

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 867 274**

51 Int. Cl.:

C07D 473/18 (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)

C07D 519/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.12.2017 PCT/EP2017/083625**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.06.2018 WO18114999**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2017 E 17825829 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.01.2021 EP 3558997**

54 Título: **Compuestos de amino-triazolopiridina y su uso en el tratamiento del cáncer.**

30 Prioridad:

20.12.2016 US 201662436619 P

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

20.10.2021

73 Titular/es:

**ASTRAZENECA AB (100.0%)
151 85 Södertälje, SE**

72 Inventor/es:

**FINLAY, MAURICE, RAYMOND, VERSCHOYLE;
GOLDBERG, FREDERICK, WOOLF y
TING, ATTILLA, KUAN, TSUEI**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 867 274 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de amino-triazolopiridina y su uso en el tratamiento del cáncer

CAMPO DE LA INVENCION

5 La memoria descriptiva se refiere en general a compuestos de amino-triazolopiridinas sustituidas y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Estos compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables modulan selectivamente la proteína cinasa dependiente de ADN ("PC-ADN"), y por lo tanto, la memoria descriptiva también se refiere al uso de dichos compuestos y sales de los mismos para tratar o prevenir la enfermedad mediada por PC-ADN, incluyendo el cáncer. La memoria descriptiva se refiere además a formas cristalinas de compuestos de amino-triazolopiridina sustituida y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos; composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos y sales; kits que comprenden tales compuestos y sales; métodos de fabricación de dichos compuestos y sales; intermedios útiles en la fabricación de dichos compuestos y sales; y a los métodos para tratar una enfermedad mediada por PC-ADN, incluyendo el cáncer, usando dichos compuestos y sales.

ANTECEDENTES

15 La PC-ADN es un complejo nuclear proteína cinasa serina/treonina compuesto por la subunidad catalítica PC-ADNc y un heterodímero de proteínas Ku (Ku70/Ku80). La PC-ADN desempeña un papel crucial en la reparación de roturas de doble cadena de ADN (DSB), que sirve para mantener la integridad genómica, y en el proceso de recombinación V(D)J, dando como resultado un repertorio altamente diverso de anticuerpos/inmunoglobulinas y receptores de linfocitos T encontrados en los linfocitos B y T, respectivamente. La PC-ADN también se ha visto implicada en una gama de otros procesos biológicos, incluyendo la modulación de la estructura de la cromatina, el mantenimiento de los telómeros, la regulación transcripcional, y la respuesta al estrés de replicación (Smith y Jackson, 1999; Goodwin y Knudsen, 2014).

25 Las DSB de ADN se consideran la lesión más letal que puede encontrar una célula. Para combatir las serias amenazas planteadas por las DSB del ADN, las células eucariotas han desarrollado varios mecanismos para mediar su reparación. En eucariotas superiores, el mecanismo predominante es la unión final no homóloga de ADN (NHEJ). Esta es una vía de reparación de DSB propensa a errores que implica la ligadura directa de los extremos rotos de las DSB que se produce durante todas las fases del ciclo celular, y se utiliza preferiblemente durante las primeras fases G1/S, donde no está disponible una plantilla de cromátida hermana (Hartlerode y Scully, 2009). Esto contrasta con la segunda vía principal de reparación de DSB, la recombinación homóloga (HR), que se produce principalmente en las fases G2/M del ciclo celular cuando hay cromátidas hermanas no dañadas disponibles (San Filippo et al., 2008). Otros mecanismos subyacentes a la selección de NHEJ o HR para la reparación de DSB se definen de forma incompleta, aunque los extremos de ADN romos y mínimamente procesados se reparan por NHEJ, mientras que la resección en el extremo 3' es necesaria para que se produzca la HR (Symington y Gautier, 2011). La resección final está controlada por una interacción de BRCA1 y 53BP1, soportando 53BP1 NHEJ suprimiendo la resección final (Escribano-Diaz et al., 2013).

35 NHEJ se inicia a través del reconocimiento y la unión de los extremos del ADN rotos por el heterodímero Ku70/Ku80 en forma de anillo, seguido del reclutamiento de las PC-ADN a través de su interacción con Ku y ADN. El reclutamiento de PC-ADNc facilita el movimiento del heterodímero Ku en el dúplex de ADN, permitiendo que las PC-ADNc sirvan de enlace para los extremos del ADN roto y evite la degradación por exonucleasas (Yoo y Dynan, 1999). La unión al ADN promueve la activación de la actividad catalítica de PC-ADNc. Quizás el sustrato más importante de PC-ADN es la propia subunidad de cinasa, ya que la autofosforilación es crítica para la regulación del procesamiento final del ADN, la inactivación enzimática y la disociación compleja (Chan et al., 2002). Los sitios de autofosforilación mejor caracterizados son Ser2056 y Thr2609 (Douglas et al., 2002). PC-ADNc fosforila y altera la actividad de una amplia gama de sustratos que median NHEJ, incluyendo Artemis, Ku70, Ku80 y ADN ligasa 4 (Neal y Meek, 2011); también fosforila Ser139 en la variante de histona H2AX (γ H2AX); este es un marcador ya conocido de roturas de doble cadena de ADN (An et al., 2010).

45 Las roturas de doble cadena pueden generarse endógenamente mediante la producción de especies reactivas de oxígeno durante el metabolismo o mediante recombinación V(D)J de desarrollo en el sistema inmunitario, y exógenamente mediante radiación ionizante, fármacos radiomiméticos tal como bleomicina, e inhibidores de topoisomerasa II tales como etopósido y doxorubicina. Por lo tanto, es probable que los inhibidores de PC-ADN aumenten la letalidad de estos agentes. Los inhibidores de PC-ADN también pueden ser eficaces como agentes únicos en tumores con altos niveles endógenos de daño en el ADN resultantes de defectos en otras vías de reparación del ADN, tales como la relación de HR y de desajuste. Por ejemplo, se ha demostrado que los inhibidores de PC-ADN son eficaces como agentes únicos contra los linfomas defectuosos en ATM (Riabinska et al., 2013). ATM es importante en la reparación de HR, y cuando las células cancerosas son deficientes en ATM, las células son "adictas" a NHEJ para permitir su supervivencia. También se ha demostrado una interacción letal sintética entre PC-ADN y MSH3 (Deitlein et al., 2014). PC-ADN es un miembro de la familia de cinasa relacionada con fosfatidilinositol 3-cinasa (PIKK) de proteínas cinasa y los inhibidores de PC-ADN de generaciones anteriores como NU7026, NU7441, KU-0060648 y CC-115 han sufrido una selectividad deficiente contra otros miembros de la familia de PIKK. Sin embargo, estos compuestos han demostrado el potencial terapéutico de dirigir PC-ADN consistente con los mecanismos conocidos de acción de la proteína PC-ADN. Por ejemplo, NU7026 y KU-0060648 pueden potenciar la citotoxicidad de los inhibidores de topoisomerasa II (Willmore et al, 2004; Munck et al., 2012) y NU7441 potenció el efecto de la radiación ionizante en

modelos de cáncer de mama (Ciszewski et al., 2014). Otras aplicaciones de inhibidores de PC-ADN en oncología podrían incluir dirigirse a tumores con altos niveles de estrés de replicación (Lin et al., 2014; Ashley et al., 2014; Buisson et al., 2015), ya sea como monoterapia o junto con otros agentes tales como los inhibidores de Wee1, ATR o CHK, o como una terapia de combinación con agentes endocrinos en cánceres de próstata (Goodwin et al., 2013) y de mama (Medunjanin et al., 2010).

El documento EP2527344 describe derivados de piridin-2(1H)-ona útiles como medicamentos para el tratamiento de trastornos mieloproliferativos, rechazo de trasplante, enfermedades inflamatorias e inmunomediadas.

El documento US2013/245029 describe inhibidores de cinasas TOR para tratar o prevenir sarcoma de Ewing que sobreexpresa ETS.

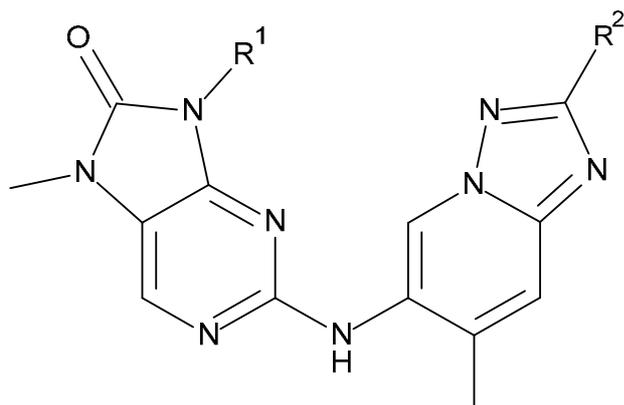
El documento WO2008/043031 describe derivados de purinona y 2-(bencimidazolil)purina con sustitución en la posición 6 útiles para la prevención y el tratamiento de enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades mediadas por mastocitos y rechazo de trasplante.

El documento WO2009/122180 describe derivados de pirimidina útiles en el tratamiento de varios trastornos terapéuticos como inhibidores de una o más cinasas.

En consecuencia, existe una necesidad de inhibidores de PC-ADN que sean selectivos, demuestren una buena biodisponibilidad y sean adecuados para la dosificación.

COMPENDIO DE LA INVENCION

En resumen, esta memoria descriptiva describe, en parte, un compuesto de fórmula (I):



20 (I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:

R¹ es un anillo de ciclohexilo, tetrahidrofuranilo u oxanilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados de hidroxilo, metoxi y metilo; y

R² es hidrógeno o metilo.

25 Esta memoria descriptiva también describe, en parte, una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Esta memoria descriptiva también describe, en parte, un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.

30 Esta memoria descriptiva también describe, en parte, un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer.

Esta memoria descriptiva también describe, en parte, un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.

35 Esta memoria descriptiva también describe, en parte, un método para tratar el cáncer en un animal de sangre caliente que necesite dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal de sangre caliente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

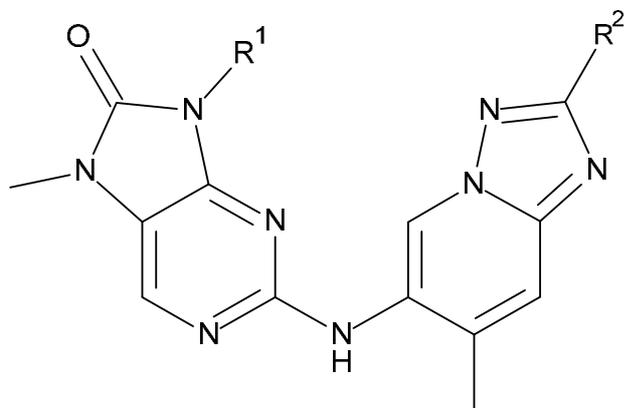
BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- La figura 1 muestra el XRPD para la Forma A de 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (Compuesto A, Ejemplo 3).
- 5 La figura 2 muestra la DSC para la Forma A de 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (Compuesto A, Ejemplo 3).
- La figura 3 muestra el XRPD para la Forma A de 9-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (Compuesto B, Ejemplo 10).
- La figura 4 muestra el DSC para la Forma A de 9-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (Compuesto B, Ejemplo 10).
- 10 La figura 5 muestra la inhibición del crecimiento tumoral en el modelo de xenoinjerto de ratón por 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (Compuesto A, Ejemplo 3) junto con Olaparib.
- La figura 6 muestra la actividad *in vitro* de 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (Compuesto A, Ejemplo 3) junto con AZD6738, un inhibidor de ATR.
- 15 La figura 7 muestra la actividad *in vitro* de 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (Compuesto A, Ejemplo 3) junto con AZD0156, un inhibidor de ATM.

DESCRIPCIÓN DE LAS REALIZACIONES ILUSTRATIVAS

Muchas realizaciones de la invención se detallan a lo largo de la memoria descriptiva y serán evidentes para un lector experto en la técnica.

- 20 En la primera realización se proporciona un compuesto de Fórmula (I):



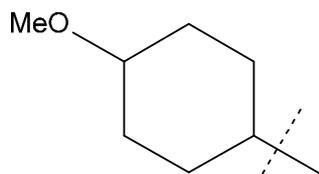
(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:

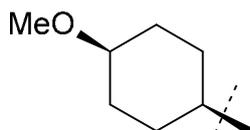
- 25 **R¹** es un anillo de ciclohexilo, tetrahydrofuranilo u oxanilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados de hidroxilo, metoxi y metilo, y

R² es hidrógeno o metilo.

La expresión "anillo de ciclohexilo" se refiere a un anillo de carbocíclico que contiene seis átomos de carbono y ningún heteroátomo. Los grupos 1-metoxiciclohex-4-ilo y los grupos 4-metoxiciclohex-1-ilo tienen la misma estructura, como se muestra a continuación.

