



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 349 169**

51 Int. Cl.:

C07D 409/14 (2006.01)

A61K 31/381 (2006.01)

A61K 31/4436 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61K 31/444 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07855058 .9**

96 Fecha de presentación : **11.12.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2125793**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.12.2009**

54

Título: **Compuestos de imidazolidinonil aminopirimidina para el tratamiento del cáncer.**

30

Prioridad: **21.12.2006 US 871302 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.12.2010

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.12.2010

73

Titular/es: **ELI LILLY & COMPANY**
Lilly Corporate Center
Indianapolis, Indiana 46285, US

72

Inventor/es: **Crich, Joyce Z.;**
Henry, James Robert;
Slater, Melissa Kate;
Brooks, Harold Burns;
Li, Hong-Yu y
Wang, Yan

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 349 169 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**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Plk1 pertenece a una pequeña familia de proteína quinasas caracterizadas por un dominio de unión a fosfoserina/treonina conocido como el dominio de caja polo. Plk1 juega un papel central en la regulación del ciclo celular. Entre otras funciones, se cree que Plk1 regula el inicio, progresión y salida de mitosis, la etapa en la que las células cancerosas se dividen. En consecuencia, el bloqueo de Plk1 en células cancerosas evita su división o mitosis.

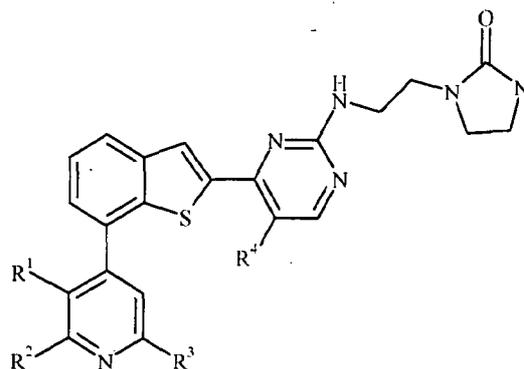
Se han identificado potentes agentes antineoplásicos que interfieren con mitosis tal como los alcaloides de vinca (NAVELBINE®), taxoides (TAXOTERE®) e inhibidores de topoisomerasa II (ADRIAMYCIN®). VELCADE® es un agente antineoplásico que inhibe el proteosoma 26S. Sin embargo, estos fármacos causan considerables efectos secundarios en células normales, que no están en división. Los inhibidores de Plk se dirigen específicamente a células en división y pueden ser capaces de evitar la toxicidad no deseada.

Los inhibidores de Plk1 son conocidos en la técnica. Véase por ejemplo el documento WO 06/066172. Adicionalmente, el documento WO 06/021548 desvela ciertos análogos de dihidropteridinona (por ejemplo, BI-2536) como inhibidores de Plk1. Actualmente, BI-2536 está en la fase II de los ensayos clínicos pero tiene una alta eliminación (CL >1000 ml/min) y está limitado en dosis por la mielosupresión en el hombre. Aun existe la necesidad de compuestos adicionales que inhiban Plk1 que posean una potencia o propiedades farmacocinéticas mejoradas. También sería ventajoso tener un inhibidor de Plk1 que pudiera administrarse por vía oral.

La presente invención proporciona compuestos nuevos de imidazolidinonil aminopirimidina que se cree que tienen un uso clínico para el tratamiento del cáncer a través de la inhibición de Plk1. Se cree que ciertos de estos compuestos tienen una potencia mejorada sobre compuestos desvelados en el documento WO 06/066172. Adicionalmente, se cree que ciertos de estos compuestos tienen propiedades farmacocinéticas mejoradas sobre BI-2536. Además, debido a la biodisponibilidad oral de los compuestos de la presente invención que se ensayaron, se cree que ciertos de estos compuestos pueden administrarse por vía oral.

BREVE SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona compuestos de Fórmula I:



Fórmula I

en la que:

R¹ es hidrógeno, hidroxilo, hidroximetilo, halo, metilo, fluorometilo, alcoxi C₁-C₂, amino o metilamino;

5 R² es hidrógeno, halo o ciano;

R³ es hidrógeno o halo;

con la condición de que al menos uno de R¹, R² y R³ sea hidrógeno; y

R⁴ es hidrógeno, halo o metilo; o

una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

10 La presente solicitud desvela un procedimiento para tratar el cáncer seleccionado entre el grupo que consiste en cánceres no microcítico de pulmón, orofaríngeo, esofágico, gástrico, melanoma, carcinoma epidermoide de la piel, de mama, de ovarios, de endometrio, colorrectal, neuroglioma, glioblastoma, carcinoma tiroideo, cervical, pancreático, de próstata, hepatoblastoma y linfoma no Hodgkin en un mamífero que comprende la administración a un

15 mamífero que necesite dicho tratamiento de una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

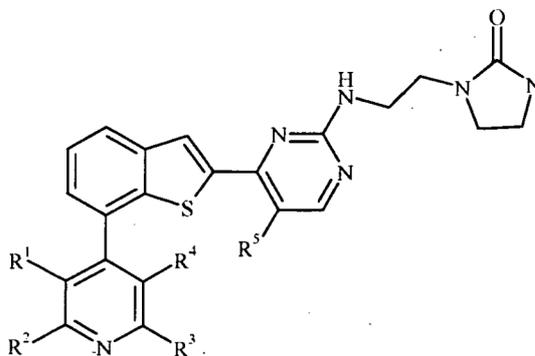
La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

20 La presente invención también proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la preparación de un medicamento. Adicionalmente, esta invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en mamíferos, seleccionado entre el grupo que consiste en

25 cánceres no microcítico de pulmón, orofaríngeo, esofágico, gástrico, melanoma, carcinoma epidermoide de la piel, de mama, de ovarios, de endometrio, colorrectal, neuroglioma, glioblastoma, carcinoma tiroideo, cervical, pancreático, de próstata, hepatoblastoma y linfoma

no Hodgkin. Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica adaptada para el tratamiento de cáncer seleccionado entre el grupo que consiste en cánceres no microcítico de pulmón, orofaríngeo, esofágico, gástrico, melanoma, carcinoma epidermoide de la piel, de mama, de ovarios, de endometrio, colorrectal, neuroglioma, glioblastoma, carcinoma tiroideo, cervical, pancreático, de próstata, hepatoblastoma y linfoma no Hodgkin que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con uno o más excipientes, vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

La presente invención también proporciona compuestos de Fórmula:



10

en la que:

R¹ es hidrógeno, hidroxilo, halo, metilo, alcoxi C₁-C₂, amino o metilamino;

R² es hidrógeno, halo o ciano;

R³ es hidrógeno o halo;

15

R⁴ es hidrógeno, halo o metilo;

con la condición de que al menos dos de R¹, R², R³ y R⁴ sean hidrógeno;

R⁵ es hidrógeno, halo o metilo; o

una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

20

Los términos químicos generales de las fórmulas anteriores tienen sus significados habituales. Por ejemplo, el término "alcoxi (C₁-C₂)" significa metoxi y etoxi. El término "halo" significa flúor, cloro, bromo y yodo.

25

Se entenderá por el lector experto que la mayor parte de, o todos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales. Los compuestos de la presente invención son aminos, y por consiguiente reaccionan con cualquiera de diversos ácidos inorgánicos y orgánicos para formar sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables. Dichas sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables y la metodología común para prepararlas son conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, P. Stahl, y col., HANDBOOK OF

PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, y col., "Pharmaceutical Salts, " Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol 66, Nº 1, Enero de 1977.

Se prefieren compuestos de Fórmula I en la que:

- 5 a) R¹ es hidrógeno o metilo;
b) R² es hidrógeno o halo;
c) R³ es hidrógeno o halo;
d) R⁴ es halo;
e) R⁴ es metilo;
10 f) R⁴ es hidrógeno;
g) R¹ es hidrógeno, R² es cloro, R³ es hidrógeno, y R⁴ es hidrógeno;
h) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es flúor, y R⁴ es flúor; e
i) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, R³ es flúor, y R⁴ es metilo;

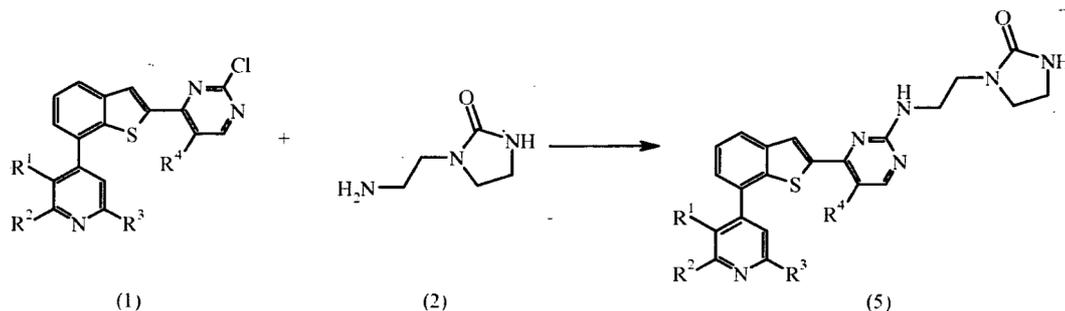
ESQUEMAS

15 El experto apreciará que no todos los sustituyentes en los compuestos de la presente invención tolerarán ciertas condiciones de reacción empleadas para sintetizar los compuestos. Estos restos pueden introducirse en un punto conveniente en la síntesis, o pueden protegerse y después desprotonarse cuando sea necesario o se desee. El experto apreciará que los grupos protectores pueden retirarse en cualquier punto conveniente en la síntesis de los
20 compuestos de la presente invención. Los procedimientos para introducir y retirar grupos protectores de nitrógeno y oxígeno son bien conocidos en la técnica; véase, por ejemplo, Greene y Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3^a Ed., John Wiley y Sons, Nueva York, Capítulo 7 (1999). Además, el experto apreciará que, en muchas circunstancias, el orden en el que se introducen los restos no es crucial. El orden particular de las etapas requeridas
25 para producir los compuestos de la presente invención puede depender del compuesto particular que se sintetice, del compuesto de partida y de la labilidad relativa de los restos sustituidos.

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse realizando al menos dos variantes que se analizan a continuación. En los esquemas que se muestran a continuación,
30 todos los sustituyentes, a menos que se indique otra cosa, son como se han definido anteriormente, y los reactivos adecuados son bien conocidos y apreciados en la técnica. En el Esquema 2, Y es halo y Z es ácido borónico.

