanol en un matraz triangular de 50 ml, al que se añadieron 10 ml de agua destilada saturada con n-octanol. La mezcla se equilibró (125 rpm, 72 h) a 25°C con un vibrador de temperatura constante. El coeficiente de partición lípido-agua se calculó mediante las concentraciones del fármaco en la solución madre de n-octanol antes del experimento y en la capa de n-octanol después del experimento. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

- 15 Tabla 4 Coeficiente de partición lípido-agua (LogP)

Fármaco	Compuesto (I-1)	Compuesto (I-1-S)	Compuesto (I-2)	Compuesto (I-2-S)
LogP	1.27	1.28	1.28	1.29

Los resultados de la tabla 4 muestran que los coeficientes de partición lípido-agua (LogP) de los compuestos I-1 e I-2 no tienen diferencias significativas en comparación con los mesilatos (I-1-S) y (I-2-S).

3. Análisis de estabilidad

- 20 3.1 Tratamiento de muestras de plasma

- Se mezclaron 300 μL de sangre recolectada de rata con 30 μL de metanol y 2 ml de acetato de etilo. Las muestras se agitaron con vórtex durante 3 min y se centrifugaron a 4000 rpm durante 15 min. El sobrenadante se introdujo en otro tubo de centrifuga. La capa inferior se extrajo repetidamente y luego los sobrenadantes se combinaron y se secaron con gas nitrógeno. Después de la redisolución con 150 μL de metanol, se filtraron con una membrana de 0.22 μm y luego se sometieron a análisis con un volumen de inyección de 20 μL .

3.2 Estabilidad en plasma

- 30 La solución estándar de los compuestos (1-1 y 1-2) se diluyó con plasma y se recolectó a las 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 h. Las muestras se prepararon de acuerdo con el método de 3.1. Se introdujeron 20 μL en el sistema de HPLC y se registró el área del pico para análisis para determinar la estabilidad del compuesto 1 y 2 en plasma. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5 Estabilidad del plasma

Tiempo(h)	0	1	2	3	5	8	12	24
Compuesto I-1	2.16	2.24	2.22	2.12	2.11	1.91	1.84	1.95
Compuesto 1-2	2.36	2.34	2.29	2.21	2.16	2.11	1.97	1.85

Puede observarse que los compuestos (I-1 y 1-2) muestran una buena estabilidad en plasma en 24 h.

4. Animales de experimentación

- 35 4.1 Diseño de experimentos y datos de concentración plasmática-tiempo

Se tomó con precisión una cantidad de compuesto para preparar una solución acuosa de CMC-Na que contenía 3 mg/ml de fármaco. Se asignaron aleatoriamente 12 ratas Wister macho sanas a dos grupos, cada grupo incluía 6 ratas. Al primer grupo se administró el compuesto 1 por vía oral. Al segundo grupo se administró el compuesto 2 por vía oral. Las dosis fueron de 30 mg/kg (correspondientes a 2 ml para cada rata). Las ratas estuvieron en ayunas durante 12 h antes de la administración y con libre acceso a agua. Se recolectaron muestras de sangre de 0.6 ml a las 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 5, 8, 12 y 24 h después de la administración del fármaco de los senos venosos y se agregaron a tubos de EP que fueron previamente enjuagados con heparina sódica. Las muestras se centrifugaron a 4.000 r/min durante 15 min y se obtuvo el plasma de la parte superior. Se sometieron a análisis 300 µl de plasma y se registraron el cromatograma y el área del pico. Se calcularon las concentraciones plasmáticas de los compuestos 1 y 2 para dar una curva de concentración-tiempo promedio. Las Tablas 6 y 7 resumen los resultados.

Tabla 6. Concentración en plasma versus tiempo de ratas después del compuesto oral 1 (ng*ml/1)

Rata No.	Tiempo									
	0.5	1	1.5	2	2.5	3	5	8	12	24
1	65.08	73.81	82.09	100.94	113.35	125.86	115.59	233.26	153.29	167.23
2	76.41	81.17	82.19	86.23	104.16	78.87	172.92	151.83	135.94	133.16
3	80.51	80.91	81.99	86.97	106.91	266.46	127.6	271.51	110.59	79.81
4	76.52	90.92	92.66	132.81	158.41	191.06	232.81	205.77	162.93	123.91
5	68.85	104.54	88.06	113.55	100.48	149.67	174.04	157.03	107.83	126.6
6	68.95	65.58	77.48	97.96	96.8	112.43	159.33	150.59	135.84	105.83
Media	72.72	82.82	84.08	103.08	113.35	154.06	163.72	195	134.4	122.76
sd	5.94	13.58	5.38	17.71	22.79	66.64	41.48	50.42	22.13	29.1

Tabla 7 Concentración plasmática frente al tiempo en ratas después del compuesto oral 2 (ng*ml/ 1)

Rata No.	Tiempo									
	0.5	1	1.5	2	2.5	3	5	8	12	24
1	25.98	28.68	42.95	37.16	57.6	57.21	86.12	119.66	229.22	209.56
2	24.36	18.66	33.31	47.57	39.48	41.79	78.03	82.66	256.32	221.75
3	-	-	40.25	47.03	49.89	65.08	94.32	121.59	213.94	74.79
4	-	-	45.26	46.08	51.04	53.93	76.64	186.27	286.97	138.91
5	29.26	208.71	48.34	53.04	72.86	81.11	124.06	196.61	252.66	198.92
6	123.49	-	57.05	88.44	74.79	87.89	272.93	263.95	345.56	97.83
Media	50.77	85.35	44.53	53.22	57.61	64.5	122.02	161.79	264.11	156.96
sd	48.52	106.95	7.98	18	13.85	17.34	75.93	66.18	47.08	62.13

4.2 Análisis de datos

Se utilizó el programa DAS 2.0 para analizar la concentración plasmática frente a los datos de tiempo después de una única dosis oral (Tabla 6, 7). Se utilizaron los métodos de ajuste y AIC para determinar el modelo. El análisis se basó en el principio de que cuanto mayor sea el ajuste y más pequeño el AIC, mejor será el modelo. La administración oral fue consistente con el modelo de dos compartimentos. El parámetro de distancia estadística se utiliza para comparar los 2 compuestos para los parámetros farmacocinéticos. Los resultados se exponen en la Tabla 8.