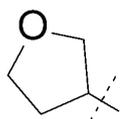


Un grupo *cis*-1-metoxi-ciclohex-4-ilo es equivalente a un *cis*-4-metoxi-ciclohex-1-ilo y tiene la siguiente estructura:



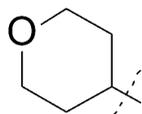
5 Las mismas convenciones se aplican a otros grupos ciclohexilo, por ejemplo, los grupos 1-hidroxiciclohex-4-ilo y los grupos 4-hidroxiciclohex-1-ilo.

La expresión "anillo de tetrahidrofuranilo" incluye tetrahidrofuran-3-ilo, cuya estructura se muestra a continuación.

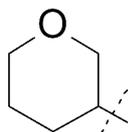


Tetrahidrofuran-3-ilo

La expresión "anillo de oxanilo" incluye los grupos oxan-3-ilo y oxan-4-ilo, cuyas estructuras se muestran a continuación.



Oxan-4-ilo



Oxan-3-ilo

10 En las estructuras anteriores, la línea discontinua indica la posición de unión del grupo relevante.

Un anillo de oxanilo también puede denominarse como un anillo de tetrahidropiranilo. De forma similar, un anillo de oxan-4-ilo puede denominarse como un anillo de tetrahidropiran-4-ilo, y un anillo de oxan-3-ilo puede denominarse como un anillo de tetrahidropiran-3-ilo.

15 Cuando se usa el término "opcionalmente", se pretende que la característica posterior pueda o no producirse. Como tal, el uso del término "opcionalmente" incluye casos en los que la característica está presente, y también casos en los que la característica no está presente. Por ejemplo, un grupo "opcionalmente sustituido por un grupo metoxi" incluye grupos con y sin un sustituyente metoxi.

20 El término "sustituido" significa que uno o más hidrógenos (por ejemplo 1 o 2 hidrógenos, o como alternativa 1 hidrógeno) en el grupo designado se reemplazan por el sustituyente o sustituyentes indicados (por ejemplo, 1 o 2 sustituyentes, o como alternativa, 1 sustituyente), con la condición de que cualquier átomo o átomos que lleve un sustituyente mantenga una valencia permitida. Las combinaciones de sustituyentes incluyen solamente compuestos estables e intermedios sintéticos estables. "Estable" significa que el compuesto o intermedio relevante es suficientemente fuerte para aislarse y tener utilidad como un intermediario sintético o como un agente que tiene utilidad terapéutica potencial. Si un grupo no se describe como "sustituido", u "opcionalmente sustituido", debe considerarse como no sustituido (es decir, que ninguno de los hidrógenos en el grupo designado ha sido reemplazado).

25 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se usa para especificar que un objeto (por ejemplo, una sal, forma de dosificación, diluyente o vehículo) es adecuado para su uso en pacientes. Se puede consultar una lista a modo de

ejemplo de sales farmacéuticamente aceptables en *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, P. H. Stahl y C. G. Wermuth, editors, Weinheim/Zürich:Wiley-VCH/VHCA, 2002. Una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de Fórmula (I) es, por ejemplo, una sal de adición de ácidos. Una sal de adición de ácidos de un compuesto de Fórmula (I) puede formarse poniendo el compuesto en contacto con un ácido inorgánico u orgánico adecuado en condiciones conocidas por el experto. Una sal de adición de ácido se puede formar, por ejemplo, empleando un ácido inorgánico seleccionado a partir del grupo constituido por ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico. Una sal de adición de ácido también se puede formar empleando un ácido orgánico seleccionado a partir del grupo constituido por ácido trifluoroacético, ácido cítrico, ácido maleico, ácido oxálico, ácido acético, ácido fórmico, ácido benzoico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico y ácido *para*-toluenosulfónico.

Por lo tanto, en una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde la sal farmacéuticamente aceptable es un ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido trifluoroacético, ácido cítrico, ácido maleico, ácido oxálico, ácido acético, ácido fórmico, ácido benzoico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, o sal del ácido *para*-toluenosulfónico. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal del ácido trifluoroacético, ácido fórmico o ácido metanosulfónico. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal del ácido trifluoroacético o ácido metanosulfónico. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal del ácido metanosulfónico. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal del ácido *mono*-metanosulfónico, es decir, la estequiometría del compuesto de Fórmula (I) con respecto a ácido metanosulfónico es 1:1.

Una realización adicional proporciona cualquiera de las realizaciones definidas en el presente documento (por ejemplo, la realización de la reivindicación 1) con la condición de que uno o más Ejemplos específicos (por ejemplo, uno, dos o tres Ejemplos específicos) seleccionados del grupo que consiste en los Ejemplos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13 sean rechazados individualmente.

Una realización adicional proporciona cualquiera de las realizaciones definidas en el presente documento (por ejemplo, la realización de la reivindicación 1) con la condición de que uno o más Ejemplos específicos (por ejemplo, uno, dos o tres Ejemplos específicos) seleccionados del grupo que consiste en los Ejemplos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 sean rechazados individualmente.

Algunos valores de grupos variables en la Fórmula (I) son como se indican a continuación. Dichos valores pueden usarse junto con cualquiera de las definiciones, reivindicaciones (por ejemplo, la reivindicación 1) o realizaciones definidas en el presente documento para proporcionar realizaciones adicionales.

- a) R^1 es un anillo de ciclohexilo que está opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados de hidroxilo, metoxi y metilo, o R^1 es un anillo de tetrahidrofurano u oxanilo.
- b) R^1 es un anillo de ciclohexilo que está opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados de hidroxilo, metoxi y metilo.
- c) R^1 es un anillo de tetrahidrofurano u oxanilo.
- d) R^1 es un anillo de ciclohexilo que está opcionalmente sustituido por un grupo hidroxilo o metoxi.
- e) R^1 es un anillo de ciclohexilo que está opcionalmente sustituido por un grupo hidroxilo y un grupo metilo.
- f) R^1 es 1-metoxi-ciclohex-4-ilo, 1-hidroxi-ciclohex-4-ilo, 1-hidroxi-1-metilhex-4-ilo o 1-hidroxi-4-metil-ciclohex-4-ilo.
- g) R^1 es 1-metoxi-ciclohex-4-ilo, 1-hidroxi-ciclohex-4-ilo o 1-hidroxi-1-metil-ciclohex-4-ilo.
- h) R^1 es 1-hidroxi-1-metil-ciclohex-4-ilo.
- i) R^1 es *cis*-1-hidroxi-1-metil-ciclohex-4-ilo.
- j) R^1 es *cis*-1-metoxi-ciclobut-4-ilo o *cis*-1-hidroxi-ciclohex-4-ilo.
- k) R^1 es *cis*-1-hidroxi-ciclohex-4-ilo.
- l) R^1 es un anillo de oxetanilo.
- m) R^1 es oxetan-3-ilo.

- n) R^1 es un anillo de ciclohexilo.
 o) R^1 es un anillo de tetrahidrofuranilo.
 p) R^1 es tetrahidrofuran-3-ilo.
 q) R^1 es un anillo de oxanilo.
 5 r) R^1 es un oxan-3-ilo.
 s) R^1 es oxan-4-ilo.
 t) R^2 es hidrógeno.
 u) R^2 es metilo.

10 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

- 9-((1r,4r)-4-hidroxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 9-((1s,4s)-4-hidroxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 2-((2,7-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7-metil-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 15 9-((1s,4s)-4-metoxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 9-((1r,4r)-4-metoxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 (S)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 (R)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 9-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 20 9-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 (S)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 9-((1s,4s)-4-hidroxi-1-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 y
 9-ciclohexil-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.

25 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

- 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 9-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
 y
 30 9-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.

En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

- 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona; y
 9-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.

35 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto es 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.

40 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto es 9-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.

En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el compuesto es 9-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.

5 Los compuestos y sales que se describen en esta memoria descriptiva pueden existir en formas solvatadas y formas no solvatadas. Por ejemplo, una forma solvatada puede ser una forma hidratada, tal como un hemihidrato, un monohidrato, un hidrato, un trihidrato o una cantidad alternativa de los mismos. La invención incluye todas las formas solvatadas y no solvatadas de compuestos de Fórmula (I), particularmente en la medida en que dichas formas poseen actividad inhibitoria de PC-ADN, como por ejemplo medida usando los ensayos descritos en el presente documento.

10 Los átomos de los compuestos y sales que se describen en esta memoria descriptiva pueden existir como sus isótopos. La invención incluye todos los compuestos de Fórmula (I) donde un átomo se reemplaza por uno o más de sus isótopos (por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I) donde uno o más átomos de carbono son un isótopo de carbono ^{11}C o ^{13}C , o donde uno o más átomos de hidrógeno son un isótopo ^2H o ^3H , o donde uno o más átomos de nitrógeno son un isótopo ^{15}N , o donde uno o más átomos de oxígeno son un isótopo ^{17}O o ^{18}O).

15 Los compuestos y sales que se describen en esta memoria descriptiva pueden existir en formas ópticamente activas o racémicas en virtud de uno o más átomos de carbono asimétricos. La invención incluye cualquier forma ópticamente activa o racémica de un compuesto de Fórmula (I) que posee actividad inhibitoria de PC-ADN, según se mide, por ejemplo, usando los ensayos descritos en el presente documento. La síntesis de formas ópticamente activas se puede realizar mediante técnicas estándar de química orgánica ya conocidas en la técnica, por ejemplo, mediante síntesis usando materiales ópticamente activos o mediante resolución de una forma racémica.

20 Por lo tanto, en una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que es un isómero óptico individual que está en un exceso enantiomérico (% de e.e.) de $\geq 95\%$, $\geq 98\%$ o $\geq 99\%$. En una realización, el isómero óptico individual está presente en un exceso enantiomérico (% de e.e.) de $\geq 99\%$.

25 Algunos de los compuestos de Fórmula (I) pueden ser cristalinos y pueden tener más de una forma cristalina. Debe entenderse que la divulgación incluye cualquier forma cristalina o amorfa, o mezclas de las mismas, cuya forma posee propiedades útiles en la actividad inhibitoria de PC-ADN. La manera de determinar la eficacia de una forma cristalina o amorfa mediante las pruebas estándar descritas posteriormente en la presente es sobradamente conocida.

Se sabe generalmente que los materiales cristalinos se pueden analizar utilizando técnicas convencionales tales como, por ejemplo, análisis por difracción de rayos X de polvo (posteriormente en la presente XRPD) y calorimetría diferencial de barrido (posteriormente en la presente DSC).

30 Como ejemplo, el compuesto del Ejemplo 3, 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, muestra cristalinidad y se ha identificado una forma cristalina, la Forma A.

Por consiguiente, en un aspecto adicional, se proporciona la Forma A del Compuesto A (Ejemplo 3, 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona).

35 De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto A, que tiene un patrón XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente $2\text{-theta} = 7.6^\circ$, según se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto A, que tiene un patrón XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente $2\text{-theta} = 18.7^\circ$, según se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

40 De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto A, que tiene un patrón XRPD con al menos dos picos específicos en aproximadamente $2\text{-theta} = 7.6^\circ$ y 18.7° , según se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

45 De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto A, que tiene un patrón XRPD con picos específicos en aproximadamente $2\text{-theta} = 7.6, 9.3, 11.7, 14.3, 15.1, 18.7, 23.2, 24.7, 26.4, 27.2^\circ$, según se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto A, que tiene un patrón XRPD sustancialmente igual que el patrón XRPD mostrado en la figura 1.

50 De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto A, que tiene un patrón XRPD con al menos un pico específico en $2\text{-theta} = 7.6^\circ$ más o menos 0.2° 2-theta , según se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto A, que tiene un patrón XRPD con al menos un pico específico en $2\text{-theta} = 18.7^\circ$ más o menos 0.2° 2-theta , según se mide usando radiación $\text{CuK}\alpha$.