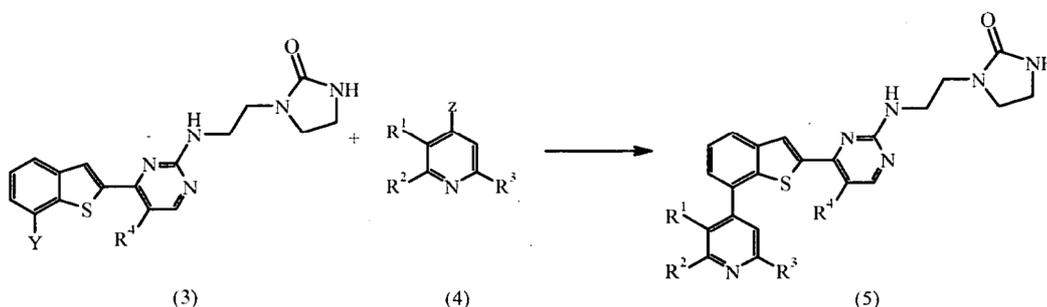
5

Esquema 1



Un compuesto de Fórmula (1) se hace reaccionar con 2-(amino-etil)-1,3-dihidroimidazol-ona (2) para dar un compuesto de Fórmula (5) por una reacción de desplazamiento nucleófilo. Dichas reacciones se realizan en un disolvente adecuado, tal como *n*-butanol, dioxano, *N*-metilpirolidin-2-ona (NMP) y similares. En general, las reacciones se realizan a temperaturas de aproximadamente 120°C a 150°C usando un baño de aceite o un reactor de microondas. La estequiometría típica para esta reacción se basa en el compuesto de Fórmula (3) y se usan aproximadamente 2 equivalentes de 2-(amino-etil)-1,3-dihidroimidazol-ona. Pueden usarse bases de amina, tales como trietil amina, diisopropiletil amina y similares.

Esquema 2



10

Un compuesto de Fórmula (3) se hace reaccionar con un compuesto de Fórmula (4) en una reacción de Suzuki usando un catalizador de paladio adecuado, tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) y similares, en presencia de una base, tal como carbonato sódico, carbonato potásico y similares. Estas reacciones se realizan en un disolvente adecuado, tal como THF, dioxano, agua y similares. En general, las reacciones se realizan a temperaturas de aproximadamente 100°C a 150°C usando un baño de aceite o un reactor de microondas.

En una etapa opcional, se forma una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la presente invención. La formación de dichas sales es bien conocida y apreciada en la técnica.

15

Como se apreciará fácilmente, los compuestos de Formulas (1) y (3) pueden

20

prepararse fácilmente por procedimientos similares a los descritos en el presente documento, por procedimientos que son bien conocidos y establecidos en la técnica. Por ejemplo, los compuestos de Fórmula (1) se preparan por acoplamiento de un compuesto de piridinilo opcionalmente sustituido con un compuesto de benzotiofenilo opcionalmente sustituido por procedimientos de acoplamiento de Suzuki, como se ha descrito anteriormente. El aducto de Suzuki resultante se boronila por procedimientos bien conocidos en la técnica y se acopla adicionalmente con un haluro de pirimidina opcionalmente sustituido por procedimientos de acoplamiento de Suzuki, como se ha descrito anteriormente. Los compuestos de Fórmula (3) se preparan por boronilación de un compuesto de benzotiofenilo opcionalmente sustituido por procedimientos bien conocidos en la técnica, seguido de la adición de 2-(amino-etil)-1,3-dihidro-imidazol-ona (2) al ácido/éster borónico resultante por sustitución aromática nucleófila. Además, se reconoce que las etapas requeridas para preparar un compuesto de Fórmula (1) o (3) pueden realizarse en cualquier orden, incluyendo reacción de un compuesto parcial de Fórmula (1) o (3) con un compuesto de Fórmula (2) y/o Fórmula (4), de tal forma que la posterior formación de enlace carbono-carbono, reacción de acoplamiento, etc, realizadas, proporcione un compuesto de la presente invención.

La presente invención se ilustra adicionalmente por los siguientes ejemplos y preparaciones. Estos ejemplos y preparaciones son únicamente ilustrativos y no pretenden limitar la invención de ningún modo. Las expresiones usadas en los ejemplos y preparaciones tienen sus significados normales, a menos que se designe otra cosa. Los compuestos de ejemplo que se muestran a continuación se nombraron usando ChemDraw®, Versión 10.

Preparación 1

2-Benzo[*b*]tiofen-7-il-4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolano

Combinar 7-bromo-benzo[*b*]tiofeno (426 mg, 2 mmol), bis(pinacolato)diboro (756 mg, 3 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (81 mg, 0,1 mmol) y acetato potásico (294 mg, 3 mmol) en dimetilsulfóxido (DMSO) (10 ml) en un matraz. Burbujear nitrógeno a través de la mezcla durante 5 min. Cerrar herméticamente el matraz y calentar en un baño de aceite a 100°C durante 4 horas. Diluir la mezcla con cloroformo/isopropanol (3/1). Lavar la solución con cloruro sódico acuoso saturado. Secar la solución sobre sulfato sódico. Concentrar la solución al vacío, dando un residuo de color oscuro. Purificar por cromatografía en columna (de hexano a acetato de etilo al 20% en hexano), proporcionando el compuesto del título (342 mg, 66%) en forma de un sólido incoloro. EM (EN) m/z 261 [M+1]⁺

Preparación 2

Ácido benzo[*b*]tiofeno-7-borónico

Combinar 7-bromobenzo[*b*]tiofeno (300 g, 1,41 mmol) y borato de triisopropilo (403,6 g, 2,15 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (THF) (4000 ml) en un matraz Morton de 12 l equipado con un agitador mecánico y enfriar en una atmósfera de nitrógeno en un baño hielo seco/acetona a -70°C. Añadir gota a gota *n*-butil litio (1,6 M en hexano, 714 g, 1,68 mmol) a tal velocidad que se mantenga la temperatura interna por debajo de -67,5°C. Después de que se complete la adición, dejar en agitación la mezcla de reacción a esta temperatura durante 1 hora. Retirar el baño de refrigeración y añadir lentamente 4 l de agua. Añadir HCl concentrado (75 ml) hasta que el pH de la solución sea de aproximadamente pH = 2. Dejar la mezcla en agitación durante 1 hora. Añadir suficiente NaOH acuoso 5 N para ajustar el pH de la mezcla a aproximadamente pH = 12. Separar las fases y guardar la fase acuosa. Diluir la fase orgánica con 4 l de metil-*terc*-butil éter y extraer con 1 l de NaOH acuoso 5 N. Separar las fases. Combinar la fase acuosa con el extracto acuoso anterior. Lavar la fase acuosa con más cantidad de metil-*terc*-butil éter (4 l). Separar las fases y transferir las fases acuosas a un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 12 l equipado con un agitador mecánico. Enfriar la solución a +5°C con un baño de hielo-agua. Añadir lentamente HCl concentrado hasta que el pH de la solución sea de aproximadamente pH = 2. Agitar la mezcla durante 30 min y filtrar el sólido resultante. Aclarar el sólido en el embudo dos veces con 2 l de agua y dejar que se seque al aire durante 30 min. Colocar el sólido en una estufa de vacío a 50°C y secar al vacío durante una noche. Quitar el color amarillo suspendiendo el sólido seco con 2 l de *n*-heptano durante 30 min. Filtrar de nuevo el sólido, secar al aire durante 30 min y secar al vacío a 40°C durante una noche, proporcionando el compuesto del título (188,8 g, 75%) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 7,86 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,49-7,57 (m, 2H), 7,30-7,39 (m, 2H).

Preparación 3

Éster *terc*-butílico del ácido (6-fluoro-piridin-3-il)-carbámico

Equipar un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 100 ml con: un agitador magnético, una camisa calefactora controlada por termopar, un condensador y una atmósfera de nitrógeno. Cargar 5-amino-2-fluoro-piridina (5 g, 44,6 mmol), THF (50 ml), 4-dimetilaminopiridina (549 mg, 4,5 mmol, al 10% en mol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (10,7 g, 49 mmol). Calentar la mezcla a 50°C durante 4 horas. Enfriar y concentrar al vacío. Disolver el residuo en diclorometano/agua y filtrar. Transferir el filtrado a un embudo de decantación y separar la fase de diclorometano. Secar el diclorometano sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar al vacío. Someter a cromatografía sobre sílice eluyendo con una mezcla isocrática

de isopropanol al 10%/diclorometano al 90%, dando el compuesto del título (1,64 g, 17%) en forma de un aceite transparente de color castaño que se solidifica en el secado al vacío. EM (IE) m/z 261 M^+ .

Preparación 4

5 Éster *terc*-butílico del ácido (2-fluoro-piridin-3-il)-carbámico

Preparar el compuesto del título esencialmente de acuerdo con la preparación del éster *terc*-butílico del ácido (6-fluoro-piridin-3-il)-carbámico usando el material de partida adecuado. CGEM (IE) m/z 212 M^+ .

Preparación 5

10 *N*-(4-Yodo-piridin-3-il)-2,2-dimetil-propionamida

Equipar un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 250 ml con: un agitador magnético, un termopar, un baño de hielo seco/acetona, una atmósfera de nitrógeno y un embudo de adición. Cargar 2,2-dimetil-*N*-piridin-3-il-propionamida (3,0 g, 16,8 mmol), éter dietílico (67 ml) y tetrametilendiamina (4,68 g, 6,08 ml, 40,3 mmol). Enfriar la reacción a -78°C . Añadir lentamente mediante una jeringa de vidrio *n*-butil litio (solución en hexano 2,5 M, 16,2 ml, 40,3 mmol) durante 10 min. Dejar que la reacción se caliente a -13°C durante 2 horas. Enfriar la reacción a -78°C . Añadir una solución de yodo (8,5 g, 33,6 mmol en 20 ml de THF) a la reacción mediante el embudo de adición y mezclar durante 2,5 horas a -68°C . Interrumpir la reacción mediante la adición de una solución de NH_4Cl acuoso saturado (40 ml). Extraer con acetato de etilo (100 ml) y desechar la fase acuosa. Lavar la fase orgánica con una solución acuosa saturada de tiosulfato sódico (100 ml) y cloruro sódico acuoso saturado. Secar la fase orgánica sobre sulfato sódico y filtrar. Concentrar al vacío, dando un aceite de color pardo. Someter a cromatografía sobre sílice (80 g) eluyendo con un gradiente de diclorometano al 100% a acetato de etilo al 70%/diclorometano al 30%, proporcionando el compuesto del título (1,19 g, 23%). EM (EN) m/z 305 $[\text{M}+1]^+$

Preparar los siguientes compuestos esencialmente de acuerdo con la preparación de *n*-(4-yodo-piridin-3-il)-2,2-dimetil-propionamida usando el material de partida adecuado.

Prep	Nombre del compuesto	Datos físicos
6	Éster <i>terc</i> -butílico del ácido (6-fluoro-4-yodo-piridin-3-il)-carbámico	EM (EN) m/z 339 $[\text{M}+1]^+$
7	Éster <i>terc</i> -butílico del ácido (2-fluoro-4-yodo-piridin-3-il)-carbámico	CG-EM (IE) m/z 338 M^+

Preparación 8

3-Metoximetoxi-piridina

Disolver 3-hidroxipiridina (7 g, 74 mmol) en THF (20,6 ml) y dimetilformamida (34,4 ml) y enfriar a -15°C. Añadir *tert*-butóxido potásico (8,3 g, 74 mmol) y agitar a -15°C durante 30 min. Tratar gota a gota la mezcla con clorometilmetil éter (5,81 ml, 77 mmol) durante 40 min. Después de que se complete la adición, agitar la mezcla a -15°C durante una hora más. Retirar el baño de hielo y dejar que la mezcla se caliente lentamente a 15°C. Verter la mezcla en cloruro sódico acuoso saturado y agitar vigorosamente durante 10 min. Extraer la solución resultante con tres porciones de acetato de etilo. Combinar los extractos orgánicos y lavar con cloruro sódico acuoso saturado, secar sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar al vacío. Usar el producto resultante sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,42 (d, *J* = 3 Hz, 1H), 8,28 (d, *J* = 5 Hz, 1H), 7,37 - 7,42 (m, 1H), 7,21 - 7,27 (m, 1H), 5,20 (s, 2H), 3,49 (s, 3H).