Tabla 8. Parámetros farmacocinéticos de los compuestos 1 y 2 después de la administración oral en ratas AUC: área bajo la curva concentración plasmática-tiempo; $T_{\text{máx}}$: tiempo máximo para el pico de fármaco; $T_{1/2}$: vida media; MRT: tiempo medio de residencia $C_{\text{máx}}$: concentración máxima para el pico del fármaco

Parámetro	Compuesto I-1	Compuesto I-2
AUC 0-24(ng·ml/l)	3345.7±467.56	4346.9±1298.0
MRT 0-24	11.62±1.09	13.76±1.29
$T_{\text{máx}}$	5.5±2.29	14±5.29
$T_{1/2}$	45.76±29.12	14,67±4.23
C_{max} (ng/ml)	241.35±102.97	265.35±52.91

5 Puede verse en la Tabla 8 que los parámetros farmacocinéticos de los compuestos 1 y 2 son aceptables.

Ejemplo 58

Inhibición del tumor de injerto S180 en animales por el fármaco

1. Materiales de experimentación y animales

10 Medicamento de prueba: compuesto I-1; Medicamento positivo: AT7519, adquirido de Jinan Great Chemical Co., Ltd.

Animal de prueba: ratón ICR, grado limpio, proporcionado por el centro médico de la Universidad de Yangzhou, número de licencia: SCXK(Su)2007-0001; 18-22 g, hembra; pienso granulado, proporcionado por Jiangsu Xietong Organism Co., Ltd.; Condiciones de alimentación: habitación climatizada, 18-24°C, humedad relativa 70%.

Tumor: S180, proporcionado por Institute of Tumor Drug Research Jiangsu.

15 Instrumento: Microbanco médico YJ-875 (Instrumento médico de Suzhou).

2. Procedimientos

Se inculó al ratón ICR con tumor sólido de acuerdo con el proceso de injerto tumoral (la pieza tumoral se pesó en condiciones estériles, se homogeneizó con homogeneizador de tejido de vidrio, se colocó dentro de un recipiente estéril, al que se añadió solución salina fisiológica para preparar una suspensión celular 1:3. El recipiente se colocó en hielo y se aspiró y las células se mezclaron de manera homogénea antes de cada aspiración. Cada ratón se inculó por vía subcutánea 0.2 ml en la axila anterior derecha). 24 h después de la inoculación, los ratones se pesaron y se dividieron aleatoriamente en 5 grupos, cada grupo incluía 10 ratones. Cada uno del grupo de fármacos se administró por primera vez 24 h después de la inoculación (d1). Los ratones se administraron por vía intravenosa, una vez al día y 7 administraciones en total. El volumen de administración fue de 0.4 ml/20 g. Los ratones portadores del tumor se sacrificaron 8 días después de la inoculación (d8). El tejido tumoral se separó y se pesó. Los datos se analizaron con el método estadístico (prueba t).

Ajuste de la dosis: 5 grupos en total.

Grupo de control modelo; Grupo de control positivo: AT7519 15 mg/kg; Medicamento de prueba: 30 mg/kg; Medicamento de prueba: 15 mg/kg; Fármaco de prueba: 7.5 mg/kg

30 4. Resultados

Tabla 1 Inhibición del tumor de injerto S180 por fármaco ($\bar{X} \pm \text{DE}$)

Grupo	dosis	Peso corporal (g)		Animal		Peso del tumor	Inhibición tumoral
	(mg/kg)	Antes de la administración	Después de la administración	Antes del experimento	Después del experimento	(g)	(%)
Control de		20.00±2.35	25.00±1.85	8	8	1.18±0.28	-

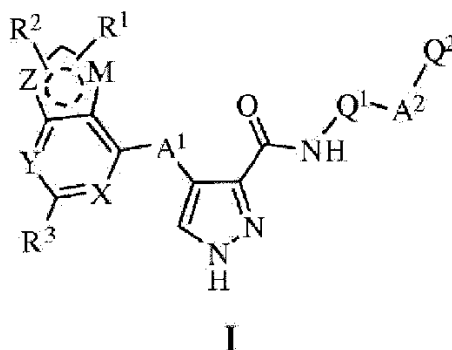
Grupo	dosis	Peso corporal (g)		Animal		Peso del tumor	Inhibición tumoral
	(mg /kg)	Antes de la administración	Después de la administración	Antes del experimento	Después del experimento	(g)	(%)
modelos							
Prueba de fármacos	30 mg/kg	19.88±2.67	20.43±3.20*	8	7	0.52±0.25**	55.5
Prueba de fármacos	15 mg/kg	19.00±1.00	20.00±1.94*	8	8	0.63±0.11**	45.2
Prueba de fármacos	7.5 mg/kg	18.63±0.99	24.00±0.75	8	8	0.74±0.19*	36.94
AT7519 positivo	15 mg/kg	19.75±1.85	23.83±3.39	8	7	0.80±0.27	32.45
P<0.05 ** P<0.01 (comparado con el modelo de control)							

5. Conclusión

Los resultados indican que, en comparación con el grupo de control modelo, el fármaco de prueba (30 mg/kg y 15 mg/kg) tiene un efecto inhibidor muy significativo sobre el crecimiento tumoral S180 (P<0.01), y el fármaco de prueba (7.5 mg/kg) tiene un efecto inhibidor significativo sobre el crecimiento tumoral S180 (P<0.05). El fármaco de prueba (30 mg/kg y 15 mg/kg) tiene un efecto inhibidor significativo sobre el peso corporal de los animales de experimentación (P<0.05).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto definido por la fórmula (I):



o las sales o tautómeros o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos o su combinación, en donde:

- 5 R¹, R² y R³ representan cada uno independientemente H o alquilo C₁₋₄;
 X e Y representan cada uno independientemente un átomo de N o un grupo CH;
 Z y M representan cada uno independientemente un grupo NH, O, S o CH con la condición de que uno de Z y M sea NH, O o S;
 A¹ representa NH;
- 10 A² representa independientemente alquilenos C₁₋₄ en forma de cadena, C(O)NH, C(O) o NHC(O);
 Q¹ es un anillo aromático sustituido o no sustituido seleccionado entre fenilo, naftilo, pirrolilo, furilo, tienilo, piridilo, pirazinilo o pirimidinilo y el sustituyente puede ser 1-2 halógeno o trifluorometilo;
 Q² es morfolinilo o metilpiperazinilo.
2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde:
- 15 R¹, R² y R³ representan cada uno independientemente H o metilo;
 A¹ representa NH;
 A² representa CH₂;
 Q¹ representa fenilo;
 Q² representa morfolinilo o metilpiperazinilo.
- 20 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que se selecciona entre:
- 4-(4-tieno[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-1)
 4-(4-tieno[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-2)
 4-(4-(6-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-3)
 4-(4-(6-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-4)
 25 4-(4-(5-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-5)
 4-(4-(5-metiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-6)
 4-(4-(5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-7)
 4-(4-(5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-8)
 4-(4-tieno[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-9)
 30 4-(4-tieno[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-10)
 4-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-11)
 4-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-12)
 4-(4-(6-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-13)
 4-(4-(6-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-14)
 35 4-(4-(5-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-15)
 4-(4-(5-metil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-16)
 4-(4-(5H-pirrolo[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-17)
 4-(4-(5H-pirrolo[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-18)
 4-(4-(6-metil-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-19)
 40 4-(4-(6-metil-5H-pirrolo[3,2-d]pirimidinil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-20)
 4-(4-furo[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-21)
 4-(4-furo[2,3-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-22)
 4-(4-furo[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-23)
 4-(4-furo[3,2-d]pirimidinilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-24)