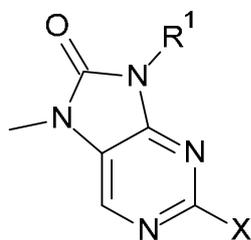
- De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto A, que tiene un patrón XRPD con al menos dos picos específicos en 2-theta = 7.6° y 18.7° en la que dichos valores pueden ser más o menos 0.2° 2-theta, según se mide usando radiación CuK α .
- 5 De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto A, que tiene un patrón XRPD con picos específicos en 2-theta = 7.6, 9.3, 11.7, 14.3, 15.1, 18.7, 23.2, 24.7, 26.4, 27.2° en la que dichos valores pueden ser más o menos 0.2° 2-theta, según se mide usando radiación CuK α .
- El análisis por DSC del Compuesto A, Forma A muestra una endotermia de fusión con un inicio de aproximadamente 261.8 °C más o menos 0.5 °C y un pico en aproximadamente 262.7 °C más o menos 0.5 °C (figura 2).
- 10 El compuesto del Ejemplo 10, 9-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, muestra cristalinidad y se ha identificado una forma cristalina, la Forma A.
- Por consiguiente, en un aspecto adicional, se proporciona la Forma A del Compuesto B (Ejemplo 10, 9-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona).
- 15 De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto B, que tiene un patrón XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente 2-theta = 8.8°, según se mide usando radiación CuK α .
- De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto B, que tiene un patrón XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente 2-theta = 12.7°, según se mide usando radiación CuK α .
- 20 De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto B, que tiene un patrón XRPD con al menos dos picos específicos en aproximadamente 2-theta = 8.8° y 12.7°, según se mide usando radiación CuK α .
- De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto B, que tiene un patrón XRPD con picos específicos en aproximadamente 2-theta = 5.1, 8.8, 10.3, 12.7, 13.0, 13.8, 14.8, 16.5, 23.8, 24.2°, según se mide usando radiación CuK α .
- 25 De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto B, que tiene un patrón XRPD sustancialmente igual que el patrón de difracción de polvo de rayos X mostrado en la figura 3.
- De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto B, que tiene un patrón XRPD con al menos un pico específico en 2-theta = 8.8° más o menos 0.2° 2-theta, según se mide usando radiación CuK α .
- 30 De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto B, que tiene un patrón XRPD con al menos un pico específico en 2-theta = 12.7° más o menos 0.2° 2-theta, según se mide usando radiación CuK α .
- De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto B, que tiene un patrón XRPD con al menos dos picos específicos en 2-theta = 8.8° y 12.7° en la que dichos valores pueden ser más o menos 0.2° 2-theta, según se mide usando radiación CuK α .
- 35 De acuerdo con la presente divulgación, se proporciona una forma cristalina, la Forma A del Compuesto B, que tiene un patrón XRPD con picos específicos en 2-theta = 5.1, 8.8, 10.3, 12.7, 13.0, 13.8, 14.8, 16.5, 23.8, 24.2° en la que dichos valores pueden ser más o menos 0.2° 2-theta, según se mide usando radiación CuK α .
- 40 El análisis por DSC del Compuesto B, Forma A muestra una endotermia de fusión con un inicio de aproximadamente 235.6 °C más o menos 0.5 °C y un pico en aproximadamente 236.9 °C más o menos 0.5 °C (figura 4).
- 45 Cuando se afirma que la presente divulgación se refiere a una forma cristalina de la Forma A del Compuesto A o el Compuesto B, el grado de cristalinidad es convenientemente mayor de aproximadamente el 60%, más convenientemente mayor de aproximadamente el 80%, preferiblemente mayor de aproximadamente el 90% y más preferiblemente mayor de aproximadamente el 95%. Mucho más preferiblemente, el grado de cristalinidad es mayor de aproximadamente el 98%.
- Se entenderá que los valores 2-theta del patrón XRPD pueden variar ligeramente de una máquina a otra o de una muestra a otra, por lo que los valores citados no deben interpretarse como absolutos.
- 50 Se sabe que se puede obtener un patrón de XRPD que tiene uno o más errores de medición dependiendo de las condiciones de medición (tal como el equipo o la máquina utilizada). En particular, se sabe generalmente que las intensidades en un patrón de XRPD pueden fluctuar dependiendo de las condiciones de medición. Por lo tanto, debe entenderse que el Compuesto A, Forma A y el Compuesto B, Forma A de la presente divulgación no están limitados a los cristales que proporcionan patrones XRPD idénticos al patrón XRPD mostrado en las figuras 1 y 3, y cualquier cristal

que proporcione patrones XRPD sustancialmente iguales a los mostrados en las figuras 1 y 3 está dentro del alcance de la presente divulgación. Un experto en la técnica de XRPD puede juzgar la identidad sustancial de los patrones XRPD.

Los expertos en la técnica de XRPD comprenderán que la intensidad relativa de los picos puede verse afectada, por ejemplo, por granos de más de 30 micrómetros de tamaño y relaciones de aspecto no unitarias, lo que puede afectar al análisis de las muestras. El experto también comprenderá que la posición de las reflexiones se puede ver afectada por la altura exacta a la cual se sitúa la muestra en el difractómetro y la calibración del cero del difractómetro. Puede que también tenga un pequeño efecto la planaridad de la superficie de la muestra. Por tanto los datos de los patrones de difracción presentados no deben considerarse como valores absolutos. (Jenkins, R & Snyder, R.L. 'Introduction to X-Ray Powder Diffractometry' John Wiley & Sons 1996; Bunn, C.W. (1948), Chemical Crystallography, Clarendon Press, Londres; Klug, H. P. & Alexander, L. E. (1974), X-Ray Diffraction Procedures).

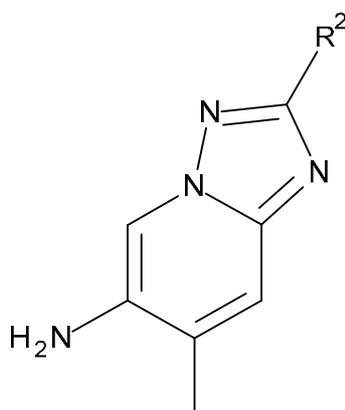
Generalmente, un error de medición de un ángulo de difracción en un difractograma de polvo de rayos X es aproximadamente más o menos 0.2° 2-theta, y tal grado de error de medición debe tenerse en cuenta cuando se considera el patrón de XRPD en las figuras 1 y 3 y al leer las Tablas A y B. Además, debe entenderse que las intensidades pueden fluctuar dependiendo de las condiciones experimentales y la preparación de la muestra (orientación preferida).

Los compuestos de Fórmula (I) pueden prepararse, por ejemplo, por la reacción de un compuesto de Fórmula (II):



(II)

o una sal del mismo, donde R^1 es como se define en cualquiera de las realizaciones en el presente documento, o una forma protegida del mismo, y X es un grupo saliente (por ejemplo, un átomo de halógeno, tal como un átomo de cloro) con un compuesto de Fórmula (III):



(III)

o una sal del mismo. La reacción se realiza convenientemente en un disolvente adecuado (por ejemplo, 1,4-dioxano) en presencia de una base (por ejemplo, carbonato de cesio) y opcionalmente en presencia de un catalizador adecuado (por ejemplo, Brettphos 3^a Gen) a una temperatura adecuada (por ejemplo, una temperatura en el intervalo de aproximadamente 80-100 °C).

Por lo tanto, los compuestos de Fórmula (II) o (III), y sales de los mismos, son útiles como intermedios en la preparación de los compuestos de Fórmula (I) y proporcionan una realización adicional. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (II), o una sal del mismo, donde:

R^1 es un anillo de ciclohexilo, tetrahidrofuranilo u oxanilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados de hidroxilo, metoxi y metilo;

y

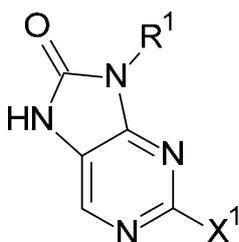
X es un grupo saliente.

En una realización, **X** es un átomo de halógeno o un grupo triflato. En una realización, **X** es un átomo de cloro.

5 En cualquiera de las realizaciones donde se menciona un compuesto de Fórmula (II) o (III) o una sal del mismo, debe entenderse que dichas sales no necesitan ser sales farmacéuticamente aceptables. Una sal adecuada de un compuesto de Fórmula (II) o (III) es, por ejemplo, una sal de adición de ácidos. Una sal de adición de ácidos de un compuesto de Fórmula (II) o (III) puede formarse poniendo el compuesto en contacto con un ácido inorgánico u orgánico adecuado en condiciones conocidas por el experto. Una sal de adición de ácido se puede formar, por ejemplo, empleando un ácido inorgánico seleccionado a partir del grupo constituido por ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico. Una sal de adición de ácido también se puede formar empleando un ácido orgánico seleccionado a partir del grupo constituido por ácido trifluoroacético, ácido cítrico, ácido maleico, ácido oxálico, ácido acético, ácido fórmico, ácido benzoico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico y ácido *para*-toluenosulfónico.

15 Por lo tanto, en una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (II) o (III) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde la sal farmacéuticamente aceptable es un ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido trifluoroacético, ácido cítrico, ácido maleico, ácido oxálico, ácido acético, ácido fórmico, ácido benzoico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, o sal del ácido *para*-toluenosulfónico.

Los compuestos de Fórmula (II) pueden prepararse, por ejemplo, por la reacción de un compuesto de Fórmula (IV):

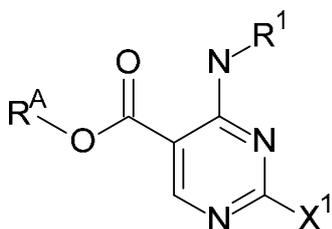


20

(IV)

donde **R**¹ es como se define en cualquiera de las realizaciones en el presente documento, y **X**¹ es un grupo saliente (por ejemplo, un átomo de yodo, bromo o cloro o un grupo triflato) con un agente de metilación. Los agentes de metilación adecuados incluyen yoduro de metilo, DMF-DMA.

25 Los compuestos de Fórmula (IV) pueden prepararse, por ejemplo, por la reacción de un compuesto de Fórmula (V):



(V)

donde **R**¹ es como se define en cualquiera de las realizaciones en el presente documento;

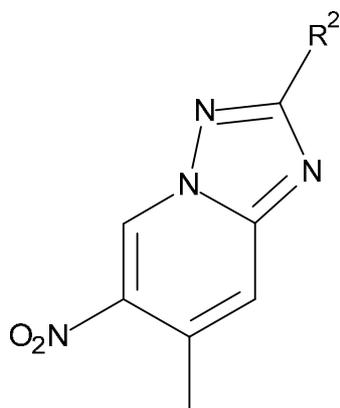
R^A es hidrógeno; y

30 **X**¹ es un grupo saliente (por ejemplo, un átomo de yodo, bromo, cloro o un grupo triflato) con difenilfosforil azida (DPPA). La reacción puede realizarse en condiciones estándar ya conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo, DPPA, trietilamina, THF, reflujo.

Por lo tanto, los compuestos de Fórmula (IV) y (V) son útiles como intermedio en la preparación de los compuestos de Fórmula (I) y proporcionan una realización adicional.

35 Los compuestos de Fórmula (IV) y (V) pueden prepararse por métodos similares a los mostrados en la sección de Ejemplos.

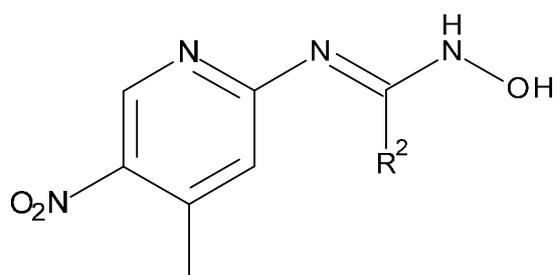
El compuesto de Fórmula (III) puede prepararse, por ejemplo, por la reacción de un compuesto de Fórmula (VI):



(VI)

5 con un agente reductor. Los agentes reductores adecuados incluyen Pd al 10 %/C e hidrógeno, Pd al 10 %/C y formiato amónico, cloruro de hierro/amonio.

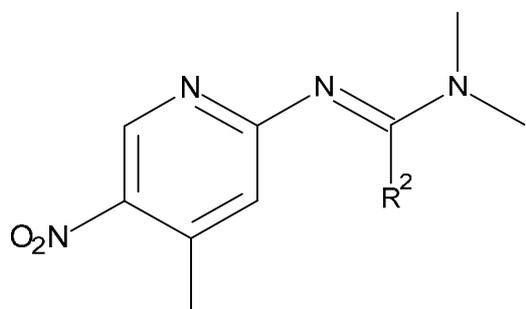
El compuesto de Fórmula (VI) puede prepararse, por ejemplo, por la reacción de un compuesto de Fórmula (VII):



(VII)

con un reactivo de ciclación. Los reactivos de ciclación adecuados incluyen anhídrido trifluoroacético.

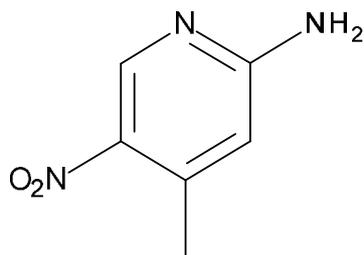
10 El compuesto de Fórmula (VII) puede prepararse, por ejemplo, por la reacción de un compuesto de Fórmula (VIII):



(VIII)

con clorhidrato de hidroxilamina.

El compuesto de Fórmula (VIII) puede prepararse, por ejemplo, por la reacción de un compuesto de Fórmula (IX):



(IX)

con 1,1-dimetoxi-N,N-dimetilmetanamina.