Preparación 9

2-Cloro-5-metoximetoxi-piridina

Suspender hidruro sódico (3,7 g, 93 mmol) en DMF (50 ml) y añadir gota a gota una solución de 2-cloro-5-hidroxipiridina (10 g, 77 mmol) en DMF (20 ml) durante 45 min. Agitar la solución resultante a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Añadir gota a gota clorometilmetil éter (6,6 ml, 86 mmol) durante 45 min. Agitar la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 12 horas. Diluir la mezcla con acetato de etilo, agua y cloruro sódico acuoso saturado. Aislar la solución orgánica y lavar con tres porciones de agua y una porción de cloruro sódico acuoso saturado, secar sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar al vacío. Purificar el producto en bruto por cromatografía en columna sobre 330 g de gel de sílice eluyendo con un gradiente de hexano a acetato de etilo al 30% en hexano durante 20 min y después mantener a acetato de etilo al 30% en hexano durante 30 min, dando el compuesto del título (10,8 g, 81%) en forma de un aceite transparente. EM (EN) *m/z* 174,0 [M+1]⁺.

Preparar el siguiente intermedio con procedimientos similares a los usados para 2-cloro-5-metoximetoxi-piridina.

Prep	Nombre del Compuesto	RMN
10	2-Fluoro-5-metoximetoxi-piridina	RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) δ 3,48 (s, 3H), 5,15 (s, 2H), 6,85 (dd, <i>J</i> = 3,6 Hz, <i>J</i> = 8,8 Hz, 1H), 7,47 (m, 1 H), 7,96 (m, 1 H)

Preparación 11

2-Cloro-4-yodo-5-metoximetoxi-piridina

Añadir gota a gota *tert*-butil litio (1,7 M en pentano, 72 ml, 123 mmol) a una solución de 2-cloro-5-metoximetoxi-piridina (10,8 g, 62 mmol) en THF (300 ml) a -70°C durante 10 min.

- 5 Agitar la solución resultante a -70°C durante 30 min. Añadir gota a gota una solución de yodo (23 g, 92 mmol) en THF (150 ml) durante 30 min. Agitar la solución resultante a -70°C durante 1 hora. Retirar el baño de hielo y permitir que la reacción se caliente a temperatura ambiente. Diluir la mezcla con acetato de etilo y agua y aislar las fases. Extraer la fase acuosa con dos porciones de acetato de etilo. Combinar los extractos orgánicos y lavar con dos porciones de tiosulfato sódico acuoso, una porción de agua y una porción de cloruro sódico acuoso saturado, secar sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar al vacío. Triturar el sólido resultante con hexano. Recoger el sólido por filtración al vacío y lavar el sólido con hexano. Secar el sólido al vacío, dando el compuesto del título (10,8 g, 58%) en forma de un sólido de color pardo. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,08 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 5,43 (s, 2H), 3,40 (s, 3H).

- 15 Preparar el siguiente intermedio usando esencialmente el procedimiento para 2-cloro-4-yodo-5-metoximetoxi-piridina.

Prep	Nombre del Compuesto	RMN
12	2-Fluoro-4-yodo-5-metoximetoxi-piridina	RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) δ 3,53 (s, 3H), 5,23 (s, 2H), 7,39 (d, <i>J</i> =4,0 Hz, 1H), 7,96 (d, <i>J</i> =1,6 Hz, 1H)

Preparación 13

20 6-Cloro-4-yodo-piridin-3-ol

Tratar una solución de 2-cloro-4-yodo-5-metoximetoxi-piridina (8,1 g, 27 mmol) en THF (40 ml) con HCl 3 N (61 ml). Calentar la mezcla resultante a 60°C durante 3-horas. Enfriar la mezcla a temperatura ambiente y ajustar el pH a 7 mediante la adición lenta de una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico. Extraer la mezcla con tres porciones de acetato de etilo. Combinar los extractos orgánicos y secar sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar al vacío, dando el compuesto del título (6,8 g, 98%) en forma de un sólido de color pardo usado sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,04 (s, 1H), 7,81-7,87 (m, 2H).

- 25 Preparar el siguiente intermedio usando esencialmente el procedimiento para 6-cloro-4-yodo-piridin-3-ol.

30

Prep	Nombre del Compuesto	EM (EN) [M+1] ⁺
14	6-Fluoro-4-yodo-piridin-3-ol	240

Preparación 15

2-cloro-5-etoxi-4-yodo-piridina

5 Tratar una solución de 6-cloro-4-yodo-piridin-3-ol (4,9 g, 19 mmol) y carbonato potásico (8,0 g, 58 mmol) en dimetilformamida (50 ml) con yoduro de etilo (4,7 ml, 58 mmol). Calentar a 60°C durante 3 horas. Enfriar la mezcla a temperatura ambiente y filtrar. Diluir la mezcla con acetato de etilo y lavar con una solución acuosa de ácido cítrico al 10%. Combinar las soluciones acuosas y extraer con dos porciones adicionales de acetato de etilo. Combinar los extractos orgánicos y lavar con tres porciones de agua y una porción de cloruro sódico acuoso saturado, secar sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar al vacío, dando el compuesto del título (5,1 g, 93%) en forma de un sólido de color pardo usado sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,00 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 4,18 (c, *J* = 7 Hz, 2H), 1,35 (t, *J* = 7 Hz, 3H).

10

Preparación 16

4-benzo[*b*]tiofen-7-il-2-cloro-piridina

15 En un matraz, combinar 7-bromo-benzo[*b*]tiofeno (1,7 g, 12 mmol), 2-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-piridina (1,6 g, 7 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (285 mg, 0,3 mmol), 2-(di-*terc*-butilfosfino)bifenilo (63 mg, 0,2 mmol), carbonato sódico (2 M, 8 ml, 16 mmol) y THF (20 ml). Calentar la mezcla a 100°C durante 3 horas. Diluir la mezcla con cloroformo/isopropanol (3/1). Lavar la solución con cloruro sódico acuoso saturado. Secar sobre sulfato sódico. Concentrar la solución al vacío, dando un residuo de color oscuro. Purificar por cromatografía en columna (de diclorometano a THF al 20% en diclorometano), proporcionando el compuesto del título (1,14 g, 66%) en forma de un sólido de color amarillo. EM (EN) *m/z* 246 [M+1]⁺.

20

25 Preparar los siguientes compuestos por procedimientos similares a los usados para 4-benzo[*b*]tiofen-7-il-2-cloro-piridina usando DMSO.

Prep	Nombre del Compuesto	EM (EN) [M+1] ⁺	Comentarios
17	4-Benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-piridina	212	Calentar a 100°C, catalizador de Pd(PPh ₃) ₄

Preparación 18

30 4-benzo[*b*]tiofen-7-il-2-fluoro-5-metil-piridina

En un matraz, combinar 2-fluoro-4-yodo-5-metil-piridina (355 mg, 1,5 mmol), 2-benzo[*b*]tiofen-7-il-4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolano (282 mg, 1,8 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (61 mg, 0,07 mmol), 2-(di-*terc*-butilfosfino)bifenilo (13 mg, 0,04 mmol), carbonato sódico (2 M, 1,5 ml, 3 mmol) y THF (10 ml). Calentar la mezcla a 100°C durante 3 horas en un baño de aceite. Diluir la mezcla con cloroformo/isopropanol (3/1). Lavar la solución con cloruro sódico acuoso saturado. Secar sobre sulfato sódico. Concentrar al vacío, dando un residuo de color oscuro. Purificar por cromatografía en columna (acetato de etilo al 20% en hexano), proporcionando el compuesto del título (300 mg, 82%) en forma de un aceite de color amarillo. EM (EN) *m/z* 244 [M+1]⁺.

Preparar los siguientes intermedios esencialmente de acuerdo con la preparación de 4-benzo[*b*]tiofen-7-il-2-fluoro-5-metil-piridina usando el material de partida adecuado.

Prep	Nombre del Compuesto	Datos Físicos EM (EN) <i>m/z</i> [M+1] ⁺	Comentarios
19	Éster <i>terc</i> -butílico del ácido (4-Benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-6-fluoro-piridin-3-il)-carbámico	345	atmósfera de N ₂
20	4-Benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-2-fluoro-piridin-3-ilamina	345	atmósfera de N ₂
21	4-Benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-2-cloro-5-etoxi-piridina	290	atmósfera de N ₂
22	Éster <i>terc</i> -butílico del ácido (4-benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-6-fluoro-piridin-3-il)-carbámico	345	desoxigenado (N ₂)
23	Éster <i>terc</i> -butílico del ácido (4-benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il-piridin-3-il)-metil-carbámico	325	desoxigenado (N ₂)

15 Preparación 24

4-Benzo[*b*]tiofen-7-il-3-metoximetoxi-piridina

Solución A: tratar gota a gota una solución de 3-metoximetoxi-piridina (2,5 g, 18 mmol) en éter dietílico (90 ml) a -70°C con *terc*-butil litio (1,7 M en pentano, 10 ml, 18 mmol) durante 10 min. Agitar la mezcla a -70°C durante 40 min y añadir gota a gota una solución de borato de triisopropilo (5 ml, 22 mmol) en THF (10 ml) durante 5 min. Agitar la mezcla a -70°C durante una hora y después retirar el baño de hielo y dejar que la mezcla se caliente lentamente a temperatura ambiente.

Solución B: tratar una solución de 7-bromo-benzo[*b*]tiofeno (3,8 g, 18 mmol), 2-(di-*terc*-butilfosfino)bifenilo (268 mg, 0,90 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) y complejo con diclorometano (1:1) (732 mg, 0,90 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) con carbonato

sódico acuoso 2 M (72 ml, 36 mmol). Una vez que la solución A alcance la temperatura ambiente, calentar la solución a 80°C.

Tratar gota a gota la solución B con la solución A durante 10 min. Calentar la solución combinada a 85°C durante 5 horas. Enfriar la mezcla a temperatura ambiente y diluir con acetato de etilo y agua. Lavar la fase orgánica con agua y cloruro sódico acuoso saturado, secar sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar al vacío. Purificar el producto en bruto por cromatografía en columna sobre 120 g de gel de sílice eluyendo con un gradiente de diclorometano a acetato de etilo, dando el compuesto del título (3,8 g) que contiene una pequeña cantidad de la 3-metoximetoxi-piridina de partida. Usar el producto sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,68 (s, 1H), 8,42 (d, *J* = 4 Hz, 1H), 7,88 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,33-7,50 (m, 5H), 5,12 (s, 2H), 3,36 (s, 3H).