- 4-(4-tieno[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-25)
 4-(4-tieno[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-26)
 4-(4-(2-metiltieno[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-27)
 4-(4-(2-metiltieno[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-28)
 5 4-(7-tieno[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-29)
 4-(7-tieno[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-30)
 4-(7-(3-metiltieno[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-31)
 4-(7-(3-metiltieno[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-32)
 4-(4-furo[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-33)
 10 4-(4-furo[3,2-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-34)
 4-(4-(2-metilfuro[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-35)
 4-(4-(2-metilfuro[3,2-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-36)
 4-(7-furo[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-37)
 4-(7-furo[2,3-c]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-38)
 15 4-(7-furo[3,2-b]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-39)
 4-(7-furo[3,2-b]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-40)
 4-(4-furo[2,3-b]piridilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-41)
 4-(4-furo[2,3-b]piridilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-42)
 4-(7-(1H-pirrol[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-43)
 20 4-(7-(1H-pirrol[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-44)
 4-(7-(2-metil-1H-pirrol[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-45)
 4-(7-(2-metil-1H-pirrol[2,3-c]piridil)amino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-46)
 4-(4-(2-metiltieno[3,2-d]pirimidin)ilamino)-N-(4-((4-metil-1-piperazinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-47)
 4-(4-(2-metiltieno[3,2-d]pirimidin)ilamino)-N-(4-((4-morfolinil)metil)fenil)-1H-3-pirazolcarboxamida (I-48)
- 25 4. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición ácida formadas por el compuesto de fórmula (I) con los siguientes ácidos: ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido naftalenosulfónico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido acético, ácido maleico o ácido succínico, ácido fumárico, ácido salicílico, ácido fenilacético, ácido amigdalico; y las sales ácidas de base inorgánica.
- 30 5. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso:
- (a) en la prevención o tratamiento de una enfermedad clínica asociada con CDK2, Aurora A, en donde la
 35 enfermedad asociada con CDK2, Aurora A es melanoma, cáncer de hígado, cáncer de riñón, leucemia aguda, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, cáncer de piel, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de mama, síndrome mielodisplásico, cáncer de esófago, cáncer gastrointestinal o mesotelioma; o
- (b) en la prevención o tratamiento de una enfermedad clínica asociada con GSK3b, FLT3, KDR, VEGFR, en donde
 40 la enfermedad clínica comprende inflamación, infección por virus, diabetes mellitus tipo II o diabetes mellitus no insulino dependiente, enfermedad autoinmune, traumatismo craneal, apoplejía, epilepsia, enfermedad de Alzheimer o enfermedad de las neuronas motoras; o
- (c) como agente antifúngico.

Figura 1, parte 1

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-1

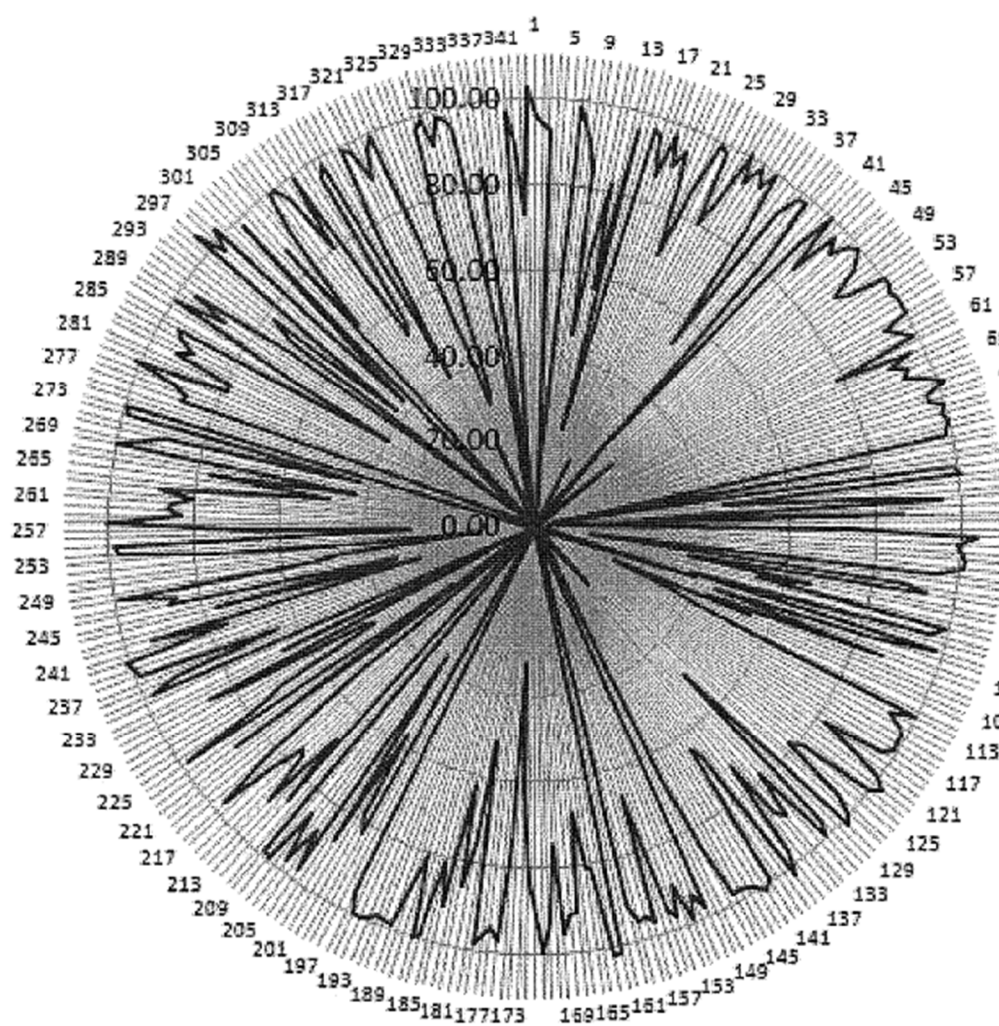


Figura 1, parte 2

% de inhibición de actividad de quinasas (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-2