5 Se apreciará que algunos de los distintos sustituyentes anulares de los compuestos de la presente invención pueden introducirse mediante reacciones de sustitución aromática estándares o generarse mediante modificaciones de grupos funcionales convencionales antes o inmediatamente después de los procesos mencionados anteriormente y, como tales, se incluyen en el aspecto del proceso de la invención. Por ejemplo, los compuestos de Fórmula (I) pueden convertirse en compuestos adicionales de Fórmula (I) por reacciones de sustitución aromática estándar o por modificaciones de grupos funcionales convencionales. Dichas reacciones y modificaciones incluyen, por ejemplo, la introducción de un sustituyente mediante una reacción de sustitución aromática, reducción de sustituyentes, alquilación de sustituyentes y oxidación de sustituyentes. Los reactivos y las condiciones de reacción para tales procedimientos son bien conocidos en el campo de la química. Los ejemplos particulares de reacciones de sustitución aromática incluyen la introducción de un grupo nitro utilizando ácido nítrico concentrado, la introducción de un grupo acilo utilizando, por ejemplo, un haluro de acilo y un ácido de Lewis (como el tricloruro de aluminio) en condiciones de Friedel Crafts; la introducción de un grupo alquilo utilizando un haluro de alquilo y un ácido de Lewis (como el tricloruro de aluminio) en condiciones de Friedel Crafts; y la introducción de un grupo halógeno. Los ejemplos particulares de modificaciones incluyen la reducción de un grupo nitro a un grupo amino mediante, por ejemplo, hidrogenación catalítica con un catalizador de níquel o tratamiento con hierro en presencia de ácido clorhídrico con calentamiento; la oxidación de alquiltio en alquilsulfinilo o alquilsulfonilo.

20 También se apreciará que en algunas de las reacciones mencionadas en la presente puede ser necesario/deseable proteger los grupos sensibles en los compuestos. Los expertos en la técnica conocen las instancias en las que la protección se vuelve necesaria o deseable y los métodos adecuados para la protección. Se pueden emplear los grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica estándar (para consultar ejemplos de estos, remítase a T.W. Green, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, 1991). Por lo tanto, si los reactivos incluyen grupos tales como amino, carboxi o hidroxí, puede ser deseable proteger al grupo en algunas de las reacciones mencionadas en el presente documento.

Los compuestos de Fórmula (I), (II) y (III), y cualquier intermedio utilizado para prepararlos, se pueden preparar mediante métodos similares a los mostrados en la sección de Ejemplos.

ENSAYOS BIOLÓGICOS

30 Los siguientes ensayos se usaron para medir los efectos de los compuestos descritos en el presente documento: a) ensayo de potencia de la enzima DNAPK; b) Ensayo de potencia celular de DNAPK. Durante la descripción de los ensayos, generalmente:

35 i. Se han usado las siguientes abreviaturas; DMSO = dimetilsulfóxido; DTT = ditioneitol; EDTA = ácido etilendiaminotetraacético, TR-FRET = transferencia de energía por resonancia de fluorescencia resuelta en el tiempo, ATP = trifosfato de adenosina, DTT = ditioneitol, ADN = ácido desoxirribonucleico, HEPES = ácido (2-hidroxietil) -1-piperazinaetanosulfónico

ii. El valor de CI_{50} fue la concentración del compuesto de prueba que inhibió el 50 % de la actividad biológica.

Ensayo a): Ensayo de potencia de la enzima DNAPK (enzima PC-ADN)

40 La actividad inhibitoria de los compuestos frente a DNAPK se determinó mediante TR-FRET midiendo un sustrato peptídico marcado con fluorescencia que se convertía en un producto fosforilado. El sustrato peptídico marcado con fluorescencia se adquirió en Thermo Fisher Scientific. Se generaron curvas de concentración-respuesta del compuesto semilogarítmicas de 12 puntos, con una concentración superior de 100 μ M a partir de reservas de 10 mM de compuesto solubilizado en DMSO usando un Echo 555 (Labcyte Inc., Sunnyvale, CA). Todos los ensayos se preformaron en placas blancas de bajo volumen Greiner 1536 (Greiner Bio-One, Reino Unido), en un volumen de reacción total de 3 μ l y un 45 1 % (v/v) de concentración final de DMSO. Las enzimas y los sustratos se añadieron por separado a las placas de compuesto y se incubaron a temperatura ambiente. Después, la reacción de cinasa se interrumpió mediante la adición

de 3 µl de tampón de parada. Las placas de ensayo detenidas se leyeron utilizando un BMG Pherastar. Los valores de CI_{50} se calcularon usando un software Genedata Screener® (Genedata, Inc., Basel, Suiza).

5 La proteína DNAPK humana de longitud completa se purificó a partir del extracto de células HeLa mediante intercambio iónico. Inicialmente, la proteína DNAPK se incubó con el compuesto durante 30 minutos a temperatura ambiente en un tampón de reacción (Hepes 50 mM pH 7.5, Brij-35 al 0.01%, $MgCl_2$ 10 mM, EGTA 1 mM, DTT 1 mM, 2 µg/ml de ADN de timo de ternero). La reacción se inició entonces mediante la adición de ATP y sustrato peptídico marcado por fluorescencia (Fluoresceína-EPPLSQEAFADLWKK, Thermo Fisher Scientific). La reacción de cinasa (ATP 18 µM, DNAPK 35 pM, sustrato peptídico 1.6 µM) se interrumpió después de 40 minutos mediante la adición de 3 µl de tampón de parada (Tris 20 mM pH 7.5, azida sódica al 0.02 %, Nonidet-P40 al 0.01 %, EDTA 20 µM, anticuerpo Tb anti-phospho-p53 [Ser15] 4 nM). La reacción se incubó durante una hora más y las placas se leyeron en un BMG Pherastar.

Los datos se analizaron y los valores de CI_{50} se calcularon usando el software Genedata Screener® (Genedata, Inc., Basel, Suiza). Los valores de pCI_{50} se calcularon como el logaritmo negativo de la concentración molar del compuesto requerida para una reducción del 50% en la respuesta medida.

b) Ensayo de potencia celular de DNAPK (célula PC-ADN)

15 Los compuestos o DMSO (dimetilsulfóxido) se dispensaron de las placas de origen que contenían compuestos a 10 mM en DMSO al 100% (v/v) o DMSO al 100%, directamente en placas de ensayo de células usando un dispensador Echo 555 Acoustic (Labcyte Inc™). Se diluyeron reservas de 10 mM de compuesto 1:100 usando un manipulador de líquido de punta fija con 96 cabezales Agilent VPrep (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) para dar cuatro diluciones de intermedio (10 mM, 100 µM, 1 µM, 10 nM). Esta placa de dilución de intermedio de 1:100 se usó entonces por el Echo para dispensar compuestos y DMSO directamente en las placas de células con un intervalo de dosis de 12 puntos (30, 10, 3.125, 1.25, 0.3, 0.1, 0.03125, 0.0125, 0.003, 0.001, 0.0003125, 0.00003 µM) con el fin de calcular los valores de CI_{50} de los compuestos, con una concentración de DMSO total en el ensayo del 0.3 % (v/v).

25 El ensayo ELISA de células DNAPK se realizó en la línea celular A549. Las células A549 se cultivaron en un medio celular compuesto por MEM-F12 (medio esencial mínimo F12 Sigma #D6421), suero fetal de ternera al 10% (v/v) y L-Glutamina 200 mM al 1% (v/v). Después de la recolección, las células se dispensaron en placas Costar de color negro de 384 pocillos (#3712, Corning) para dar 15,000 células por pocillo en un volumen total de 40 µl de medio celular, y se incubaron durante una noche a 37 °C, al 90% de humedad relativa y CO_2 al 5% en una incubadora giratoria. Las placas ELISA de 384 pocillos de alta unión de color negro Greiner 781077 se cubrieron con 0.5 µg/ml de anticuerpo DNAPK (Abcam #ab1832) en PBS/A durante una noche a 4 °C. Al día siguiente, las placas Greiner ELISA se lavaron 3 veces con PBS-T y se bloquearon con BSA al 3 %/PBS durante ~2 h, antes de un lavado 3 x adicional con PBS-T.

35 Los compuestos de ensayo y los controles de referencia se dosificaron directamente en las placas de células usando un dispensador acústico Labcyte Echo 555. Las placas celulares se incubaron después durante 1 hora a 37 °C antes de recibir una dosis de radiación de 8 Gy (XRAD 320, altura de la mesa 65). Las células se incubaron durante 1 hora más antes de la eliminación de los medios celulares. Se dispuso un tampón de lisis (preparación interna con adición de comprimidos de cóctel de inhibidor de proteasa, Roche n.º 04 693 116 001 y comprimidos de inhibidor de fosfatasa, Roche n.º 04906837001) a 25 µl/pocillo y las placas se incubaron a 4 °C durante 30 min. Los lisados celulares (20 µl/pocillo) se transfirieron a las placas ELISA revestidas con anticuerpo DNAPK usando una plataforma de tratamiento de líquidos CyBio Felix, y las placas ELISA se incubaron a 4 °C durante una noche.

40 El día siguiente, las placas de ELISA se lavaron 3 veces con PBS-T y se dispensaron con anticuerpo pS2056-DNAPK interno (0.5 µg/ml en BSA al 3%/PBS) a 20 µl/pocillo. Las placas se incubaron con anticuerpo durante 2 h a temperatura ambiente (TA) antes de lavarlas 3 veces con PBS-T. Se dispuso anticuerpo secundario de HRP anti-conejo de cabra (dilución 1:2000 en BSA al 3%/PBS; Cell Signaling n.º 7074) a 20 µl/pocillo y las placas se incubaron a TA durante 1 h antes de 3 lavados con PBS-T.

45 La solución de sustrato de trabajo QuantaBlu (Thermo Scientific n.º 15169, preparada según las instrucciones del fabricante) se dispuso a 20 µl/pocillo y las placas se incubaron a TA durante 1 h antes de dispensar 20 µl/pocillo con solución de parada QuantaBlu incluida en el kit (Thermo Scientific n.º 15169). La intensidad de fluorescencia de los pocillos individuales se determinó usando un lector de placas PerkinElmer EnVision.

50 Los datos se analizaron y los valores de CI_{50} se calcularon usando el software Genedata Screener® (Genedata, Inc., Basel, Suiza). Los valores de pCI_{50} se calcularon como el logaritmo negativo de la concentración molar del compuesto requerida para una reducción del 50% en la respuesta medida.

c) Ensayo de enzima TTK

55 La actividad inhibidora de los compuestos contra TTK se determinó en un ensayo de unión a Eu cinasa LanthaScreen® ejecutado por ThermoFisher Scientific como parte de su servicio de perfil de cinasa bioquímica SelectScreen®. El formato de ensayo de unión a Eu cinasa LanthaScreen® utiliza la unión de un conjugado Alexa Fluor® o "trazador" a una cinasa, que se detecta mediante la adición de un anticuerpo anti-etiqueta marcado con Eu. La unión del trazador y el anticuerpo a una cinasa da como resultado un alto grado de FRET, mientras que el desplazamiento del trazador con

un inhibidor de cinasa da como resultado una pérdida de FRET. El grado de FRET medido en el ensayo se usa para determinar la unión de un compuesto.

Se generaron curvas de concentración-respuesta del compuesto de dilución en tres veces de 10 puntos, con una concentración superior de 10 μM a partir de reservas de 10 mM de compuesto solubilizado en DMSO. Todos los ensayos se realizaron en placas Greiner de 384 pocillos de bajo volumen, de color blanco (cat. n.º 784207, Greiner), en un volumen de reacción total de 16 μl y concentración de DMSO final al 1 % (v/v). Se añadieron por separado 3.84 μl de tampón cinasa (HEPES 50 mM, pH 7.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM), 8 μl de mezcla 2x de cinasa/anticuerpo (concentraciones finales TTK 5 nM, Eu-anti-GST 2 nM, preparadas en tampón cinasa) y 4 μl de solución de trazador marcado 4 veces AlexaFluor® (concentraciones finales Tracer 236 30 nM, preparadas en tampón cinasa) a las placas de compuesto, se colocaron en un agitador de placas durante 30 segundos, y después se incubaron durante 60 min a temperatura ambiente. Las placas se leyeron entonces usando un lector de placas de fluorescencia. Los valores de Cl_{50} se calcularon usando el software XLfit (IDBS Ltd, Surrey, Reino Unido), con el ajuste de la curva para el modelo número 205 (modelo de dosis-respuesta sigmoidal).

d) Ensayos de enzima Aurora-A, Aurora-B, JAK1, JAK2, JAK3

La actividad inhibidora de los compuestos contra AURKA, AURKB, JAK1, JAK2 y JAK3 se determinó en ensayos Z'-LYTE® realizados por ThermoFisher Scientific como parte de su servicio de perfil de cinasa bioquímica SelectScreen®. El formato de ensayo bioquímico Z'-LYTE® emplea un formato de enzima acoplada basada en fluorescencia y se basa en la sensibilidad diferencial de los péptidos fosforilados y no fosforilados a la escisión proteolítica. El sustrato peptídico está marcado con dos fluoróforos, uno en cada extremo, que forman un par de FRET. En la reacción primaria, la cinasa transfiere el gamma-fosfato de ATP a un único residuo de tirosina, serina o treonina en un péptido FRET sintético. En la reacción secundaria, una proteasa específica de sitio reconoce y escinde péptidos FRET no fosforilados. La fosforilación de péptidos FRET suprime la escisión por el Reactivo de Desarrollo. La escisión altera FRET entre los fluoróforos donante (es decir, cumarina) y aceptor (es decir, fluoresceína) en el péptido FRET, mientras que los péptidos FRET sin fosforilación conservados mantienen la FRET. Un método ratiométrico, que calcula la relación (la relación de emisión) de la emisión del donante a la emisión del aceptor después de la excitación del fluoróforo donante a 400 nm, se usa para cuantificar el progreso de la reacción. Tanto los péptidos FRET escindidos como los no escindidos contribuyen a las señales de fluorescencia y, por lo tanto, a la relación de emisiones. El grado de fosforilación del péptido FRET se puede calcular a partir de la Relación de emisión. La relación de emisión permanecerá baja si el péptido FRET está fosforilado (es decir, sin inhibición de cinasa) y será alto si el péptido FRET no está fosforilado (es decir, inhibición de cinasa).