Preparación 25

2-Cloro-4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidina

En un matraz de fondo redondo de 500 ml, enfriar una solución de 4-benzo[*b*]tiofen-7-il-2-cloro-piridina (13 g, 53,1 mmol) y borato de triisopropilo (20 g, 106 mmol) en THF (150 ml) a -70°C en una atmósfera de nitrógeno. Añadir gradualmente a la solución refrigerada diisopropilamida de litio (2 M en THF, 53 ml, 106 mmol) durante un periodo de 30 min. Agitar la mezcla continuamente durante 1 hora más en el baño de refrigeración. Transferir gradualmente la mezcla a una solución a la temperatura de reflujo de 2,4-dicloro-pirimidina (12 g, 106 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (2,2 g, 53 mmol) y carbonato sódico (35 ml, 3 M, 106 mmol) en THF (150 ml) durante un periodo de 30 min. Calentar a reflujo durante una 1 hora más. Enfriar la mezcla a temperatura ambiente y diluir con 500 ml de cloroformo/isopropanol (3/1) y 200 ml de agua. Recoger el sólido resultante por filtración y reservar la mezcla de cloroformo/isopropanol/agua. Lavar el producto sólido con diclorometano y secarlo al vacío. Separar las fases de la mezcla de cloroformo/isopropanol/agua. Lavar la fase orgánica con agua y cloruro sódico acuoso saturado, secar sobre sulfato sódico y concentrar al vacío, dando un residuo de color pardo. Purificar el residuo por cromatografía en columna ultrarrápida (metanol al 10% en diclorometano), proporcionando más cantidad de producto. Combinar las dos porciones, dando el compuesto del título (13 g, 68%) EM (EN) *m/z* 358 [M+1]⁺.

Preparar los siguientes intermedios esencialmente de acuerdo con la preparación de 2-cloro-4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidina usando el material de partida adecuado.

Prep	Nombre del Compuesto	Datos Físicos EM (EN) m/z [M+1] ⁺	Comentarios
26	2-Cloro-5-fluoro-4-(7-piridin-4-il-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-pirimidina	342	
27	2-Cloro-5-metil-4-(7-piridin-4-il-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-pirimidina	338	
28	2-Cloro-5-fluoro-4-[7-(2-fluoro-5-metil-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-pirimidina	374	
29	2-Cloro-4-[7-(2-fluoro-5-metil-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-metil-pirimidina	370	
30	2-Cloro-4-[7-(2-fluoro-5-metil-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-pirimidina	356	Aditivo: 2-(di- <i>terc</i> -butilfosfino)bifenilo
31	2-Cloro-5-fluoro-4-[7-(3-metoximetoxi-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-pirimidina	402	
32	2-Cloro-4-[7-(2-cloro-5-etoxi-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-fluoro-pirimidina	420	
33	Éster <i>terc</i> -butílico del ácido {4-[2-(2-cloro-pirimidin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-7-il]-6-fluoro-piridin-3-il}-carbámico	457	
34	4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-cloro-5-fluoro-pirimidina	343	
35	2,5-Dicloro-4-[7-(2-fluoro-5-metil-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-pirimidina	390	Aditivo: 2-(di- <i>terc</i> -butilfosfino)bifenilo
36	4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-cloro-5-cloro-pirimidina	361	
37	4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-cloro-5-metil-pirimidina	340	CGEM (IE) M ⁺
38	4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-2-cloro-pirimidina	327	

Preparación 39

4-[2-(2-Cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-7-il]-piridin-3-ol

Tratar una solución de 2-cloro-5-fluoro-4-[7-(3-metoximetoxi-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidina (4 g, 10 mmol) en THF (10 ml) con HCl 5 N (3 ml). Agitar la mezcla a

temperatura ambiente durante 6 horas. Concentrar la reacción al vacío y diluir con bicarbonato sódico acuoso saturado y diclorometano. Separar las fases y filtrar cada fase. Lavar el producto sólido de la fase orgánica con diclorometano, dando el compuesto del título (300 mg) en forma de un sólido de color castaño. Lavar el producto sólido de la fase acuosa con agua y secar, dando el compuesto del título (300 mg) en forma de un sólido de color castaño. Combinar los productos sólidos, dando el compuesto del título (600 mg, 17%) en forma de un sólido de color castaño. EM (EN) m/z 358 $[M+1]^+$.

Preparación 40

2-Cloro-4-[7-(3-etoxi-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoro-pirimidina

10 Tratar una solución de 4-[2-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-7-il]-piridin-3-ol (100 mg, 0,28 mmol) y carbonato de cesio (100 mg, 0,28 mmol) en dimetilformamida (1 ml) con yoduro de etilo (44 mg, 0,28 mmol). Agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 12 horas. Diluir la mezcla con acetato de etilo y lavar la solución con tres porciones de agua y una porción de cloruro sódico acuoso saturado, secar sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar al vacío. Purificar el producto en bruto por cromatografía en columna sobre 12 g gel de sílice eluyendo con un gradiente de diclorometano a acetato de etilo, dando el compuesto del título (48 mg, 45%) en forma de un sólido de color pardo. EM (EN) m/z 386 $[M+1]^+$.

Preparación 41

2-Cloro-5-fluoro-4-[7-(3-metoxi-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidina

20 Preparar el compuesto del título esencialmente de acuerdo con la preparación de 2-cloro-4-[7-(3-etoxi-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoro-pirimidina usando el material de partida adecuado. EM (EN) m/z 372 $[M+1]$

Preparación 42

1-{2-[4-(7-Bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-5-fluoro-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona

25 Combinar 1-(2-aminoetil)-2-imidazolona (100 g, 774 mmol) con 4-(7-bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-2-cloro-5-fluoro-pirimidina (90 g, 262 mmol) en 1,4-dioxano (650 ml) y calentar a 90°C con agitación en una atmósfera de nitrógeno durante 3 horas. Enfriar la reacción a temperatura ambiente. Filtrar y lavar el producto sólido con agua (3 x 500 ml) y éter dietílico (500 ml). Secar al vacío a 50°C, dando el compuesto del título (59,2 g, 52%) en forma de un sólido de color amarillo. EM (EN) m/z 436 $[M+1]^+$.

30 Preparar los siguientes intermedios esencialmente de acuerdo con la preparación de 1-{2-[4-(7-bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-5-fluoro-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona usando el material de partida adecuado.

Prep	Nombre del Compuesto	Datos Físicos EM (EN) <i>m/z</i> [M+1] ⁺
43	1-{2-[4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-5-cloro-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona	454
44	1-{2-[4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-5-metil-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona	432
45	1-{2-[4-(7-Bromo-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona	420

Preparación 46

5-Bromometil-2-fluoro-4-yodo-piridina

En un matraz, combinar 2-fluoro-4-yodo-picolina (10,0 g, 42,19 mmol), *N*-bromosuccinimida (9,76 g, 54,85 mmol), 2,2'-azobisisobutironitrilo (3,46 g, 21,10 mmol) y CCl₄ seco (100 ml). Calentar a 70°C en una atmósfera de nitrógeno durante 16 horas. Enfriar a temperatura ambiente. Diluir con diclorometano y lavar con agua y cloruro sódico acuoso saturado. Separar las fases y secar la fase orgánica sobre sulfato de magnesio. Concentrar al vacío, dando el producto en bruto. Purificar por cromatografía en columna (acetato de etilo del 1% al 15% en hexano), proporcionando el compuesto del título (8,27 g, 62%). EM (IE) *m/z* 315 M⁺.

Preparación 47

1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}-etil)-imidazolidin-2-ona

Combinar 1-{2-[4-(7-bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-5-fluoro-pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona (5,5 g, 12,6 mmol), bis(pinacolato)diboro (3,84 g, 15,3 mmol), (1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno)dicloropaladio (II) (1,0 g, 1,3 mmol), acetato potásico (2,5 g, 25 mmol) en DMSO (80 ml) en un matraz. Burbujear nitrógeno a través de la mezcla durante 10 min. Cerrar herméticamente el matraz e introducirlo en un baño de aceite para calentarlo a 85°C durante una noche. Diluir la mezcla con cloroformo/alcohol isopropílico (3/1). Lavar la solución con cloruro sódico acuoso saturado. Secarla sobre sulfato sódico. Concentrar la solución al vacío, dando un residuo de color oscuro. Purificar el residuo por cromatografía en columna (hexano → acetato de etilo al 20% en hexano → metanol al 10% en diclorometano), proporcionando el producto en forma de un sólido de color pardo (5 g, 82%). EM (EN) *m/z* 484 [M+1]⁺.

Preparación 48

(6-Fluoro-4-yodo-piridin-3-il)-metanol

Combinar 5-bromometil-2-fluoro-4-yodo-piridina (0,9 g, 2,85 mmol), nitrometano (15 ml, 278 mmol), tetrafluoroborato de plata (721 mg, 3,7 mmol) y dimetilformamida (5 ml) en un matraz de fondo redondo. Agitar la mezcla durante una noche a temperatura ambiente. Añadir a la mezcla carbonato sódico (1,81 g, 17,1 mmol) y metanol (10 ml). Agitar a temperatura ambiente durante otras 4 horas. Diluir la mezcla de reacción con cloroformo y lavar con agua y cloruro sódico acuoso saturado. Separar la fase orgánica de la fase acuosa y secar sobre MgSO₄. Después de la filtración, evaporar el disolvente orgánico al vacío, dando el producto en bruto. Purificar el producto en bruto con cromatografía en columna ultrarrápida (eluyendo con metanol al 10% en diclorometano), dando el producto deseado (0,6 g, 83%). EM (EN) *m/z* 254 [M+1]⁺.

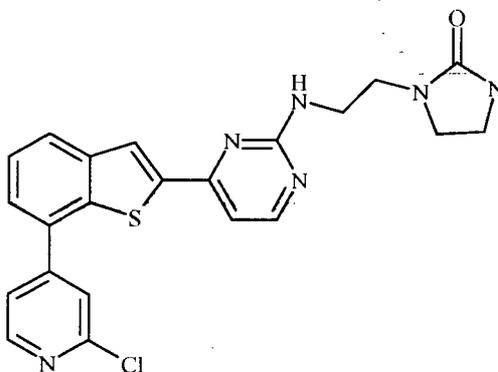
Preparación 49

2-Fluoro-5-fluorometil-4-yodo-piridina

Añadir gota a gota trifluoruro de dietilaminoazufre (892 mg, 4 mmol) a una solución de (6-fluoro-4-yodo-piridin-3-il)-metanol en diclorometano (25 ml) en un matraz de fondo redondo en una atmósfera de nitrógeno y después añadir etanol (0,3 ml) a 0-5°C. Agitar la mezcla durante 3 horas. Verter la mezcla de reacción en una solución saturada de bicarbonato sódico. Extraer el producto en cloroformo y lavar con agua y cloruro sódico acuoso saturado. Separar la fase orgánica de la fase acuosa y secar sobre MgSO₄. Después de la filtración, evaporar el disolvente orgánico al vacío, dando un producto en bruto. Purificar el producto en bruto por cromatografía en columna ultrarrápida (metanol al 10% en diclorometano), dando el compuesto del título (0,32 g, 53%). EM (EN) *m/z* 256 [M+1]⁺.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