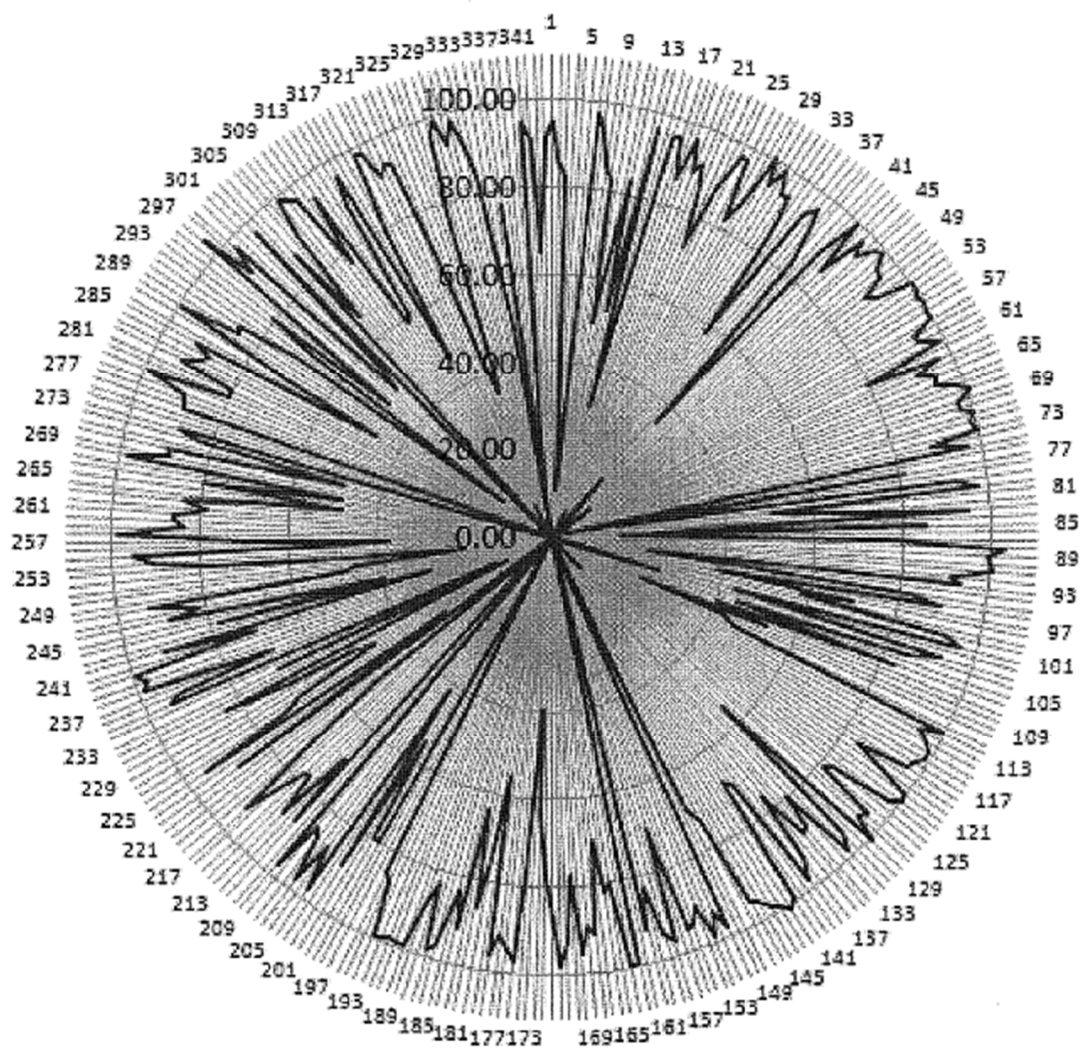


Figura 1, parte 3

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-3

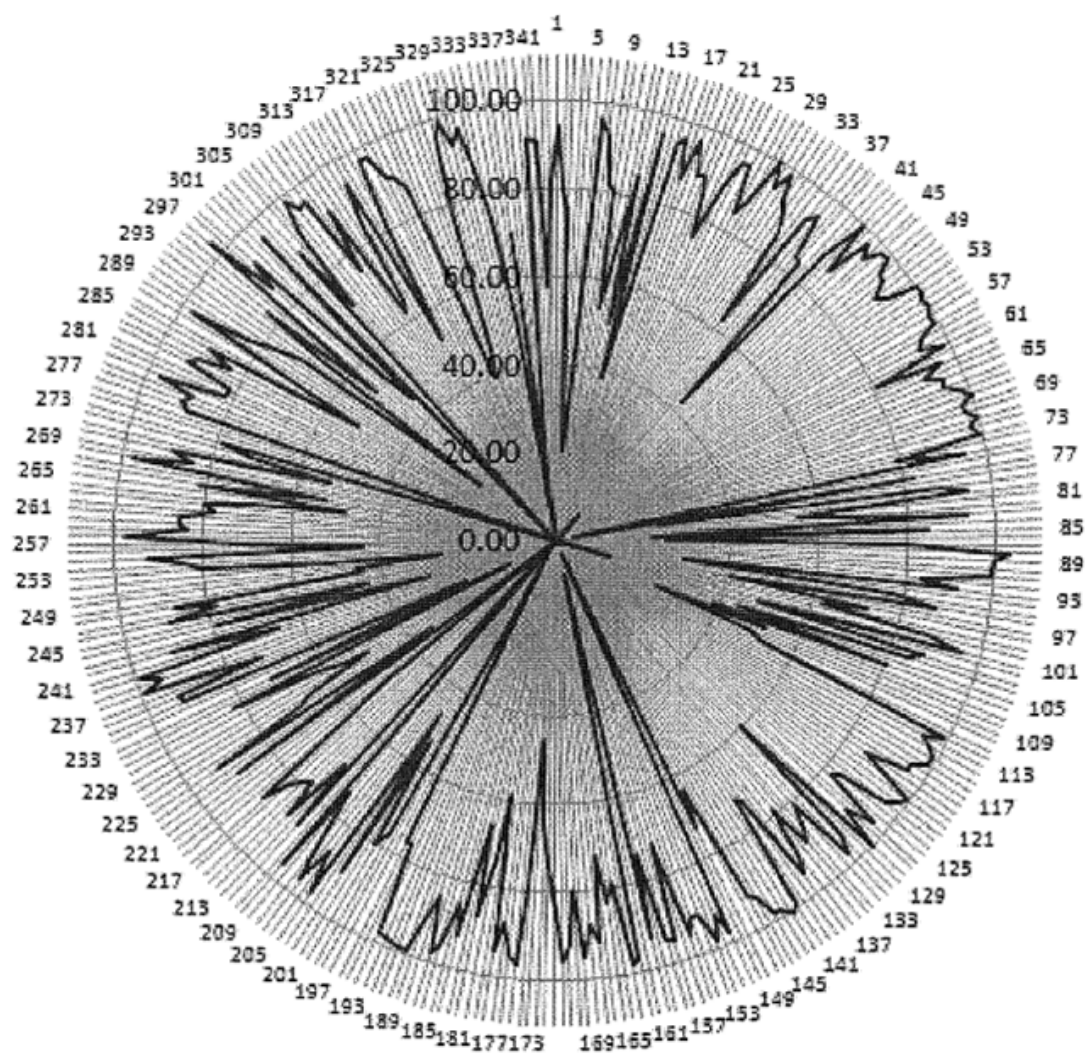


Figura 1, parte 4

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-4