Se generaron curvas de concentración-respuesta del compuesto de dilución en tres veces de 10 puntos, con una concentración superior de 10 μM a partir de reservas de 10 mM de compuesto solubilizado en DMSO. Todos los ensayos se realizaron en placas Corning de 384 pocillos de color negro, de bajo volumen y sin unión (Cat. n.º 4514, Corning), en un volumen de reacción total de 10 μl y concentración de DMSO final al 1 % (v/v). Se añadieron por separado 2.4 μl de tampón cinasa (HEPES 50 mM, pH 7.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM), 5 μl de mezcla 2x de péptido/cinasa (detallada a continuación para cada cinasa) y 2.5 μl de solución de ATP 4x (preparada en tampón cinasa) a las placas de compuesto, se colocaron en un agitador de placas durante 30 segundos, y luego se incubaron durante 60 min a temperatura ambiente. La reacción de la cinasa se inactivó entonces mediante la adición de 5 μl de reactivo de desarrollo (propiedad de ThermoFisher Scientific). Las placas de ensayo se colocaron en un agitador de placas durante 30 segundos, se incubaron durante 60 minutos a temperatura ambiente, y luego se leyeron utilizando un lector de placas de fluorescencia. Los valores de Cl_{50} se calcularon usando el software XLfit (IDBS Ltd, Surrey, Reino Unido), con el ajuste de la curva para el modelo número 205 (modelo de dosis-respuesta sigmoidal).

Aurora A (AurA): La mezcla 2X AURKA (Aurora A)/Ser/Thr 01 (propiedad de ThermoFisher Scientific) se preparó en HEPES 50 mM pH 7.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM. La reacción de cinasa de 10 μl final consistió en AURKA 15 nM (Aurora A), Ser/Thr 01 2 μM y ATP 10 μM (Km app) en HEPES 50 mM pH 7.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM. Después de 1 hora de incubación de la reacción de cinasa, se añadieron 5 μl de una dilución 1:4096 del reactivo de desarrollo.

Aurora B (AurB): La mezcla 2X AURKB (Aurora B)/Ser/Thr 01 (propiedad de ThermoFisher Scientific) se preparó en HEPES 50 mM pH 7.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM. La reacción de cinasa de 10 μl final consistió en AURKB 23 nM (Aurora B), Ser/Thr 01 2 μM y ATP 75 μM (Km app, medido como ATP 81 μM) en HEPES 50 mM pH 7.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM. Después de 1 hora de incubación de la reacción de cinasa, se añadieron 5 μl de una dilución 1:4096 del reactivo de desarrollo.

JAK1: La mezcla 2X JAK1/Tyr 06 (propiedad de ThermoFisher Scientific) se preparó en HEPES 50 mM pH 6.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM, NaN_3 al 0.02%. La reacción de cinasa de 10 μl final consistió en JAK1 74 nM, Tyr 06 2 μM y ATP 75 μM (Km app, medido como ATP 87 μM) en HEPES 50 mM pH 7.0, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM, NaN_3 al 0.01%. Después de 1 hora de incubación de la reacción de cinasa, se añadieron 5 μl de una dilución 1:128 del reactivo de desarrollo.

JAK2: La mezcla 2X JAK2/Tyr 06 (propiedad de ThermoFisher Scientific) se preparó en HEPES 50 mM pH 7.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM. La reacción de cinasa de 10 μl final consistió en JAK2 0.27 nM, Tyr 06 2 μM y

ATP 25 μM (Km app, medido como ATP 31 μM) en HEPES 50 mM pH 7.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM. Después de 1 hora de incubación de la reacción de cinasa, se añadieron 5 μl de una dilución 1:128 del reactivo de desarrollo.

5 **JAK3:** La mezcla 2X JAK3/Tyr 06 (propiedad de ThermoFisher Scientific) se preparó en HEPES 50 mM pH 7.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM. La reacción de cinasa de 10 μl final consistió en JAK3 2.4 nM, Tyr 06 2 μM y ATP 10 μM (Km app, medido como ATP 14 μM) en HEPES 50 mM pH 7.5, BRIJ-35 al 0.01%, MgCl_2 10 mM, EGTA 1 mM. Después de 1 hora de incubación de la reacción de cinasa, se añadieron 5 μl de una dilución 1:128 del reactivo de desarrollo.

e) Combinación modelo de xenoinjerto de ratón - Olaparib

10 Se transplantaron s.c. en ratones scid hembra 5 millones de células de la línea celular de cáncer de faringe nula ATM FaDu ATM KO para determinar la actividad antitumoral in vivo de un inhibidor de PC-ADN y su combinación con olaparib.

15 Los animales se aleatorizaron inicialmente en grupos de 15 cuando los tumores alcanzaron un volumen de 290 mm^3 y comenzó el tratamiento. Este modelo tumoral tiene una tasa de pérdida tumoral del 50 %, donde se esperaba que hasta 8 animales por grupo se perdieran del análisis del estudio debido a la ulceración espontánea de sus tumores. A los animales se les dosificó dos veces al día un compuesto de Fórmula (I) por vía oral, con ambas dosis orales separadas 8 h. Olaparib se dosificó a diario 1 h después de la primera dosis diaria de un compuesto de Fórmula (I). Los tumores se midieron tres veces por semana mediante un calibrador y se usó el volumen de los tumores calculado usando la fórmula $[\text{longitud} \times \text{anchura}^2]/2$, donde la longitud y el ancho son los diámetros más largos y los más cortos del tumor, respectivamente. Olaparib se formuló en un DMSO al 10% (p/v)/HP-b-CD al 10% (p/v) (Kleptosia), agua al 80% para solución inyectable. Los compuestos de Fórmula (I) se formularon en una hidroxipropil metilcelulosa al 0.5% (p/v) (HPMC), Tween 80 al 0.1% (v/v).

20 Los resultados del ensayo del Ejemplo 3 en el ensayo e) se muestran en la figura 5. "qd" significa una dosis diaria. "bid" significa una dosis dos veces al día.

25 f) Ensayos de crecimiento celular – actividad *in vitro* de la combinación con el inhibidor de ATR o ATM

Se usaron ensayos de crecimiento celular para determinar la actividad *in vitro* de un compuesto de Fórmula (I) y sus combinación con un inhibidor de ATR (AZD6738) y ATM (AZD0156).

30 La línea celular de cáncer de faringe FaDu se cultivó rutinariamente en medio RPMI libre de rojo fenol (Sigma) complementado con suero de ternera fetal al 10% y GlutaMAX al 1% (Thermo Fisher). Los cultivos se mantuvieron a 37 °C en una atmósfera humidificada con CO_2 al 5%. Las células se separaron usando la solución TryLE Express (Thermo Fisher) y se colocaron en placas a 500 células por pocillo en 70 μl de medio de cultivo en dos placas de fondo plano de 384 pocillos (Greiner, número de catálogo 781090). En la placa de prueba, las células se trataron el día siguiente (Día 0) con el Ejemplo 3 (3 μM), AZD6738 (1 μM), AZD0156 (0.3 μM), una combinación de compuestos inhibidores o vehículo en el volumen apropiado como experimento de control, usando el manipulador Liquid Echo 555 (Labcyte). Todos los inhibidores se reconstituyeron en un vehículo de DMSO al 100%.

35 Los números de células se determinaron usando la tinción de ácido nucleico verde SYTOX (Thermo Fisher, número de catálogo S7020). Las células se incubaron con 5 μl de solución verde SYTOX (1:2500 en solución salina tamponada con Tris y EDTA 5 mM) durante 1.5 horas a temperatura ambiente en la oscuridad y el número de células muertas se cuantificó usando el generador de imágenes de alto contenido Acumen (TTP LabTech). El número total de células se cuantificó después de 16 horas de incubación a temperatura ambiente en la oscuridad con 10 μl de solución de saponina (0.25% en solución salina tamponada con Tris y EDTA 5 mM) en el Acumen.

40 Los datos se analizaron usando el software GeneData Screener (anализador de ensayos). En resumen, los números de células vivas se calcularon restando números de células muertas del número total de células. Los números de células vivas se normalizaron en relación con el número de células del día 0. El crecimiento celular en respuesta al tratamiento con inhibidor (% de actividad) se determinó ajustando los datos a una escala del 0 - 200% con respecto a los experimentos de control, el 0% no representa ningún cambio relativo al control, 100% representa la inhibición total del crecimiento celular, y 200% representa la muerte celular total. Los datos se representaron gráficamente como % de actividad media \pm DE de tres experimentos independientes.

Los resultados del ensayo del Ejemplo 3 en el ensayo f) se muestran en las figuras 6 y 7.

50 Los ejemplos se ensayaron en los ensayos a) b) c) y d) y se observaron los siguientes datos. Los valores pCI50 informados a continuación son el resultado promedio calculado de al menos 2 experimentos.

Ejemplo	pCI50 de enz PC-ADN	pCI50 de célula PC-ADN	pCI50 de enz TTK	pCI50 de enz JAK1	pCI50 de enz JAK2	pCI50 de enz JAK3	pCI50 de enz AurA	pCI50 de enz AurB
1	>10	7.3	5.5	<5	<5	<5	<5	<5
2	9.8	7.3	6.1	<5	<5	<5	<5	<5
3	9.2	7.1	5.3	<5	<5	<5	<5	<5
4	8.9	6.8	5.1	<5	<5	<5	<5	<5
5	9	6.9	5.3	<5	<5	<5	<5	<5
6	9.6	7.4	5.9	<5	<5	<5	<5	<5
7	9.8	7.3	5.2	<5	<5	<5	<5	<5
8	9.4	7.2	5.2	<5	<5	<5	<5	<5
9	9.5	6.9	5.4	<5	<5	<5	<5	<5
10	9.4	7.2	6.3	<5	<5	<5	<5	<5
11	9.3	6.8	<5.1	<5	<5	<5	<5	<5
12	9.7	7.4	5.8	<5	<5	<5	<5	<5
13	9.8	7.6	6.3	<5	<5	<5	5.4	<5

A partir de los datos medidos se puede ver que los Ejemplos son inhibidores de PC-ADN que son selectivos contra estas dianas particulares: TTK, JAK1, JAK2, JAK3, Aurora A, Aurora B. Al comparar la enzima, los valores pCI50 indican que los Ejemplos tienen >3 log unidades de selectividad de PC-ADN con respecto a las demás dianas mostradas. Esto equivale a una selectividad >1000 veces mayor entre los valores de CI50.

- 5 Los compuestos pueden seleccionarse además en función de otras propiedades biológicas o físicas que pueden medirse con técnicas conocidas en la técnica y que pueden utilizarse en la evaluación o selección de compuestos para su aplicación terapéutica o profiláctica.

Como resultado de su actividad inhibidora de ADN-PK, se espera que los compuestos de Fórmula (I), y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, sean útiles en terapia.

- 10 Se ha encontrado que los compuestos de Fórmula (I) poseen una potente actividad antitumoral que se cree que se obtiene por medio de la inhibición de PC-ADN.

En consecuencia, los compuestos de la presente invención son valiosos como agentes antitumorales. Particularmente, los compuestos de la presente invención son valiosos como agentes antiproliferativos, apoptóticos y/o antiinvasivos en la contención y/o el tratamiento de enfermedades en las que se desarrollan tumores sólidos y/o líquidos. Particularmente, se espera que los compuestos de la presente invención sean útiles en la prevención o el tratamiento de aquellos tumores que son sensibles a la inhibición de PC-ADN. Además, se espera que los compuestos de la presente invención sean útiles en la prevención o el tratamiento de aquellos tumores que están mediados solo o en parte por PC-ADN. Por lo tanto, los compuestos se pueden usar para producir un efecto inhibidor de la enzima PC-ADN en un animal de sangre caliente que necesita dicho tratamiento.

- 20 Como se indica en el presente documento, los inhibidores de PC-ADN deberían ser de valor terapéutico para el tratamiento de una enfermedad proliferativa tal como cáncer, y en particular tumores sólidos tales como carcinoma y sarcomas y las leucemias y neoplasias linfoides, y en particular para el tratamiento de, por ejemplo, cáncer de mama, colorrectal, de pulmón (incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer bronquioalveolar) y próstata, y de cáncer del conducto biliar, óseo, de vejiga, cabeza y cuello, riñón, hígado, tejido gastrointestinal, esófago, ovario, páncreas, piel, testículos, tiroides, útero, cuello uterino y vulva, y de leucemias [incluyendo leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia linfocítica aguda (LLA) y leucemia mielógena crónica (LMC)], mieloma múltiple y linfomas.