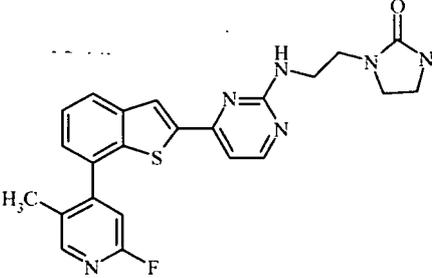
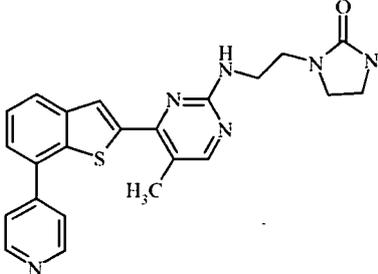
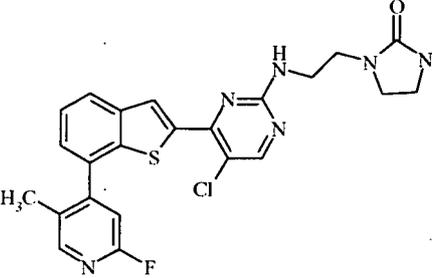
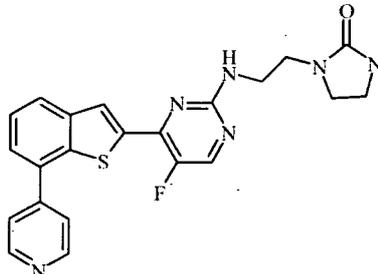
1-(2-{4-[7-(2-Cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona

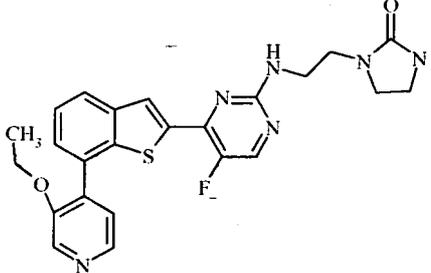
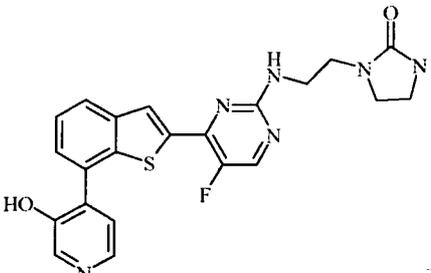
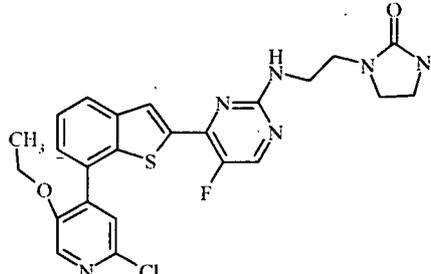
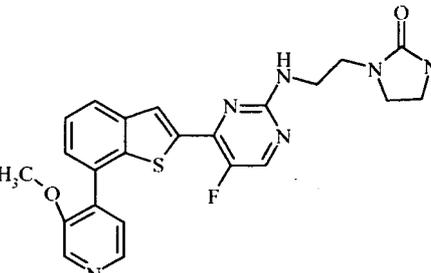
Combinar 2-cloro-4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidina (9 g, 25,1 mmol) y 2-(amino-etil)-1,3-dihidro-imidazol-ona (6,4 g, 50,2 mmol) en *n*-butanol (200 ml) en un recipiente a presión. Calentar la mezcla en un baño de aceite a 120°C durante 5 horas. Diluir la mezcla con cloroformo/isopropanol (3/1). Lavar la solución con cloruro sódico acuoso saturado.

5 Secar sobre sulfato sódico. Concentrar la solución al vacío, dando un residuo de color oscuro. Purificar por cromatografía en columna (de diclorometano a metanol al 10% en diclorometano), proporcionando el compuesto del título (9 g, 93%) en forma de un sólido de color amarillo. EM (EN) *m/z* 451 [M+1]⁺.

10 Preparar los siguientes ejemplos esencialmente de acuerdo con la preparación de 1-(2-{4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil)-imidazolidin-2-ona usando el material de partida adecuado.

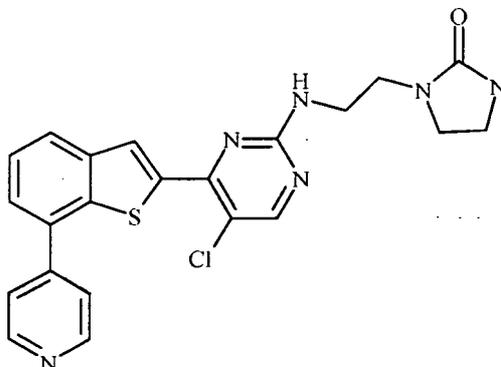
Ej	Nombre del Compuesto	Estructura	Datos Físicos EM (EN) <i>m/z</i> [M+1] ⁺	Comentarios
2	1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(2-fluoro-5-metilpiridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		467	Microondas, 1,4-dioxano-NMP 120°C
3	1-(2-{4-[7-(2-Fluoro-5-metilpiridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		463	Microondas, 1,4-dioxano-NMP 120°C

Ej	Nombre del Compuesto	Estructura	Datos Físicos EM (EN) m/z $[M+1]^+$	Comentarios
4	1-(2-{4-[7-(2-Fluoro-5-metilpiridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona		449	Aditivo: Trietilamina - 3 equivalentes
5	1-{2-[5-Metil-4-(7-piridin-4-il-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino]-etil}imidazolidin-2-ona		431	Microondas, NMP 120°C
6	1-(2-{5-Cloro-4-[7-(2-fluoro-5-metilpiridin-4-il)benzo[<i>h</i>]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		483	Aditivo: Trietilamina - 3 equivalentes
7	1-{2-[5-Fluoro-4-(7-piridin-4-il-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino]-etil}imidazolidin-2-ona		435	Microondas, NMP 120°C

Ej	Nombre del Compuesto	Estructura	Datos Físicos EM (EN) m/z $[M+1]^+$	Comentarios
8	1-(2-{4-[7-(3-Etoxipiridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		479	
9	1-(2-(5-Fluoro-4-(7-(3-hidroxipiridin-4-il)benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino)etil)imidazolidin-2-ona		451	
10	1-(2-{4-[7-(2-Cloro-5-etoxipiridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona		513	
11	1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(3-metoxipiridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona		465	

Ejemplo 12

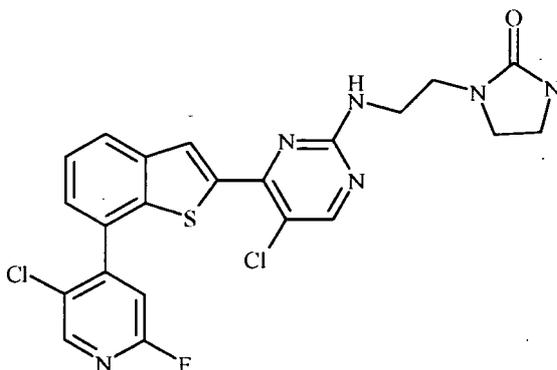
1-(2-(5-Cloro-4-(7-(piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino)etil)imidazolidin-2-ona



Combinar 1-{2-[4-(7-bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-5-cloro-pirimidin-2-ilamino]-etil}-
 5 imidazolidin-2-ona (81,6 mg, 0,18 mmol), ácido piridin-4-borónico (36,8 mg, 0,3 mmol) y
 bicarbonato sódico (18,1 mg, 0,2 mmol) en una mezcla de agua (1 ml) y DMSO (1 ml). Añadir
 tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (10,4 mg, 0,009 mmol). Irradiar la mezcla a 150°C durante
 15 min con agitación magnética. Verter la mezcla de reacción en bruto en una columna de
 intercambio catiónico fuerte (SCX) (10 g). Eluir el producto deseado con amoníaco 2 N en
 10 metanol (40 ml) y concentrar a presión reducida. Purificar por cromatografía de fase inversa
 (gradiente de 30 a 90% a 80 ml/min durante 11 min sobre una columna C₁₈ MS Xterra® de 30
 x 100 mm, 5 mm, Disolvente A: agua con bicarbonato de amonio 0,01 M, Disolvente B:
 acetonitrilo), proporcionando el compuesto del título (20,4 mg, 25,1%). EM (EN) *m/z* 451
 [M+1]⁺.

Ejemplo 13

1-(2-{5-Cloro-4-[7-(5-cloro-2-fluoropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona

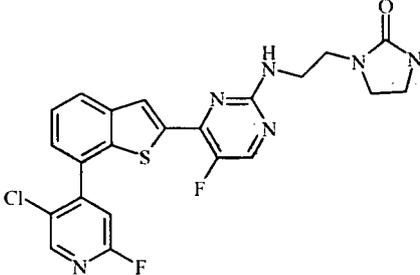
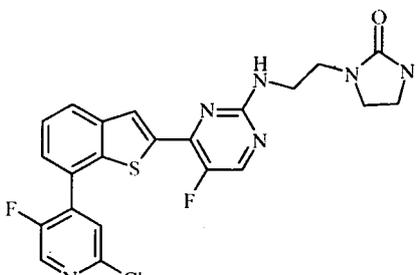
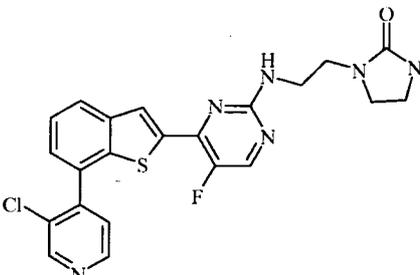
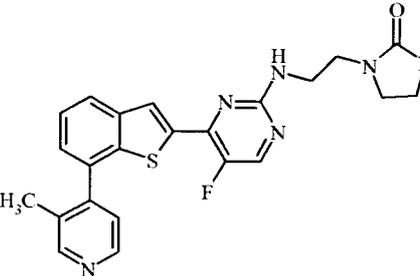


En un vial para microondas, combinar 1-{2-[4-(7-bromo-benzo[*b*]tiofen-2-il)-5-cloro-
 20 pirimidin-2-ilamino]-etil}-imidazolidin-2-ona (500 mg, 1,1 mmol), ácido 5-cloro-2-fluoropiridin-4-
 borónico (578 mg, 3,3 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con

diclorometano (1:1) (90 mg, 0,11 mmol), 2-(di-*tert*-butilfosfino)bifenilo (20 mg, 0,066 mmol) y carbonato sódico (350 mg, 3,3 mmol) en THF (3 ml) y agua (1,5 ml). Burbujear nitrógeno a través de la mezcla durante 5 min. Calentar la mezcla a 100°C durante 10 min. Concentrar la fase orgánica a sequedad al vacío. Formar una suspensión del sólido resultante en diclorometano/metanol y purificar por cromatografía en columna (de solución de amoniaco 2 N al 1%/metanol en diclorometano a solución de amoniaco 2 N al 10%/metanol en diclorometano), proporcionando el compuesto del título. Para la purificación adicional, disolver el producto en DMSO y purificar por cromatografía en columna de fase inversa (de acetonitrilo en agua al 50% (con HCl al 0,03%) a acetonitrilo en agua al 95% (con HCl) al 0,03%), proporcionando el compuesto del título (146 mg, 26%). EM (EN) m/z 503 [M+1]⁺.