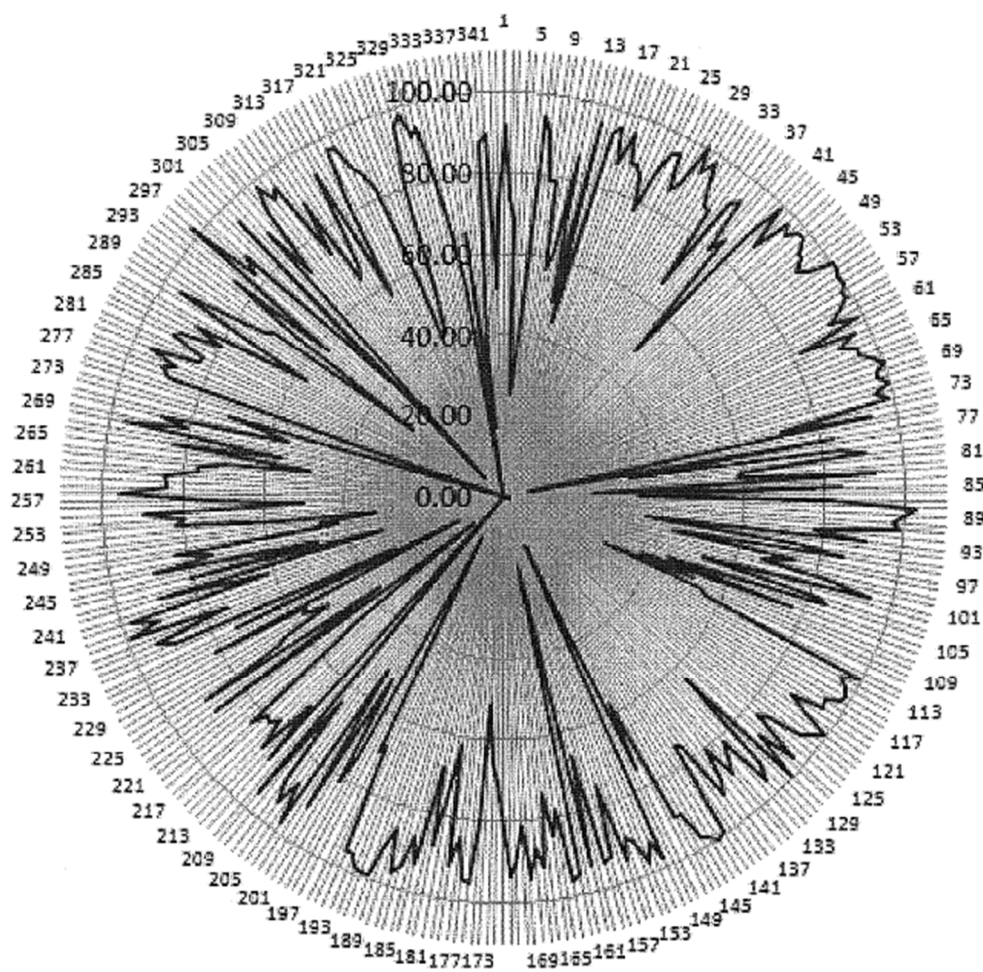


Figura 1, parte 5

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-11

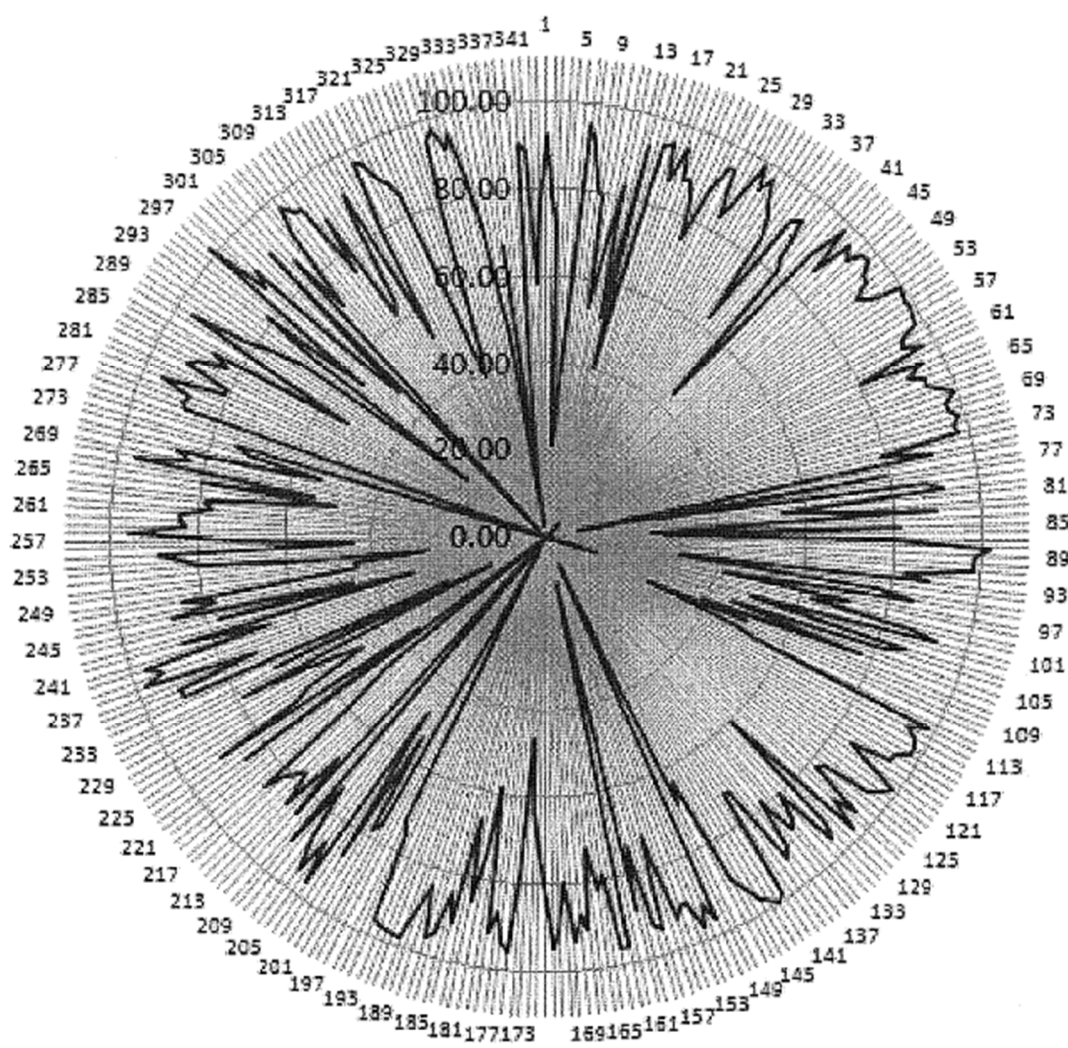


Figura 1, parte 6

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-12

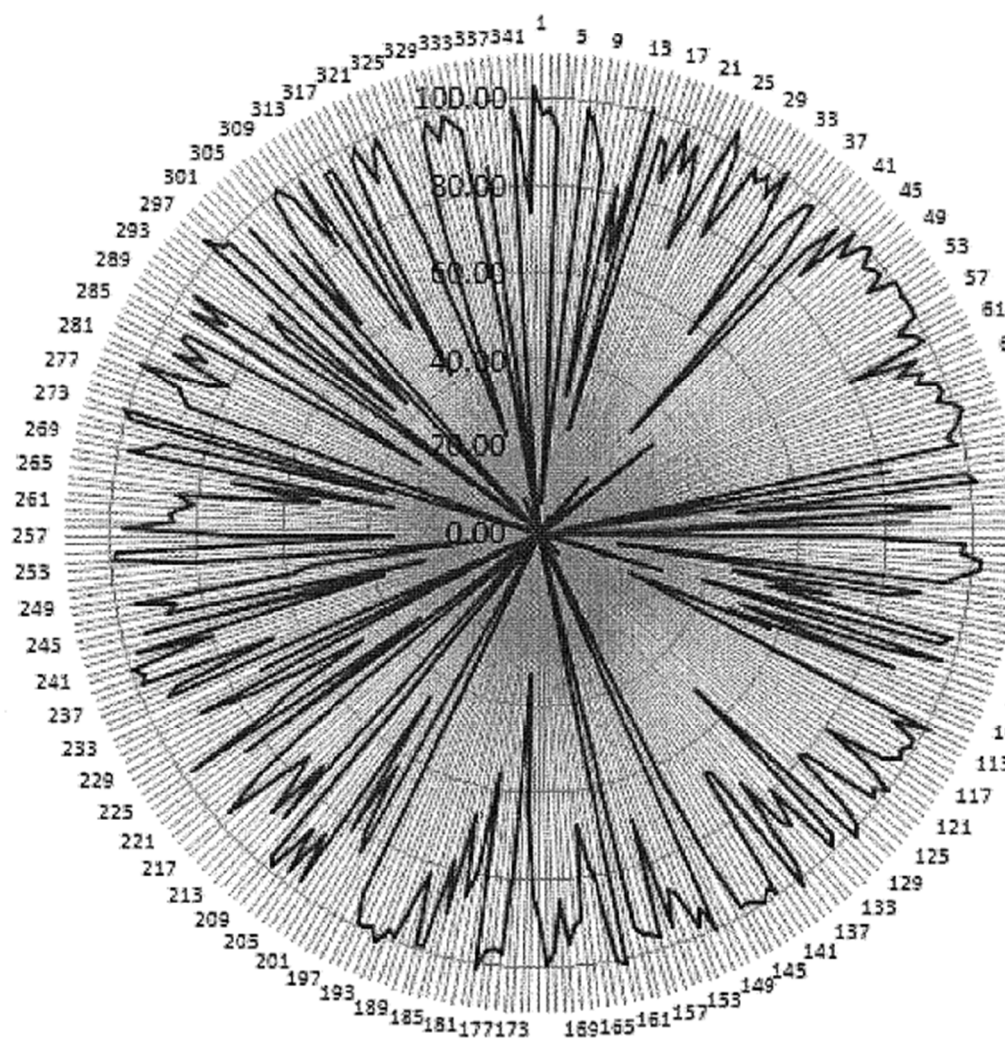