- 30 Los efectos anticancerosos que son por lo tanto útiles en el tratamiento del cáncer en un paciente incluyen, pero no se limitan a, efectos antitumorales, la tasa de respuesta, el tiempo que transcurre hasta el avance de la enfermedad y la tasa de supervivencia. Los efectos antitumorales de un método de tratamiento descrito en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, la inhibición del crecimiento del tumor, el retraso del crecimiento del tumor, la regresión del tumor, la contracción del tumor, que transcurra más tiempo antes de que el tumor vuelva a crecer después de la

interrupción del tratamiento y la ralentización del avance de la enfermedad. Los efectos anticancerosos incluyen el tratamiento profiláctico así como también el tratamiento de la enfermedad existente.

Un inhibidor de PC-ADN, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, también puede ser útil para el tratamiento de pacientes con cánceres, incluyendo, pero sin limitación, neoplasias hematológicas tales como leucemia, mieloma múltiple, linfomas tales como la enfermedad de Hodgkin y linfomas no Hodgkin (incluyendo linfoma de células del manto) y síndromes mielodisplásicos, y también tumores sólidos y sus metástasis, tales como cáncer de mama, cáncer de pulmón (cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC), carcinoma de células escamosas), cáncer de endometrio, tumores del sistema nervioso central tales como gliomas, tumor neuroepitelial disembrionárico, glioblastoma multiforme, gliomas mixtos, meduloblastoma, retinoblastoma, neuroblastoma, germinoma y teratoma, cánceres del tracto gastrointestinal, tales como cáncer gástrico, cáncer de esófago, carcinoma hepatocelular (hígado), colangiocarcinomas, carcinomas de colon y rectales, cánceres de intestino delgado, cánceres de páncreas, cánceres de piel tal como melanoma (en particular, melanoma metastásico), cánceres de tiroides, cánceres de cabeza y cuello y cánceres de las glándulas salivales, próstata, testículos, ovario, cuello uterino, útero, vulva, vejiga, riñón (incluyendo carcinoma de células renales, células claras y oncocitoma renal), carcinomas de células escamosas, sarcomas tales como osteosarcoma, condrosarcoma, leiomiomas, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma de Ewing, tumor del estroma gastrointestinal (GIST), sarcoma de Kaposi y cánceres pediátricos tales como rhabdomiomas y neuroblastomas. Cuando se menciona "cáncer", incluye tanto cáncer no metastásico como cáncer metastásico, de tal forma que tratar el cáncer implica el tratamiento tanto de tumores primarios como de metástasis tumorales.

"Actividad inhibidora de PC-ADN" se refiere a una disminución en la actividad de PC-ADN como respuesta directa o indirecta a la presencia de un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en relación con la actividad de PC-ADN en ausencia del compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Tal disminución en la actividad puede ser debida a la interacción directa del compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con PC-ADN, o debido a la interacción del compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con uno o más factores que a su vez afectan a la actividad de PC-ADN. Por ejemplo, el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede disminuir la PC-ADN uniéndose directamente a la PC-ADN, haciendo que (directa o indirectamente) otro factor disminuya la actividad de PC-ADN, o disminuyendo (directamente o indirectamente) la cantidad de PC-ADN presente en la célula u organismo.

El término "terapia" tiene el significado normal de tratar una enfermedad para aliviar total o parcialmente uno, algunos o todos sus síntomas, o corregir o compensar la patología subyacente. El término "terapia" también incluye la "profilaxis" a menos que se indique específicamente lo contrario. Los términos "terapéutico" y "terapéuticamente" se deben interpretar en consecuencia.

El término "profilaxis" pretende tener su significado normal e incluye profilaxis primaria para prevenir el desarrollo de la enfermedad y profilaxis secundaria mediante la cual la enfermedad ya se ha desarrollado y el paciente está protegido temporal o permanentemente contra la exacerbación o el empeoramiento de la enfermedad o el desarrollo de nuevos síntomas asociados con la enfermedad.

El término "tratamiento" se usa como sinónimo de "terapia". De manera similar, el término "tratar" puede considerarse como "aplicar terapia" donde "terapia" es como se define en el presente documento.

En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.

En una realización, se proporciona el uso del compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento.

En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad mediada por PC-ADN. En una realización, dicha enfermedad mediada por PC-ADN es cáncer. En una realización, dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide aguda, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas. En una realización, dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello y cáncer de pulmón. En una realización, dicho cáncer es cáncer colorrectal.

En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer.

En una realización, se proporciona el uso del compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad mediada por PC-ADN. En una realización, dicha enfermedad mediada por PC-ADN es cáncer. En una realización, dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide aguda, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello,

5 cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas. En una realización, dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello y cáncer de pulmón. En una realización, dicho cáncer es cáncer colorrectal.

En una realización, se proporciona el uso del compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.

10 En el presente documento se describe un método para tratar una enfermedad en la que la inhibición de PC-ADN es beneficiosa en un animal de sangre caliente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal de sangre caliente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En un caso, dicha enfermedad es cáncer. En un caso, dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide aguda, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas. En un caso, dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello y cáncer de pulmón. En un caso, dicho cáncer es cáncer colorrectal.

20 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto de Fórmula (I) como se describe en cualquiera de las realizaciones en el presente documento que es eficaz para proporcionar "terapia" en un sujeto, o para "tratar" una enfermedad o trastorno en un sujeto. En el caso de cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz puede causar cualquiera de los cambios que pueden observarse o medirse en un sujeto como se describe en la definición de "terapia", "tratamiento" y "profilaxis" anteriormente. Por ejemplo, la cantidad eficaz puede reducir el número de células cancerosas o tumorales; reducir el tamaño total del tumor; inhibir o detener la infiltración de células tumorales en órganos periféricos incluyendo, por ejemplo, el tejido blando y el hueso; inhibir y detener la metástasis tumoral; inhibir y detener el crecimiento tumoral; aliviar en cierta medida uno o más de los síntomas asociados con el cáncer; reducir la morbilidad y la mortalidad; mejorar la calidad de vida; o una combinación de dichos efectos. Una cantidad eficaz puede ser una cantidad suficiente para disminuir los síntomas de una enfermedad que responde a la inhibición de la actividad de PC-ADN. Para la terapia contra el cáncer, la eficacia *in vivo* se puede medir, por ejemplo, evaluando la duración de la supervivencia, el tiempo hasta el avance de la enfermedad (TTP, por sus siglas en inglés), las tasas de respuesta (RR, por sus siglas en inglés), la duración de la respuesta y/o la calidad de vida. Como se reconoce por los expertos en la técnica, las cantidades eficaces pueden variar dependiendo de la ruta de administración, el uso de excipientes y el uso conjunto con otros agentes. Por ejemplo, cuando se usa una terapia de combinación, la cantidad del compuesto de Fórmula (I) o sal farmacéuticamente aceptable descrita en esta memoria descriptiva, y la cantidad de otro agente o agentes farmacéuticamente activos son, cuando se combinan, conjuntamente eficaces para tratar una trastorno dirigido en el paciente animal. En este contexto, las cantidades combinadas están en una "cantidad terapéuticamente eficaz" si, cuando se combinan, son suficientes para disminuir los síntomas de una enfermedad que responde a la inhibición de la actividad de PC-ADN como se ha descrito anteriormente. Típicamente, dichas cantidades pueden determinarse por un experto en la técnica, por ejemplo, comenzando con el intervalo de dosificación descrito en esta memoria descriptiva para el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un intervalo o intervalos de dosificación aprobados o publicados de otro modo del otro compuesto o compuestos farmacéuticamente activos.

"Animales de sangre caliente" incluyen, por ejemplo, seres humanos.

45 En el presente documento se describe un método para tratar el cáncer en un animal de sangre caliente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal de sangre caliente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En un caso, dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide aguda, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas. En un caso, dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello y cáncer de pulmón. En un caso, dicho cáncer es cáncer colorrectal.

55 En cualquier realización en la que el cáncer se menciona en un sentido general, dicho cáncer puede seleccionarse del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide aguda, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas. Dicho cáncer también puede seleccionarse del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello y cáncer de pulmón.

En cualquier realización en la que se mencione el cáncer en un sentido general, pueden aplicarse las siguientes realizaciones:

En una realización, el cáncer es cáncer colorrectal.

En una realización, el cáncer es glioblastoma.

5 En una realización, el cáncer es cáncer gástrico.

En una realización, el cáncer es cáncer esofágico.

En una realización, el cáncer es cáncer de ovarios.

En una realización, el cáncer es cáncer de endometrio.

En una realización, el cáncer es cáncer del cuello del útero.

10 En una realización, el cáncer es linfoma difuso de linfocitos B grandes.

En una realización, el cáncer es leucemia linfocítica crónica.

En una realización, el cáncer es leucemia mieloide aguda.

En una realización, el cáncer es carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.

En una realización, el cáncer es cáncer de mama.

15 En una realización, el cáncer es cáncer de mama triple negativo.

En una realización, el cáncer es cáncer de próstata.

En una realización, el cáncer es cáncer de vejiga.

"Cáncer de mama triple negativo" es cualquier cáncer de mama que no expresa los genes para el receptor de estrógenos, el receptor de progesterona y Her2/neu.

20 En una realización, el cáncer es carcinoma hepatocelular.

En una realización, el cáncer es cáncer de pulmón.

En una realización, el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón de células pequeñas.

En una realización, el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón de células no pequeñas.

En una realización, el cáncer es cáncer metastásico.

25 En una realización, el cáncer metastásico comprende metástasis del sistema nervioso central.

En una realización, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis cerebrales.

En una realización, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis leptomenígeas.

Las "metástasis leptomenígeas" se producen cuando el cáncer se disemina a las meninges, las capas de tejido que cubren el cerebro y la médula espinal. La metástasis se puede extender a las meninges a través de la sangre o se puede trasladar a partir de la metástasis encefálica, transportada por el fluido cerebroespinal (FCE) que fluye a través de las meninges.

30

En una realización, el cáncer es cáncer no metastásico.

El tratamiento anticanceroso descrito en esta memoria descriptiva puede ser útil como terapia única, o puede implicar, además de la administración del compuesto de Fórmula (I), cirugía convencional, radioterapia o quimioterapia; o una combinación de dichas terapias adicionales. Dicha cirugía convencional, radioterapia o quimioterapia pueden administrarse simultáneamente, secuencialmente o por separado al tratamiento con el compuesto de Fórmula (I).

35

La radioterapia puede incluir una o más de las siguientes categorías de terapia:

i. Radioterapia externa con radiación electromagnética, y radioterapia intraoperatoria con radiación electromagnética;

40

ii. Terapia de radiación interna o braquiterapia; incluyendo radioterapia intersticial o radioterapia intraluminal; o

iii. Radioterapia sistémica, que incluye, pero sin limitación, yodo 131 y estroncio 89.

5 Por lo tanto, en una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y radioterapia, para su uso en el tratamiento de cáncer. En una realización, el cáncer es NSCLC, SCLC, cáncer de vejiga, de próstata, esofágico, de cabeza y cuello y de mama. En una realización, el cáncer es glioblastoma. En una realización, el cáncer es cáncer metastásico. En una realización, el cáncer metastásico comprende metástasis del sistema nervioso central. En una realización, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis cerebrales. En una realización, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis leptomenígeas.

10 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con radioterapia. En una realización, el cáncer es NSCLC, SCLC, cáncer de vejiga, de próstata, esofágico, de cabeza y cuello y de mama. En una realización, el cáncer es glioblastoma. En una realización, el cáncer es cáncer metastásico. En una realización, el cáncer metastásico comprende metástasis del sistema nervioso central. En una realización, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis cerebrales. En una realización, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis leptomenígeas.

15 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y radioterapia, para su uso en el tratamiento simultáneo, por separado o secuencial del cáncer. En una realización, el cáncer se selecciona de glioblastoma, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células pequeñas o cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de próstata, cáncer de vejiga, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer esofágico, cáncer del cuello del útero y
20 cáncer de endometrio. En una realización, el cáncer es glioblastoma. En una realización, el cáncer es cáncer metastásico. En una realización, el cáncer metastásico comprende metástasis del sistema nervioso central. En una realización, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis cerebrales. En una realización, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis leptomenígeas.

25 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra simultáneamente, por separado o secuencialmente con radioterapia. En una realización, el cáncer se selecciona de glioblastoma, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células pequeñas o cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de próstata, cáncer de vejiga, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer esofágico, cáncer del cuello del útero y
30 cáncer de endometrio. En una realización, el cáncer es glioblastoma. En una realización, el cáncer es cáncer metastásico. En una realización, el cáncer metastásico comprende metástasis del sistema nervioso central. En una realización, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis cerebrales. En una realización, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis leptomenígeas.