Preparar los siguientes ejemplos esencialmente de acuerdo con la preparación de 1-(2-{5-cloro-4-[7-(5-cloro-2-fluoropiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona usando el material de partida adecuado.

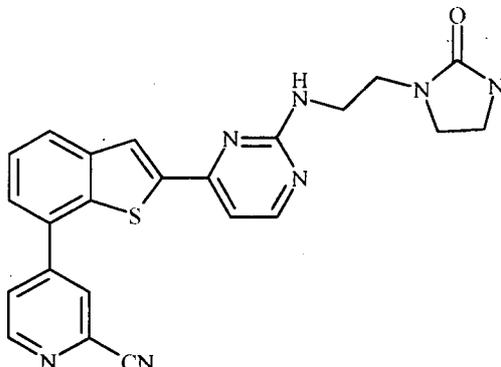
Ej	Nombre del Compuesto	Estructura	Datos Físicos EM (EN) m/z [M+1] ⁺	Comentarios
14	1-(2-{4-[7-(2-Cloro-piridin-4-il)-benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		469	
15	1-(2-{5-Cloro-4-[7-(2-cloropiridin-4-il)benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		486	

Ej	Nombre del Compuesto	Estructura	Datos Físicos EM (EN) m/z $[M+1]^+$	Comentarios
16	1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-fluoropiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		487	Purificar por fase inversa, CH ₃ CN y agua
17	1-(2-{4-[7-(2-Cloro-5-fluoropiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		487	Purificar por fase inversa, CH ₃ CN y agua
18	1-(2-{4-[7-(3-Cloro-piridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		469	Purificar por fase inversa, CH ₃ CN y agua
19	1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(3-metilpiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		449	Purificar por fase inversa, CH ₃ CN y agua

Ej	Nombre del Compuesto	Estructura	Datos Físicos EM (EN) m/z $[M+1]^+$	Comentarios
20	1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-fluoropiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		483	Purificar por fase inversa, CH ₃ CN y agua
21	1-(2-{4-[7-(2,5-Dicloropiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		503	
22	1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(2-fluoropiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		453	
23	1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-fluoropiridin-4-il)-benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		469	

Ejemplo 24

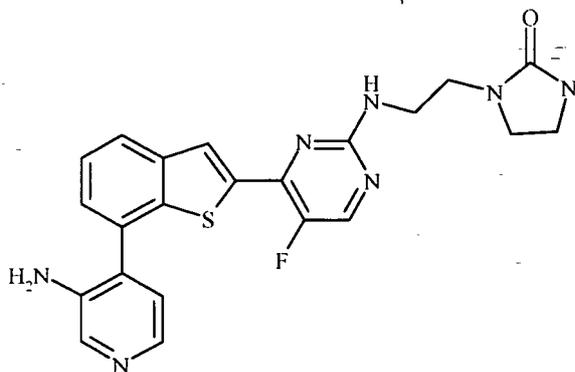
4-(2-(2-(2-(2-Oxoimidazolidin-1-il)etilamino)pirimidin-4-il)benzo[*b*]tiofen-7-il)picolinonitrilo



5 Combinar 1-(2-{4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona (100 mg, 0,22 mmol), cianuro de cinc (51 mg, 0,44 mmol), tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (10 mg, 0,01 mmol) y 1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno (6 mg, 0,01 mmol) en DMSO (6 ml). Calentar la mezcla a 100°C durante 4 horas. Enfriar la mezcla a temperatura ambiente y cargar en una columna de sílice. Eluir la columna con metanol al 10% en diclorometano, proporcionando el compuesto del título (0,7 g, 72%) en
10 forma de un aceite de color amarillo. EM (EN) m/z 442 $[M+1]^+$.

Ejemplo 25

1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-2-fluoropirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona

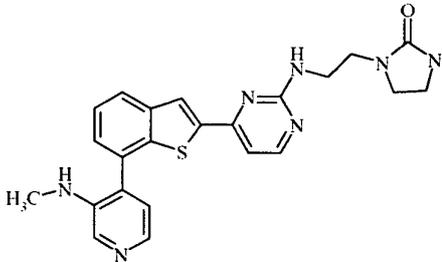
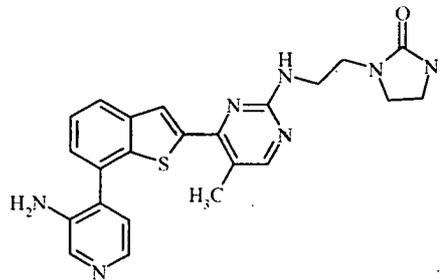


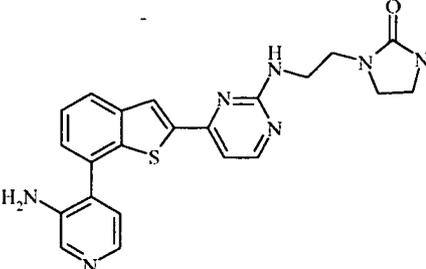
15 Combinar *N*-{4-[2-(2-cloro-5-fluoro-pirimidin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-7-il]-piridin-3-il}-2,2-dimetil-propionamida (330 mg, 0,75 mmol), 2-(amino-etil)-1,3-dihidro-imidazolona (386 mg, 3,0 mmol) y 1,4-dioxano (6 ml) en un vial tapado y calentar a 85°C durante 4 horas. Concentrar al vacío. Diluir la mezcla con diclorometano y agua. Lavar la solución orgánica con agua. Secar la solución orgánica sobre sulfato sódico. Filtrar y concentrar al vacío la solución, dando un
20 residuo de color oscuro. Purificar por cromatografía en columna (de diclorometano a metanol al

7% en diclorometano), proporcionando *N*-[4-(2-{5-fluoro-2-[2-(2-oxo-imidazolidin-1-il)-etilamino]-pirimidin-4-il]-benzo[*b*]tiofen-7-il)-piridin-3-il]-2,2-dimetil-propionamida.

Transferir el intermedio de amida a un vial tapado con un tapón de goma de 40 ml. Añadir una barra de agitación magnética y cargar agua (20 ml) y H₂SO₄ concentrado (5 ml) al vial. Calentar el vial a 90°C en un baño de aceite durante 5 horas. Enfriar la reacción a temperatura ambiente y hacerla pasar a través de una columna SCX (10 g). Eluir con 1:1 de agua/metanol, después con metanol al 100% y después con 1:1 de diclorometano/metanol y, finalmente, retirar el producto por elución con amoniaco 2 M en metanol al 10%/diclorometano al 90%. Concentrar al vacío. Someter a cromatografía sobre sílice (80 g) eluyendo con un gradiente de solución del 0% al 10% de amoniaco 2 M/metanol en diclorometano. Secar en una estufa de vacío a 42°C durante 2 horas, dando el compuesto del título (192,6 mg, 48%) en forma de un sólido de color dorado. EM (EN) *m/z* 450 [M+1]⁺.

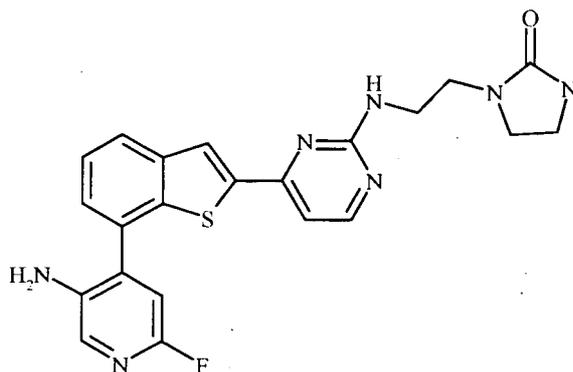
Preparar los siguientes ejemplos esencialmente de acuerdo con la preparación de 1-(2-{4-[7-(3-amino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}-etil)imidazolidin-2-ona usando el material de partida adecuado.

Ej.	Nombre del Compuesto	Estructura	Datos Físicos EM (EN) <i>m/z</i> [M+1] ⁺
26	1-(2-{4-[7-(3-Metilamino-piridin-4-il)benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		446
27	1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[<i>b</i>]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		446

Ej.	Nombre del Compuesto	Estructura	Datos Físicos EM (EN) m/z $[M+1]^+$
28	1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[b]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona		432

Ejemplo 29

1-(2-{4-[7-(5-Amino-2-fluoropiridin-4-il)benzo[b]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona



5

Combinar éster *terc*-butílico del ácido {4-[2-(2-cloro-pirimidin-4-il)-benzo[b]tiofen-7-il]-6-fluoro-piridin-3-il}-carbámico (813 mg, 1,77 mmol), 2-(amino-etil)-1,3-dihidro-imidazol-ona (919 mg, 7,11 mmol) y 1,4-dioxano (22 ml) en un vial tapado y calentar a 70°C durante 15 horas. Concentrar al vacío. Diluir la mezcla con diclorometano y agua. Lavar la solución orgánica con agua. Secar la solución orgánica sobre sulfato sódico. Filtrar y concentrar la solución al vacío, dando un residuo de color oscuro. Purificar por cromatografía en columna (de diclorometano a acetato de etilo), proporcionando éster *terc*-butílico del ácido [6-fluoro-4-(2-{2-[2-(2-oxo-imidazolidin-1-il)-etilamino]-pirimidin-4-il]-benzo[b]tiofen-7-il]-piridin-3-il]-carbámico.

10

15

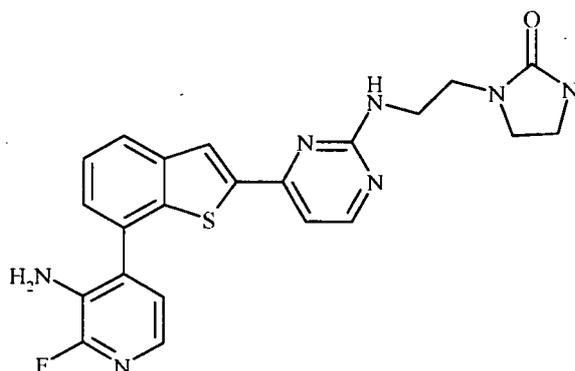
Disolver el éster *terc*-butílico del ácido [6-fluoro-4-(2-{2-[2-(2-oxo-imidazolidin-1-il)-etilamino]-pirimidin-4-il]-benzo[b]tiofen-7-il]-piridin-3-il]-carbámico en diclorometano y adsorber sobre gel de sílice (10 g) por medio de concentración al vacío. Secar a alto vacío durante 24 horas. Colocar el gel de sílice en un matraz de fondo redondo y calentar en un baño de aceite de temperatura controlada a 98-99°C mientras se mantiene a alto vacío durante 2 horas.

Enfriar a temperatura ambiente. Extraer el producto del gel de sílice con amoníaco 7 N en metanol al 10%/diclorometano al 90%. Concentrar al vacío. Someter a cromatografía sobre sílice eluyendo con un gradiente de diclorometano al 100% a amoníaco 2 N en metanol al 7%/diclorometano al 93%, proporcionando el compuesto del título (65,2 mg, 8,2%). EM (EN)

5 m/z 450 $[M+1]^+$.