Figura 1, parte 7

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-13

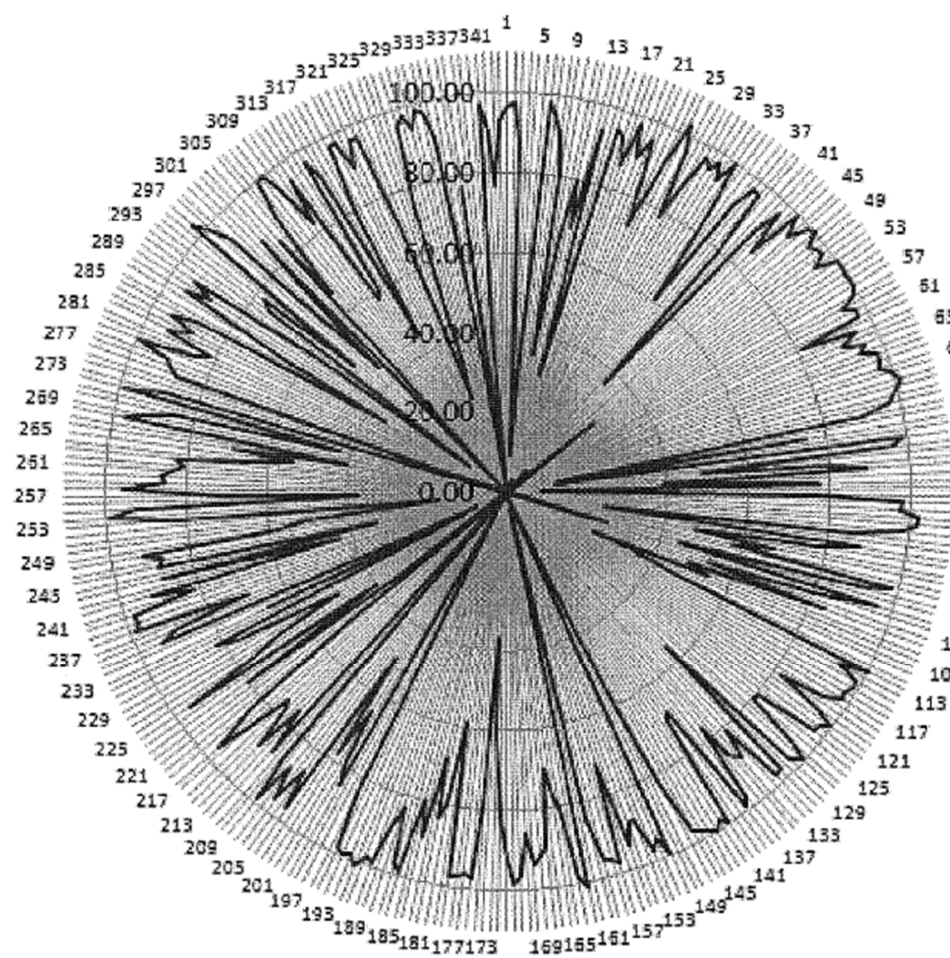


Figura 1, parte 8

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-14

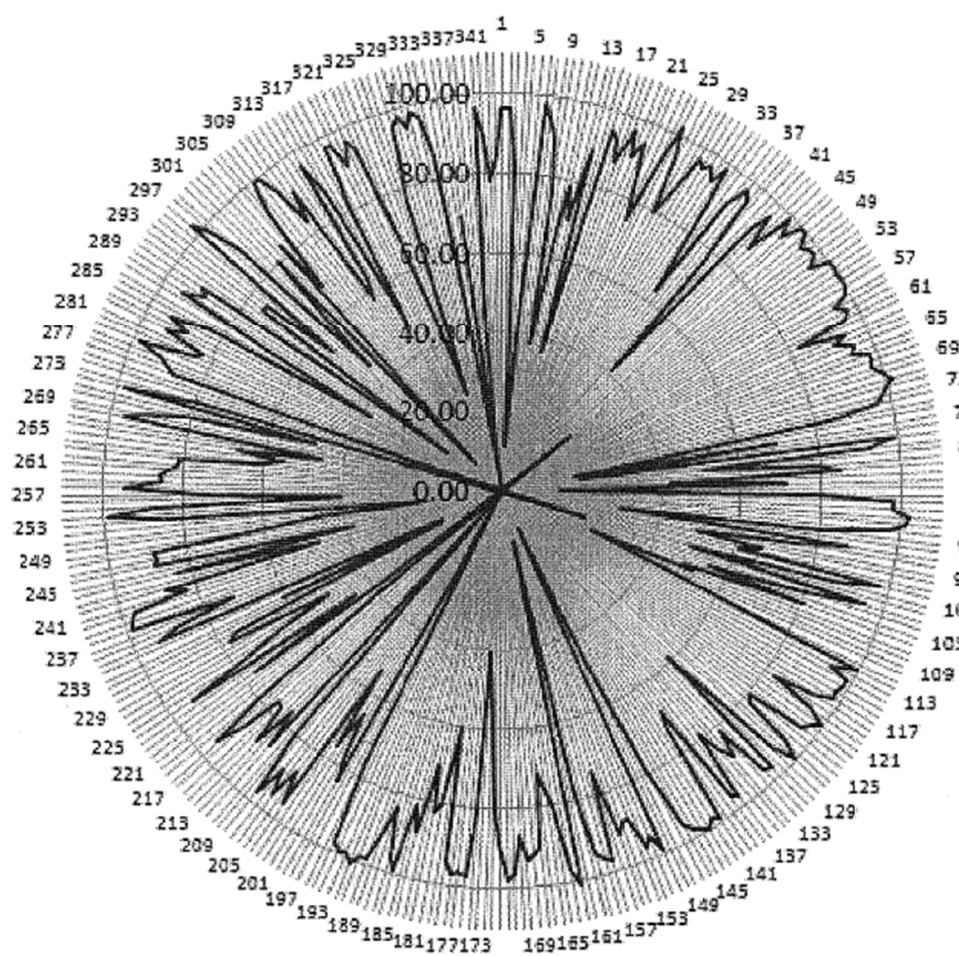