35 En el presente documento se describe un método de tratamiento de cáncer en un animal de sangre caliente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal de sangre caliente un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y radioterapia, en la que el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y la radioterapia son eficaces conjuntamente en la producción de un efecto anticanceroso. En un caso, el cáncer se selecciona de glioblastoma, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células pequeñas o cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de próstata, cáncer de vejiga, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer esofágico, cáncer del cuello del útero y cáncer de endometrio. En un caso, el cáncer es glioblastoma. En un caso, el cáncer es cáncer metastásico. En un caso, el cáncer metastásico comprende metástasis del sistema nervioso central. En un caso, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis cerebrales. En un caso, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis leptomenígeas.

45 En el presente documento también se describe un método de tratamiento de cáncer en un animal de sangre caliente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal de sangre caliente un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y administrar simultáneamente, por separado o secuencialmente radioterapia, en la que el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y la radioterapia son eficaces conjuntamente en la producción de un efecto anticanceroso. En un caso, el cáncer es glioblastoma. En un caso, el cáncer es cáncer metastásico. En un caso, el cáncer metastásico comprende metástasis del sistema nervioso central. En un caso, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis cerebrales. En un caso, las metástasis del sistema nervioso central comprenden metástasis leptomenígeas.

50 En cualquier realización, la radioterapia se selecciona del grupo que consiste en una o más de las categorías de radioterapia enumeradas en los puntos (i) - (iii) anteriores.

55 La quimioterapia puede incluir una o más de las siguientes categorías de sustancias antitumorales:

i. Agentes antineoplásicos y combinaciones de los mismos, tales como agentes alquilantes de ADN (por ejemplo, cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, ciclofosfamida, mostazas nitrogenadas como ifosfamida, bendamustina, melfalán, clorambucilo, busulfano, temozolamida y nitrosoureas como carmustina); antimetabolitos (por ejemplo,

gemcitabina y antifolatos tales como fluoropirimidinas como 5-fluorouracilo y tegafur, raltitrexed, metotrexato, citosina arabinósido e hidroxiaurea); antibióticos antitumorales (por ejemplo, antraciclinas como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, doxorubicina liposomal, pirarrubicina, daunomicina, valrubicina, epirubicina, idarrubicina, mitomicina-C, dactinomicina, amrubicina y mitramicina); agentes antimetabólicos (por ejemplo, alcaloides de la vinca como vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina y taxoides como taxol y taxotere e inhibidores de la polioquina); e inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo, epipodofilotoxinas como etopósido y tenipósido, amsacrina, irinotecán, topotecán y camptotecina); inhibidores de mecanismos de reparación de ADN tales como CHK cinasa; inhibidores de ATM (tales como AZD0156 y AZD1390); inhibidores de poli(ADP-ribosa)polimerasa (inhibidores de PARP, incluyendo olaparib); e inhibidores de Hsp90 tales como tanespimicina y retaspimicina, inhibidores de ATR cinasa (tales como AZD6738); e inhibidores de WEE1 cinasa (tal como AZD1775/MK-1775);

ia. Agentes antineoplásicos y combinaciones de los mismos, tales como agentes alquilantes de ADN (por ejemplo, cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, ciclofosfamida, mostazas nitrogenadas como ifosfamida, bendamustina, melfalán, clorambucilo, busulfano, temozolamida y nitrosoureas como carmustina); antimetabólitos (por ejemplo, gemcitabina y antifolatos tales como fluoropirimidinas como 5-fluorouracilo y tegafur, raltitrexed, metotrexato, citosina arabinósido e hidroxiaurea); antibióticos antitumorales (por ejemplo, antraciclinas como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, doxorubicina liposomal, pirarrubicina, daunomicina, valrubicina, epirubicina, idarrubicina, mitomicina-C, dactinomicina, amrubicina y mitramicina); agentes antimetabólicos (por ejemplo, alcaloides de la vinca como vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina y taxoides como taxol y taxotere e inhibidores de la polioquina); e inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo, epipodofilotoxinas como etopósido y tenipósido, amsacrina, irinotecán, topotecán y camptotecina); inhibidores de mecanismos de reparación de ADN tales como CHK cinasa; inhibidores de ATM (tales como AZD0156); inhibidores de poli(ADP-ribosa)polimerasa (inhibidores de PARP, incluyendo olaparib); e inhibidores de Hsp90 tales como tanespimicina y retaspimicina, inhibidores de ATR cinasa (tales como AZD6738); e inhibidores de WEE1 cinasa (tal como AZD1775/MK-1775);

ii. Agentes antiangiogénicos, tales como los que inhiben los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular, por ejemplo, el anticuerpo del factor de crecimiento celular endotelial anti-vascular bevacizumab, y por ejemplo, un inhibidor de tirosina cinasa del receptor de VEGF tal como vandetanib (ZD6474), sorafenib, vatalanib (PTK787), sunitinib (SU11248), axitinib (AG-013736), pazopanib (GW 786034) y cediranib (AZD2171); compuestos tales como los desvelados en las Solicitudes de Patente Internacionales WO97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 y WO 98/13354; y compuestos que trabajan por otros mecanismos (por ejemplo, linomida, inhibidores de la función de integrina $\alpha v \beta 3$ y angiostatina), o inhibidores de angiopoyetinas y sus receptores (Tie-1 y Tie-2), inhibidores de PDGF, inhibidores del ligando tipo delta (DLL-4);

iii. Enfoques de inmunoterapia, incluyendo, por ejemplo, enfoques ex vivo e in vivo para aumentar la inmunogenicidad de células tumorales de pacientes, tales como la transfección con citocinas tales como interleucina 2, interleucina 4 o factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos; enfoques para disminuir la anergia de los linfocitos T o la función reguladora de linfocitos T; enfoques que mejoran las respuestas de los linfocitos T a los tumores, tales como anticuerpos de bloqueo contra CTLA4 (por ejemplo, ipilimumab y tremelimumab), B7H1, PD-1 (por ejemplo, BMS-936558 o AMP-514), PD-L1 (por ejemplo, MEDI4736 (durvalumab)) y anticuerpos agonistas contra CD137; enfoques que usan células inmunes transfectadas tales como células dendríticas transfectadas con citocinas; enfoques que usan líneas celulares de tumor transfectadas con citocinas, enfoques que usan anticuerpos contra antígenos asociados a tumores, y anticuerpos que agotan los tipos de células diana (por ejemplo, anticuerpos anti-CD20 no conjugados tales como Rituximab, anticuerpos anti-CD20 radiomarcados Bexxar y Zevalin, y anticuerpos anti-CD54 Campath); enfoques que usan anticuerpos anti-idiotípicos; enfoques que mejoran la función de células asesinas naturales; y enfoques que utilizan conjugados anticuerpo-toxina (por ejemplo, anticuerpo anti-CD33 Mylotarg); inmunotoxinas tales como moxetumumab pasudotox; agonistas del receptor 7 tipo toll o del receptor 9 tipo toll;

iv. Potenciadores de la eficacia, como leucovorina.

Por lo tanto, en una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos una sustancia antitumoral adicional, para su uso en el tratamiento de cáncer. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra junto con una sustancia antitumoral adicional. En una realización, hay una sustancia antitumoral adicional. En una realización, hay dos sustancias antitumorales adicionales. En una realización, hay tres o más sustancias antitumorales adicionales.

En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos una sustancia antitumoral adicional para su uso en el tratamiento simultáneo, separado o secuencial del cáncer. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra simultáneamente, por separado o secuencialmente con una sustancia antitumoral adicional.

En el presente documento se describe un método de tratamiento de cáncer en un animal de sangre caliente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal de sangre caliente un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos una sustancia antitumoral adicional, en la que las

cantidades del compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y la sustancia antitumoral adicional son eficaces en conjunto en la producción de un efecto anticanceroso.

5 En el presente documento también se describe un método de tratamiento de cáncer en un animal de sangre caliente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar a dicho animal de sangre caliente un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y administrar simultáneamente, por separado o secuencialmente al menos una sustancia antitumoral adicional a dicho animal de sangre caliente, en la que las cantidades del compuesto de Fórmula (I), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y la sustancia antitumoral adicional son eficaces conjuntamente en la producción de un efecto anticanceroso.

10 En cualquier caso, la sustancia antitumoral adicional se selecciona del grupo que consiste en una o más sustancias antitumorales enumeradas en los puntos (i) - (iv) anteriores.

15 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un agente antineoplásico para su uso en el tratamiento de cáncer. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con al menos un agente antineoplásico. En una realización, el agente antineoplásico se selecciona de la lista de agentes antineoplásicos en el punto (i) anterior.

20 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un agente antineoplásico para su uso en el tratamiento simultáneo, por separado o secuencial del cáncer. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra simultáneamente, por separado o secuencialmente con al menos un agente antineoplásico. En una realización, el agente antineoplásico se selecciona de la lista de agentes antineoplásicos en el punto (i) anterior.

25 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, valrubicina, idarrubicina, doxorubicina, pirarrubicina, irinotecán, topotecán, amrubicina, epirubicina, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán, bleomicina, olaparib, MEDI4736 (durvalumab), AZD1775, AZD6738, AZD1390 y AZD0156, para su uso en el tratamiento de cáncer.

30 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, valrubicina, idarrubicina, doxorubicina, pirarrubicina, irinotecán, topotecán, amrubicina, epirubicina, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán, bleomicina, olaparib, MEDI4736 (durvalumab), AZD1775 y AZD6738, para su uso en el tratamiento de cáncer.

35 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, doxorubicina, pirarrubicina, irinotecán, topotecán, amrubicina, epirubicina, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán, bleomicina, olaparib, AZD1775, AZD6738, AZD1390 y AZD0156 para su uso en el tratamiento de cáncer.

40 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, doxorubicina, pirarrubicina, irinotecán, topotecán, amrubicina, epirubicina, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán, bleomicina, olaparib, AZD1775 y AZD6738, para su uso en el tratamiento de cáncer.

En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y olaparib para su uso en el tratamiento de cáncer.

45 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y AZD6738 para su uso en el tratamiento de cáncer.

En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y AZD0156 para su uso en el tratamiento de cáncer.

50 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, valrubicina, idarrubicina, doxorubicina, pirarrubicina, irinotecán, topotecán, amrubicina, epirubicina, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán, bleomicina, olaparib, MEDI4736 (durvalumab), AZD1775, AZD6738, AZD1390 y AZD0156.

- 5 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, valrubicina, idarrubicina, doxorubicina, pirarrubicina, irinotecán, topotecán, amrubicina, epirubicina, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán, bleomicina, olaparib, MEDI4736 (durvalumab), AZD1775 y AZD6738.
- En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con olaparib.
- 10 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con AZD6738.
- En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con AZD0156.
- 15 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en doxorubicina, irinotecán, topotecán, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán, bleomicina y olaparib para su uso en el tratamiento de cáncer.
- 20 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en doxorubicina, irinotecán, topotecán, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán, bleomicina y olaparib.
- 25 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en doxorubicina, irinotecán, topotecán, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán y bleomicina, para su uso en el tratamiento de cáncer.
- 30 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en doxorubicina, irinotecán, topotecán, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán y bleomicina.
- 35 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en doxorubicina, pirarrubicina, amrubicina y epirubicina. En una realización, el cáncer es leucemia mieloide aguda. En una realización, el cáncer es cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo). En una realización, el cáncer es carcinoma hepatocelular.
- 40 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, e irinotecán, para su uso en el tratamiento de cáncer. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con irinotecán. En una realización, el cáncer es cáncer colorrectal.
- 45 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y FOLFIRI, para su uso en el tratamiento de cáncer. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con FOLFIRI. En una realización, el cáncer es cáncer colorrectal.
- 50 FOLFIRI es un régimen de dosificación que implica una combinación de leucovorina, 5-fluorouracilo e irinotecán.
- En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y R-CHOP, para su uso en el tratamiento de cáncer. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con R-CHOP. En una realización, el cáncer es linfoma no Hodgkin.
- 55

R-CHOP es un régimen de dosificación que implica una combinación de rituximab, ciclofosfamida, hidroxidaunomicina (clorhidrato de doxorrubicina), onvavina (vincristina) y prednisolona.

5 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con olaparib. En una realización, el cáncer es cáncer gástrico.

10 En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con topotecán. En una realización, el cáncer es cáncer de pulmón de células pequeñas. En una realización, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de cáncer, donde el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra junto con inmunoterapia. En una realización, la inmunoterapia es uno o más de los agentes enumerados en el punto (iii) anterior. En una realización, la inmunoterapia es un anticuerpo anti-PD-L1 (por ejemplo, MEDI4736 (durvalumab)).

15 En una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I) y al menos una sustancia antitumoral adicional. En una realización, la composición farmacéutica también comprende al menos un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la sustancia antitumoral es un agente antineoplásico.

20 En una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I) y al menos una sustancia antitumoral adicional, para su uso en el tratamiento de cáncer. En una realización, la composición farmacéutica también comprende al menos un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la sustancia antitumoral es un agente antineoplásico.