Ejemplo 30

1-(2-{4-[7-(3-Amino-2-fluoropiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona

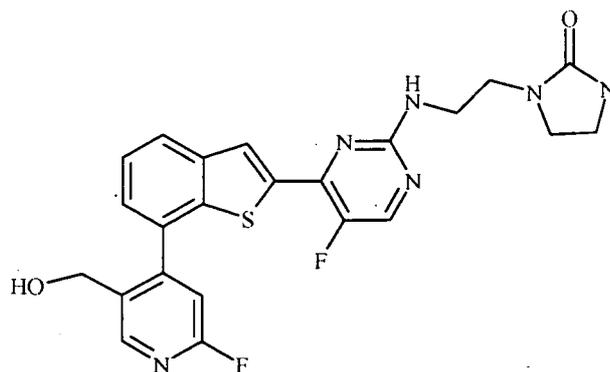


10 Preparar el compuesto del título esencialmente de acuerdo con la preparación de 1-(2-{4-[7-(5-amino-2-fluoro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}-etil)-imidazolidin-2-ona usando el material de partida adecuado. EM (EN) m/z 450 $[M+1]^+$.

Ejemplo 31

1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(2-fluoro-5-hidroximetil-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona

15



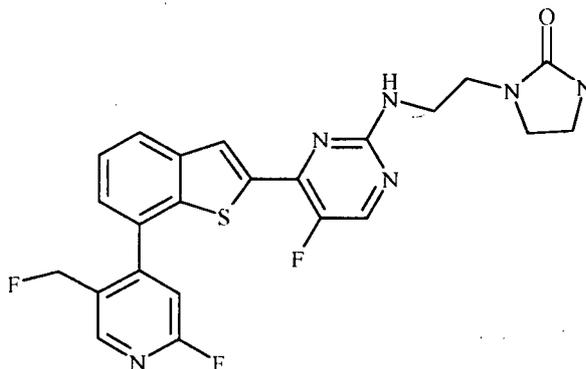
20 Combinar 1-(2-{5-fluoro-4-[7-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}-etil)-imidazolidin-2-ona (120 mg, 0,25 mmol), (6-fluoro-4-yodo-piridin-3-il)-metanol (100 mg; 0,32 mmol), cloruro de (1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno)paladio (II) (10,14 mg; 0,01 mmol), 2-(di-*terc*-butilfosfino)bifenilo (2 mg; 0,01 mmol) y carbonato sódico (2 M, 0,2 ml, 0,4 mmol) en 5 ml de dioxano en un tubo de presión. Calentar la mezcla a 100°C durante

una noche en un baño de aceite. Enfriar la mezcla a temperatura ambiente y diluirla con cloroformo-alcohol isopropílico (3/1). Lavar la fase orgánica con cloruro sódico acuoso saturado, secarla sobre sulfato sódico y concentrarla hasta que se produzca un residuo oleoso. Purificar el producto en bruto por cromatografía en columna ultrarrápida (metanol al 10% en diclorometano), proporcionando el compuesto del título (25 mg, 21%). EM (EN) m/z 483 $[M+1]^+$.

5

Ejemplo 32

1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(2-fluoro-5-(fluorometil)piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-ona



10 Combinar 1-(2-{5-fluoro-4-[7-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino}-etil)-imidazolidin-2-ona (120 mg, 248,26 μ mol), 2-fluoro-5-fluorometil-4-yodo-piridina (100 mg, 392,15 μ mol), tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (11,37 mg; 12,41 μ mol), triciclohexilfosfina (2,09 mg, 7,45 μ mol) y fosfato potásico (105,39 mg, 496,51 μ mol) en 5 ml de dioxano en un tubo de presión cerrado herméticamente. Calentar la mezcla a 100°C

15 durante 3 horas en el baño de aceite. El análisis por CL-EM muestra un pico en 485. Enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente y diluirla con cloroformo-alcohol isopropílico (3/1). Lavar la solución orgánica con cloruro sódico acuoso saturado, secarla sobre sulfato sódico y concentrarla para obtener un producto en bruto. Purificar el producto en bruto por cromatografía a nivel (metanol al 10% en diclorometano), dando el producto diana (70 mg,

20 58,2%). EM (EN) m/z 485 $[M+1]^+$.

Ensayos

Plk1 ha mostrado que se sobre expresa en muchos tumores humanos, tales como cánceres no microcítico de pulmón, orofaríngeo, esofágico, gástrico, melanoma, de mama, de ovarios, de endometrio, colorrectal, glioblastoma, papilar, pancreático, de próstata,

25 hepatoblastoma y linfoma no Hodgkin. Además, la expresión de Plk1 tiene importancia en pronóstico de cánceres no microcítico de pulmón, orofaríngeo, esofágico, melanoma, colorrectal, hepatoblastoma y linfoma no Hodgkin (Strebhardt, K. y A. Ullrich (2006). Nature Reviews Cancer 6(4): 321-30). Los sustratos fosforilados de Plk1 regulan la progresión de

mitosis mediante la coordinación de la maduración del centrosoma, entrada en mitosis, separación de cromátidas hermanas y citocinesis (Eckerdt y Strebhardt 2006; Strebhardt y Ullrich 2006; van de Weerd, B. C. y R. H. Medema (2006). Cell Cycle 5(8): 853-64). La inhibición de la función de Plk1 usando inyección de anticuerpos, expresión de un Plk1 negativo dominante y reducción de ARNm anti sentido produce husos monopolo y detención de la anafase que conduce a muerte celular mitótica en líneas celulares tumorales pero detención en G2 reversible en líneas celulares primarias no transformadas normales.

Adicionalmente, se ha indicado que Plk puede ser útil en el tratamiento de tumores rabdoideos (Morozov. A., y col, Clinical Cancer Research. 13(16):4721-30 (15 de agosto de 2007).

B1-2536 ha demostrado actividad en modelos preclínicos usando xenotransplantes murinos de HCT116, A549 y NCIH460 (Baum, A., P. Garin-Chesa, y col. (2006). #C191 In vivo activity of BI 2536, a potent and selective inhibitor of the mitotic kinase PLK1, in a range of cancer xenografts. AACR-NCI-EORTC Conferencia Internacional sobre "Dianas Moleculares y Compuestos Terapéuticos de Cáncer", Philadelphia, PA).

Los resultados de los siguientes ensayos muestran pruebas de que los compuestos de la presente invención son útiles como agentes antineoplásicos.

Expresión y purificación de Plk1.

El ADNc de Plk1 humano, que puede obtenerse de varias fuentes, tal como Incyte (número de acceso: NM_005030), puede unirse directamente en uno de sus extremos con una secuencia de polinucleótido que expresa un marcador His₆, tal como el marcador C-terminal FLAG-His₆, e insertarse en un vector de expresión apropiado, tal como un vector pFastBac™ (Invitrogen) y transfectarse en un sistema apropiado, tal como baculovirus similar al que se ha notificado por Yue-Wei Qian, y col., Science 282, 1701 (1998) para xPlk1. Si se usa un sistema de expresión viral, entonces el virus (por ejemplo, baculovirus que porta una construcción de polinucleótido de marcador Plk1-Flag-His₆) se infecta en un cultivo de una célula huésped adecuada, tal como células Sf9. Cuando se han expresado suficientes cantidades de la proteína de fusión de marcador Plk1-Flag-His₆, por ejemplo, aproximadamente 46 horas después de la infección, el cultivo debería tratarse con ácido okadaico (0,1 μM) durante un periodo suficiente de tiempo (por ejemplo, 3 horas). La fusión de marcador Plk1-Flag-His₆ se purifica de sedimentos celulares usando una resina de afinidad metálica, tal como TALON™ (Clontech, N° de Catalogo 635503) usando procedimientos bien conocidos en la técnica. La fusión de marcador Plk1-Flag-His₆ purificado se almacena en un medio adecuado, tal como HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, TRITON® X-100 0,01%-; ditiotreitól 1mM (DTT), glicerol al 10%, pH 7,5, a -80°C en alícuotas pequeñas hasta su uso. La identidad

de la proteína de fusión de marcador Plk1-Flag-His₆ purificada se confirma mediante MALDI (desorción/ionización con láser asistida por matriz).

Expresión y purificación de GST-Cdc25C(1-206).

5 El ADNc humano Cdc25C, que puede obtenerse de cualquier fuente apropiada, tal como Incyte (número de acceso: AY497474), puede expresarse en cualquier sistema de expresión conveniente, después de lo cual se efectúa purificación mediante procedimientos bien conocidos similares a los descritos en Bin Ouyang y col, Oncogene, 18, 6029 - 6036 (1999). Un sistema conveniente implica crecimiento durante una noche a 18°C de *E. coli* BL21 transformada con el vector pGEX-2T (Amersham) en el que el ADNc de Cdc25C humano se ha desarrollado por ingeniería genética para que se induzca la expresión usando isopropil-beta-D-tiogalactopiranosido 1 mM. El GST-Cdc25C expresado (1-206), el sustrato para Plk1, puede purificarse mediante GLUTATHIONE SEPHAROSE® 4B y almacenarse en una solución apropiada, tal como HEPES 10 mM, NaCl 100 mM, pH 7,5 en pequeñas alícuotas a -80°C.

Ensayo de inhibición de Plk1

15 Las reacciones de Plk1 quinasa contienen enzima de fusión de marcador Plk1-Flag-His₆ (0,2 ng/μl) en un tampón que contiene HEPES 50mM, pH 7,3, ditioneitol 1,0 mM, ATP 5,0 μM, MgCl₂ 10 mM, TRITON® X-100 0,01%, ³³P-ATP 0,4 μCi y péptido GST-Cdc25c (1-206) 0,06 mg/μl. Los compuestos se proporcionan como reservas de 10 mM en DMSO. Los compuestos se diluyen en serie a 1:3 en DMSO al 20% para crear una curva de respuesta-concentración de 20 puntos y posteriormente se diluyen a 1:5 (20 μM a 0,001 μM final en una concentración de DMSO final del 4%) en la mezcla de reacción para determinar la actividad del compuesto. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente durante 60 minutos y después se interrumpe mediante la adición de 60 μl de H₃PO₄ al 10,0%. La mezcla de reacción (85 μl) se transfiere a una placa de filtro de fosfocelulosa de 96 pocillos pre humectada con 30 μl de H₃PO₄ al 10%, se incuba a temperatura ambiente durante 20-30 minutos y después se lava 3X con H₃PO₄ al 0,5%. Los pocillos se secan antes de la adición de 40 μl de MicroScint™20 (Packard) y después se cuentan en un Jet Wallace MICROBETA ®. Los valores de inhibición en porcentaje de los datos de respuesta a concentración de 10 puntos se analizan posteriormente, por ejemplo, usando software ACTIVITY BASE™ (IDBS), usando una ecuación logística de cuatro parámetros. Los valores absolutos de CI₅₀ se calculan a partir del ajuste de curva resultante. Todos los compuestos ejemplificados tienen un CI₅₀ menor de 100 nM con una relación significativa mínima (MSR) de 3,6. Por ejemplo, el ejemplo 13 tiene una CI₅₀ de aproximadamente 23 nM.