Figura 1, parte 9

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-21

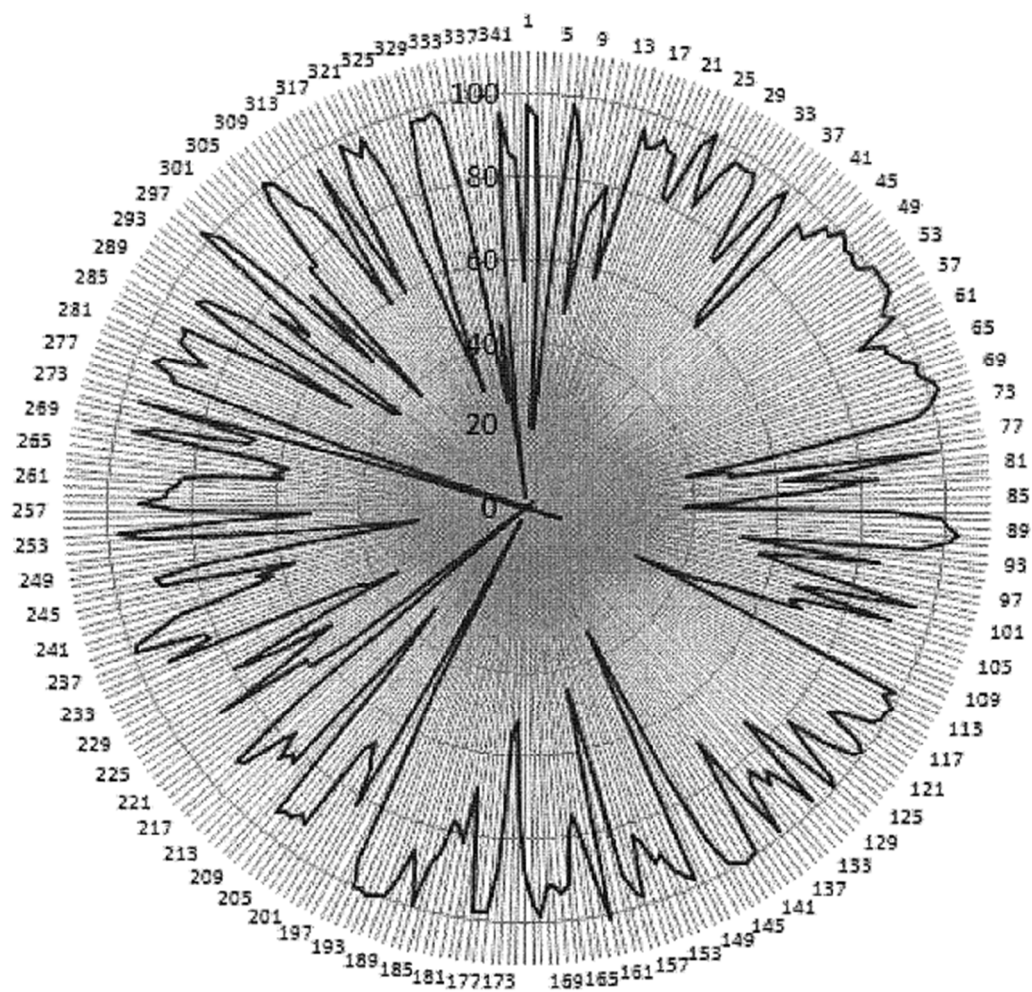


Figura 1, parte 10

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-23

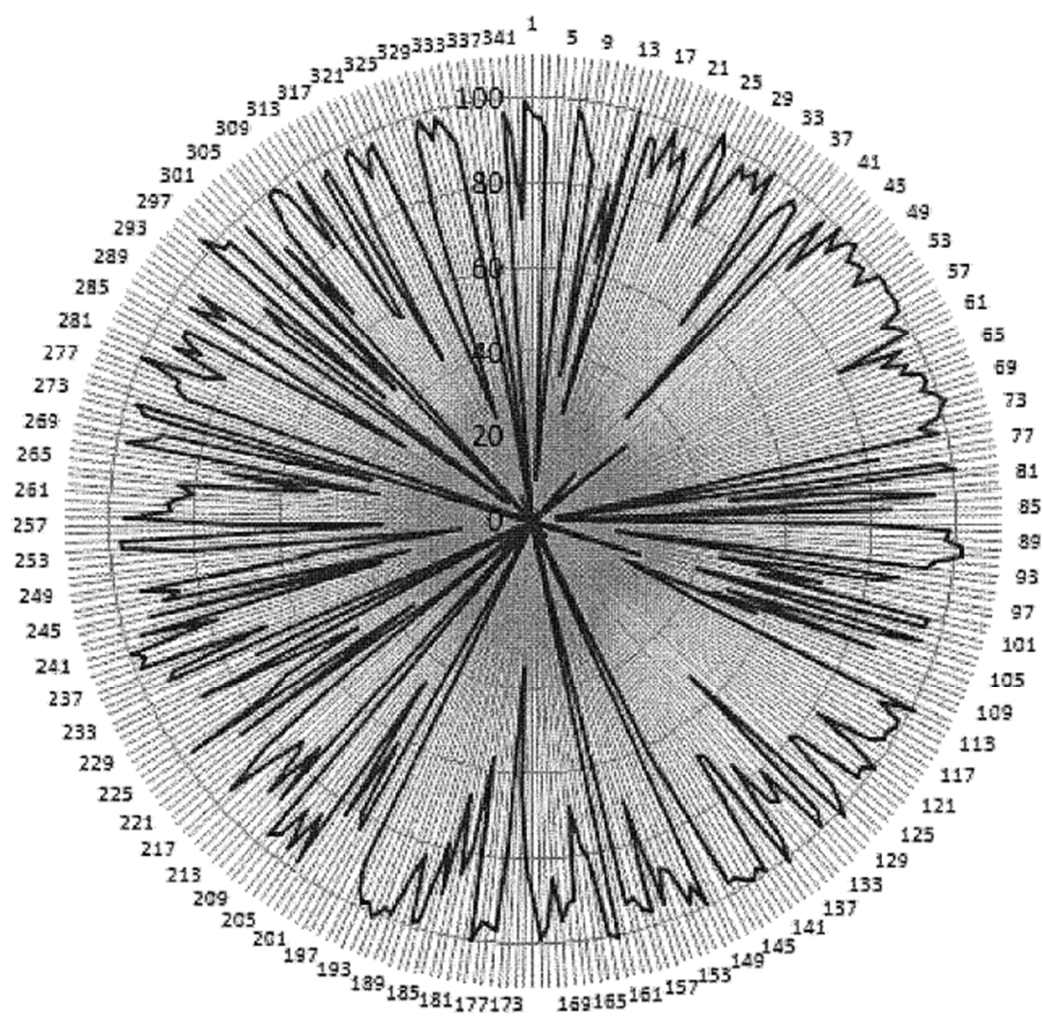