Ensayos de pHH3(S 10), células mitóticas y contenido de ADN

Se siembran en placas células HeLa de la Colección de Cultivos Tipo Americana (ATCC) a 200 células/pocillo en placas de 96 pocillos Beckman Dickinson BIOCOAT™ y se incuban en MEM (Medio Esencial Mínimo, por ejemplo, GIBCO, N° de catalogo 11095) con FBS al 10% (Suero Bovino Fetal) en CO₂ al 5% a 37°C durante 24 horas. Las células se tratan mediante la adición de un compuesto (en DMSO al 0,25%) al medio, dosificado en 10 puntos a lo largo del intervalo 0,5 µM a 0,0098 µM. Después de 23 horas de exposición a los compuestos, las células se fijan, por ejemplo, con el fijador PREFER™ [Anatech LTD., N° de Catalogo 414] durante 30 minutos después se permeabilizan con TRITON® X 100 0,1% en solución salina tamponada con fosfato (PBS) durante 15 minutos. Las células se lavan tres veces con PBS y después se digieren con RNAsa 50 µg/ml. Se añade anticuerpo primario, fosfohistona H3 (Upstate N° de Catalogo 06-570), a 1:500 en PBS con albúmina de suero bovino 1% (BSA) a las células durante una noche a 4°C. Después de tres lavados con PBS, las células se incuban con anticuerpo secundario marcado con Alexa488 (Invitrogen N° de catalogo A11008) durante una hora a temperatura ambiente. De nuevo se lavan tres veces con PBS y después se añade yoduro de propidio 15 µM (Molecular Probes N° de catalogo P3566) durante 30 minutos para teñir los núcleos. Se exploran las placas de fluorescencia con ACUMEN EXPLORER™ [clitómetro de microplaca de fluorescencia de exploración por láser (que comprende excitación por láser con ion argón a 488 nm y detección en tubo fotomultiplicador múltiple), fabricado por TTP LABTECH LTD] para medir fosfohistona H3, contenido de ADN y células mitóticas como se miden mediante condensación de ADN. Los análisis de imágenes se basan en señales fluorescentes celulares para identificar células en diferentes subpoblaciones. Las células positivas pHH3(S10) se identifican por intensidad media de 500-530 nm por encima del umbral. La intensidad total a 655-705 nm de yoduro de propidio/ADN se usa para identificar células individuales (células con contenido de ADN de 2 N a 4N) y subpoblaciones en ciclo celular (células 2N, células 4N). La intensidad máxima a 575-640 nm se usa para identificar condensación de ADN que se usa como el marcador para identificar células mitóticas entre células 4N. Los rendimientos del ensayo son el porcentaje de cada subpoblación identificada, % pHH3, % 2N, % 4N, % mitótico y número de células totales. El CE₅₀ se determina por el ajuste de curva a una logística de cuatro parámetros para cada rendimiento usando ACTIVITY BASE™. Los CE₅₀ resultantes para PHH3(s10), contenido de ADN y mitóticos tienen un MSR de 2,6, 2,4 y 2,5 respectivamente. Por ejemplo, el Ejemplo 13 tiene un pHH3(s10) CE₅₀ = 42 nM (n=2), EC₅₀ de contenido de ADN = 40 nM (n=2) y EC₅₀ mitótico = 45 nM (n=1).

Ensayo antiproliferativo

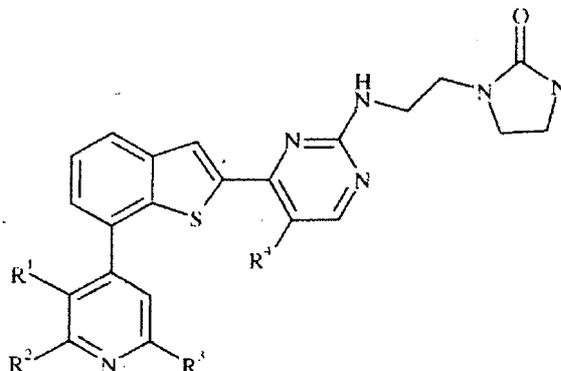
Los efectos de los compuestos en la proliferación celular pueden determinarse usando células y procedimientos de proliferación celular bien conocidos en la técnica (Robert C. Squatrito y col., *Gynecological Oncology*, 58, 101-105, (1995)). Por ejemplo, las células HCT116, que pueden obtenerse de la Colección de Cultivos Tipo Americana, pueden sembrarse a aproximadamente 2000 células/pocillo en placas de 96 pocillos y permitirse que se unan durante una noche en un incubador CO₂ humidificado a 37°C. Después de la incubación durante 20-24 horas, se añaden compuestos diluidos en serie semi logarítmicos y las placas se devuelven al incubador. Después de un tiempo de exposición apropiado (por ejemplo, 72 horas), se estima la proliferación celular usando procedimientos bien conocidos. En un procedimiento, se añaden 10 µl de una sal de tetrazolio, tal como Alamar Blue™ a las placas celulares. Después de una exposición apropiada al colorante, se determina la fluorescencia (excitación 530 nm, emisión 580 nm). El CI₅₀ resultante tiene un MSR de 3,1. Por ejemplo, el Ejemplo 13 tiene una CI₅₀ de 11 nM (n=3).

Los compuestos de la presente invención se formulan preferentemente como composiciones farmacéuticas administradas por una diversidad de rutas. Más preferentemente, dichas composiciones son para administración oral. Dichas composiciones o procedimientos farmacéuticos para preparar las mismas se conocen bien en la técnica. Véase, por ejemplo, REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (A. Gennaro, y col., eds., 19th ed., Mack Publishing Co., 1995).

Los compuestos de Fórmula I son generalmente eficaces a lo largo de un intervalo de dosificación amplio. Por ejemplo, las dosificaciones por día normalmente entran dentro del intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, más preferentemente 0,1 a 20 mg/kg de peso corporal. En algunos casos los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo anteriormente mencionado pueden ser más que adecuadas, mientras que en otros casos pueden emplearse dosis aun mayores sin causar ningún efecto secundario perjudicial y por lo tanto el intervalo de dosificación anterior no se pretende que limite el ámbito de la invención de ninguna manera. Se entenderá que la cantidad de compuesto que de hecho se administra se determinará por un médico, a la luz de las circunstancias relevantes, incluyendo la condición a tratar, la vía seleccionada de administración, el compuesto o compuestos administrados de hecho, la edad, peso y respuesta del paciente individual y la gravedad de los síntomas del paciente.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



5 en la que:

R¹ es hidrógeno, hidroxilo, hidroximetilo, halo, metilo, fluorometilo, alcoxi C₁-C₂, amino o metilamino;

R² es hidrógeno, halo o ciano:

R³ es hidrógeno o halo;

10 con la condición de que al menos uno de R¹, R² y R³ sea hidrógeno: y

R⁴ es hidrógeno, halo o metilo: o

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1 en el que:

15 R¹ es hidrógeno, hidroxilo, hidroximetilo, cloro, flúor, metilo, fluorometilo, alcoxi C₁-C₂, amino o metilamino;

R² es hidrógeno, flúor o ciano:

R³ es hidrógeno, cloro o flúor; con la condición de que al menos uno de R¹, R² y R³ sea hidrógeno; y

20 R⁴ es hidrógeno, cloro, flúor o metilo; o

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de la reivindicación 1 en el que:

R¹ es hidrógeno, metilo o fluorometilo;

25 R² es hidrógeno o flúor;

R³ es hidrógeno cloro o flúor; con la condición de que al menos uno de R¹, R² y R³ sea hidrógeno; y

R⁴ es hidrógeno, cloro, flúor o metilo: o

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El compuesto de la reivindicación 1 en el que R¹ es halo, R² es hidrógeno, R³ es halo y R⁴ es halo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5

5. Un compuesto seleccionado entre grupo que consiste en:

1-(2-{4-[7-(2-Cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-il(amino)etil}imidazolidin-2-ona,

10

1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(2-fluoro-5-metilpiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino)etil}imidazolidin-2-ona,

1-(2-{4-[7-(2-Fluoro-5-metilpiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-ilamino)etil}imidazolidin-2-ona,

1-(2-{4-[7-(2-Fluoro-5-metilpiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil}imidazolidin-2-ona,

15

1-{2-[5-Metil-4-(7-piridin-4-il-benzo[*b*]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino]-etil}imidazolidin-2-ona,

1-(2-{5-Cloro-4-[7-(2-fluoro-5-metilpiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-pirimidin-2-ilamino)etil}imidazolidin-2-ona,

20

1-{2-[5-Fluoro-4-(7-piridin-4-il-benzo[*b*]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino]-etil}imidazolidin-2-ona,

1-(2-{4-[7-(3-Etoxipiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino)etil}imidazolidin-2-ona,

1-(2-{5-fluoro-4-(7-(3-hidroxipiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino)etil}imidazolidin-2-ona,

25

1-(2-{4-[7-(2-Cloro-5-etoxipiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}-etil}imidazolidin-2-ona,

1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(3-metoxipiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}-etil}imidazolidin-2-ona,

30

1-(2-{5-Cloro-4-(7-(piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il)pirimidin-2-ilamino)etil}imidazolidin-2-ona,

1-(2-{5-Cloro-4-[7-(5-cloro-2-fluoropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino)etil}imidazolidin-2-ona,

1-(2-{4-[7-(2-Cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino)etil}imidazolidin-2-ona,

35

1-(2-{5-Cloro-4-[7-(2-cloro-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-

- ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-fluoro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-
 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{4-[7-(2-Cloro-5-fluoropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-ilamino}-
 5 etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{4-[7-(3-Cloro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-
 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(3-metilpiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-
 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 10 1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-fluoropiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-
 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{4-[7-(2,5-Dicloropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-
 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(2-fluoropiridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-
 15 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{4-[7-(5-Cloro-2-fluoro-piridin-4-il)-benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-
 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 4-(2-(2-(2-(2-Oxoimidazolidin-1-il)etilamino)pirimidin-4-il)benzo[*b*]tiofen-7-
 il)picolinonitrilo,
 20 1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-fluoropirimidin-2-
 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{4-[7-(3-Metilamino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-
 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]-5-metilpirimidin-2-
 25 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{4-[7-(3-Amino-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-ilamino}etil)imidazolidin-2-
 ona,
 1-(2-{4-[7-(5-Amino-2-fluoropiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-
 ilamino}etilimidazolidin-2-ona,
 30 1-(2-{4-[7-(3-Amino-2-fluoropiridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-
 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona,
 1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(2-fluoro-5-hidroximetil-piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-
 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona y
 1-(2-{5-Fluoro-4-[7-(2-fluoro-5-(fluorometil)piridin-4-il)benzo[*b*]tiofen-2-il]pirimidin-2-
 35 ilamino}etil)imidazolidin-2-ona: o

una sal farmacéuticamente aceptable.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de las reivindicaciones 1-5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
7. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia.
- 10 8. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de un cáncer seleccionado entre grupo que consiste en cánceres no microcítico de pulmón, orofaríngeo, esofágico, gástrico, melanoma, carcinoma epidermoide de piel, de mama, de ovarios, de endometrio, colorrectal, neuroglioma, glioblastoma, carcinoma tiroideo, cervical, pancreático, de próstata, hepatoblastoma y linfoma
- 15 no Hodgkin en un mamífero.