Figura 1, parte 11

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-27

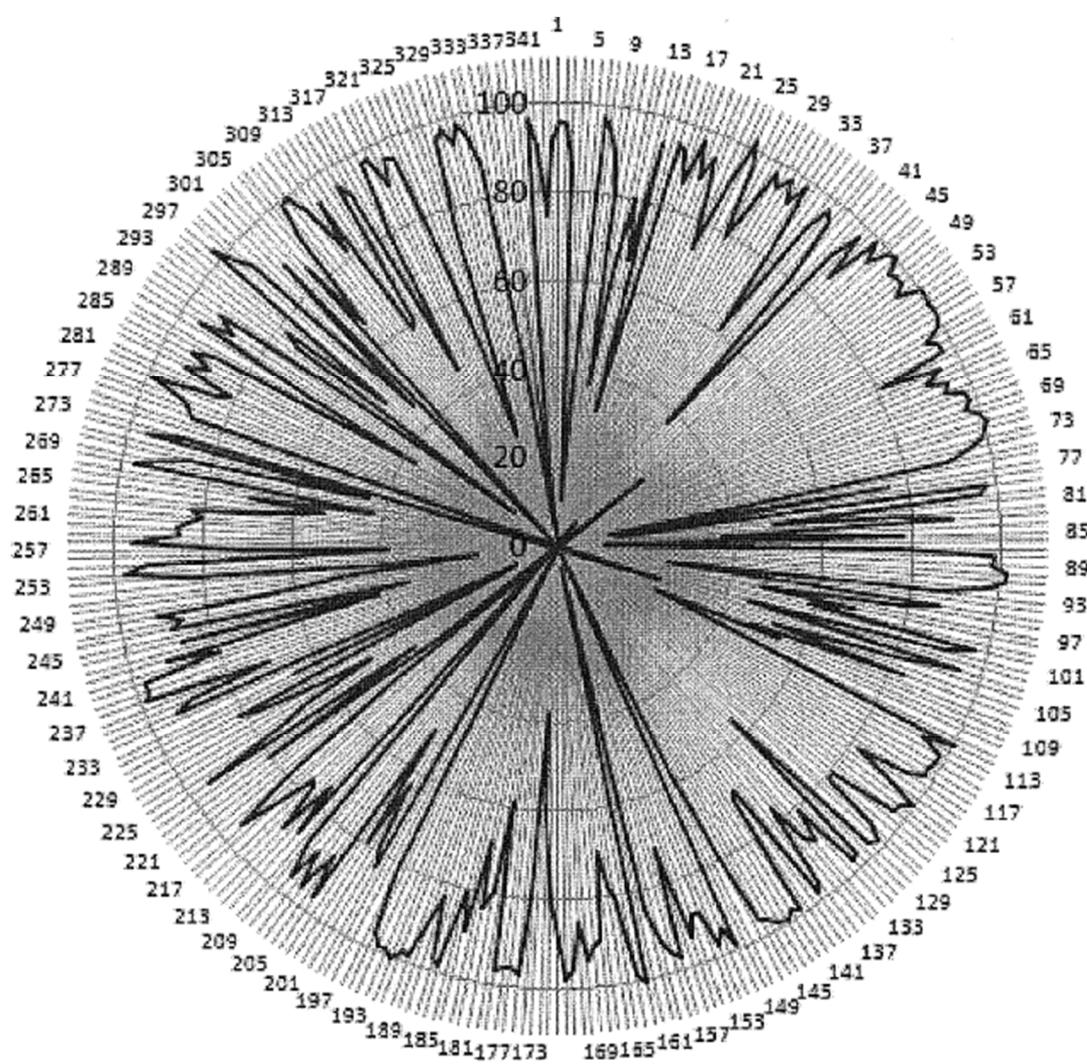


Figura 1, parte 12

% de inhibición de actividad de quinasa (relativa al control de DMSO) mostrada en la gráfica radar

Compuesto I-28