De acuerdo con una realización adicional, se proporciona un kit que comprende:

- a) Un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una primera forma de dosificación unitaria;
- 25 b) Una sustancia antitumoral adicional más en una forma de dosificación unitaria adicional;
- c) Medios de recipiente para contener dicha primera y adicional forma de dosificación unitaria; y opcionalmente
- d) Instrucciones de uso. En una realización, la sustancia antitumoral comprende un agente antineoplásico.

En cualquier realización en la que se menciona un agente antineoplásico, el agente antineoplásico es uno o más de los agentes enumerados en el punto (i) anterior.

30 Los compuestos de Fórmula (I), y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden administrarse como composiciones farmacéuticas, que comprenden uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

Por lo tanto, en una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

35 Las composiciones pueden estar en una forma adecuada para su uso oral (por ejemplo, como comprimidos, pastillas, cápsulas duras o blandas, suspensiones acuosas u oleosas, emulsiones, polvos o gránulos dispersables, jarabes o elixires), para su uso tópico (por ejemplo, como cremas, ungüentos, geles, o soluciones o suspensiones acuosas u oleosas), para administración por inhalación (por ejemplo, como un polvo finamente dividido o un aerosol líquido), para administración por insuflación (por ejemplo, como un polvo finamente dividido), o para administración parenteral (para ejemplo, como una solución acuosa u oleosa estéril para dosificación intravenosa, subcutánea o intramuscular), o como un supositorio para la dosificación rectal. Las composiciones pueden obtenerse por procedimientos convencionales usando excipientes farmacéuticos convencionales, ya conocidos en la técnica. Por lo tanto, las composiciones destinadas al uso oral pueden contener, por ejemplo, uno o más agentes colorantes, edulcorantes, saborizantes y/o conservantes.

45 En una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso en terapia.

50 En una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de cáncer. En una realización, dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario, linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide aguda, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas. En una realización, dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, glioblastoma, cáncer gástrico, cáncer de ovario,

linfoma difuso de linfocitos B grandes, leucemia linfocítica crónica, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello y cáncer de pulmón. En una realización, dicho cáncer es cáncer colorrectal.

El compuesto de Fórmula (I) se administrará normalmente a un animal de sangre caliente a una dosis unitaria dentro del intervalo 2.5-5000 mg/m² de área corporal del animal, o aproximadamente 0.05-100 mg/kg, y esto proporciona normalmente una dosis terapéuticamente eficaz. Una forma de dosis unitaria, tal como un comprimido o una cápsula, contendrá habitualmente, por ejemplo, 0.1-250 mg de principio activo. La dosis diaria variará necesariamente dependiendo del huésped tratado, la vía de administración particular, las terapias que se administran conjuntamente, y la gravedad de la enfermedad que se está tratando. Por consiguiente, el médico que trate a cualquier paciente en particular podrá determinar la dosis óptima.

10 Ejemplos

Las diversas realizaciones se ilustran por los siguientes Ejemplos.

A menos que se indique lo contrario, los materiales de partida se adquirieron de proveedores comerciales. Todos los disolventes y reactivos comerciales eran de calidad para uso en laboratorio y se utilizaron tal como se recibieron. Durante la preparación de los Ejemplos, generalmente:

15 (i) se realizaron operaciones a *ta*, es decir, el intervalo de 17 a 25 °C y en una atmósfera de un gas inerte, tal como N₂ o Ar a menos que se indique otra cosa;

(ii) en general, el transcurso de las reacciones fue seguido de cromatografía de capa fina (TLC) y/o cromatografía líquida de alto rendimiento analítica (HPLC o UPLC) que se acopló normalmente a un espectrómetro de masas (LCMS). Los tiempos de reacción que se dan no son necesariamente los mínimos que se pueden obtener;

20 (iii) cuando fue necesario, las soluciones orgánicas se secaron sobre MgSO₄ o Na₂SO₄ anhidro, se realizaron procedimientos de tratamiento usando técnicas de separación de fases tradicionales o usando SCX como se describe en (xiii), se realizaron evaporaciones por evaporación rotatoria al vacío o en un Genevac HT-4/EZ-2 o Biotage V10;

(iv) los rendimientos, cuando se indiquen, no son necesariamente los máximos que se pueden obtener y, cuando se requirió, las reacciones se repitieron si se necesitaba una mayor cantidad del producto de reacción;

25 (v) en general, las estructuras de los productos finales de la Fórmula (I) se confirmaron por resonancia magnética nuclear (RMN) y/o técnicas de espectrometría de masas; los datos del espectro de masas por electropulverización se obtuvieron usando un Waters Acquity UPLC acoplado a un espectrómetro de masas cuadrupolar individual Waters que adquirió tanto datos de iones positivos como negativos, y en general, solo se informan iones relacionados con la estructura principal; los valores de desplazamiento químico de RMN de protón se midieron en la escala delta utilizando un espectrómetro Bruker AV500 que funcionaba con una intensidad de campo de 500 MHz, un Bruker AV400 que funcionaba a 400 MHz o un Bruker AV300 que funcionaba a 300 MHz. A menos que se indique otra cosa, los espectros de RMN se obtuvieron a 500 MHz en *d*₆-dimetilsulfóxido. Se han usado las siguientes abreviaturas: s, singlete; d, doblete; t, triplete; c, cuádruplete; m, múltiplete; a, ancho; qn, quintuplete; (vi) a menos que se indique otra cosa, los compuestos que contenían un átomo asimétrico de carbono y/o azufre no se resolvieron;

35 (vii) los intermedios no se purificaron necesariamente del todo pero sus estructuras

y la pureza se evaluaron por TLC, HPLC/UPLC analítica, y/o análisis de RMN y/o espectrometría de masas;

(viii) a menos que se indique otra cosa, se realizó un análisis por cromatografía en columna ultrarrápida (fcc) sobre gel de sílice Merck Kiesel (Art. 9385) o sobre sílice de fase inversa (gel de sílice Fluka 90 C18) o sobre cartuchos de Siliciclo (sílice 40-63 μm, 4 a 330 g de peso) o sobre cartuchos Grace resolv (4 – 120 g), o sobre columnas RediSep Rf 1.5 Flash o sobre columnas RediSep Rf high performance Gold Flash (150 – 415 g de peso), o sobre columnas de fase inversa RediSep Rf Gold C18 (20 – 40 μm de sílice) manualmente o automatizadas usando un sistema Isco CombiFlash Companion o un sistema similar;

40 (ix) El análisis por HPLC preparativa de fase inversa (RP HPLC) se realizó sobre sílice de fase inversa C18 usando típicamente una columna Waters XSelect CSH C18 (5 μm de sílice, 30 mm de diámetro, 100 mm de longitud) usando mezclas polares decrecientes como eluyente, por ejemplo, [que contenían ácido fórmico al 0.1% o hidróxido de amonio acuoso al 0.3-5% (d = 0.91)] como disolvente A y acetonitrilo como disolvente B; un procedimiento típico será como se indica a continuación: un gradiente de disolvente durante 10-20 minutos, a 40-50 ml por minuto, de una mezcla 95:5 de disolventes A y B respectivamente a una mezcla 5:95 de disolventes A y B (o una relación alternativa según sea apropiado).

50 (x) Se usaron los siguientes métodos de UPLC analítica; en general, se usó sílice C18 de fase inversa con un caudal de 1 ml/minuto y la detección se realizó por espectrometría de masas por electropulverización y por absorbancia UV registrando un intervalo de longitud de onda de 220-320 nm. El análisis por UPLC analítica se realizó sobre sílice de fase inversa CSH C18, usando una columna Waters XSelect CSH C18 con dimensiones 2.1 x 50 mm y un tamaño de partícula de 1.7 micrómetros). Se empleó análisis de gradiente usando mezclas polares decrecientes como eluyente,

por ejemplo, mezclas polares decrecientes de agua (que contenían ácido fórmico al 0.1% o amoniaco al 0.1%) como disolvente A y acetonitrilo como disolvente B. Un método de UPLC analítica de 2 minutos típico empleará un gradiente de disolvente durante 1.3 minutos, a aproximadamente 1 ml por minuto, de una mezcla 97:3 de disolventes A y B respectivamente a una mezcla 3:97 de disolventes A y B.

5 (xi) cuando ciertos compuestos se obtuvieron como una sal de adición de ácido, por ejemplo, una sal de monoclóridrato o una sal diclorhidrato, la estequiometría de la sal se basó en el número y la naturaleza de los grupos básicos del compuesto; la estequiometría exacta de la sal no se determinó generalmente, por ejemplo, por medio de datos del análisis elemental;

10 (xii) cuando las reacciones mencionan el uso de un microondas, se utilizó uno de los siguientes reactores de microondas: Biotage Initiator, Personal Chemistry Emrys Optimizer, Personal Chemistry Smithcreator o CEM Explorer;

(xiii) los compuestos se purificaron mediante cromatografía de intercambio catiónico fuerte (SCX) utilizando columnas Isolute SPE flash SCX-2 o SCX-3 (International Sorbent Technology Limited, Mid Glamorgan, Reino Unido);

15 (xiv) los siguientes métodos de HPLC preparativa quiral se realizaron usando una HPLC Gilson GX-281 y una DAICEL CHIRALPAK IC (2 x 25 cm, 5 µm) o DAICEL CHIRALPAK IF (2 x 25 cm, 5 µm); en general, un caudal de entre 10-350 ml/minuto y la detección se realizó por absorbancia UV a una longitud de onda típica de 254 nm. Se usó una concentración de muestra de aproximadamente 1-100 mg/ml en una mezcla de disolvente adecuada con un volumen de inyección de entre 0.5-10 ml y un tiempo de realización de entre 10-150 minutos y una temperatura de estufa típica de 25-35 °C;

20 (xv) los siguientes métodos de HPLC quiral analítica se realizaron usando Shimadzu UFLC y una Daicel CHIRALPAK IC-3 (50 x 4.6 mm 3 µm) o Daicel CHIRALPAK IF-3 (50 x 4.6 mm 3 µm); en general, un caudal de 1 ml/minuto y la detección se realizó por absorbancia UV a una longitud de onda típica de 254 nm. Se utilizó una concentración de muestra de aproximadamente 1 mg/ml en un solvente adecuado, tal como EtOH, con un volumen de inyección de aproximadamente 10 µl y un tiempo de análisis de 10-60 minutos y una temperatura típica del horno de 25-35 °C;

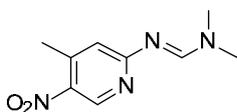
25 (xvi) se usaron los siguientes métodos de cromatografía quiral de fluidos supercríticos (SFC); en general un caudal de aproximadamente 70 ml/minuto y la detección se realizó por absorbancia UV a una longitud de onda típica de 254 nm. Se utilizó una concentración de muestra de aproximadamente 100 mg/ml en un solvente adecuado, tal como MeOH, con un volumen de inyección de aproximadamente 0.5 ml, un tiempo de análisis de 10-150 minutos y una temperatura típica del horno de 25-35 °C;

30 (xvii) en general, los Ejemplos y los compuestos intermedios se nombraron usando ACD Name, parte de "Structure to Name" de ChemDraw Ultra (CambridgeSoft), Biovia Draw 2016 o Open Eye OEChem 2.0.2;

(xviii) además de las abreviaturas mencionadas anteriormente, se emplearon también las siguientes:

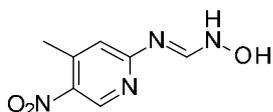
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida	DMA	<i>N,N</i> -dimetilacetamida
DCM	diclorometano	THF	tetrahidrofurano
conc.	Concentrado	<i>m/z</i>	pico(s) de espectrometría de masas
TBAF	fluoruro de tetra- <i>n</i> -butilamonio	NMP	1-metilpirrolidin-2-ona
EtOAc	acetato de etilo	DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DME	1,2-dimetoxietano	MeOH	metanol
MeCN	acetonitrilo	TBAB	bromuro de tetra- <i>n</i> -butilamonio
Et ₂ O	éter dietílico	DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
Ac ₂ O	anhídrido acético	DMAP	4-dimetilaminopiridina
h	hora(s)	EtOH	etanol
MTBE	metil <i>tert</i> -butil éter	Sat.	saturado/a
ta	t.a.	fcc	cromatografía en columna ultrarrápida

Intermedio 1: (E)-*N,N*-dimetil-*N'*-(4-metil-5-nitropiridin-2-il)formimidamida



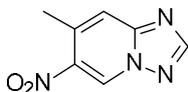
5 Se añadió 1.1-dimetoxi-N,N-dimetilmetanamina (26.0 ml, 196 mmol) a 4-metil-5-nitropiridin-2-amina (10.0 g, 65.3 mmol) en tolueno (100 ml) a ta. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h y la mezcla de reacción se dejó enfriar a ta. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar el compuesto del título (13.5 g, 99%) en forma de un sólido de color amarillo; $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO) 2.53 (3H, d), 3.06 (3H, d), 3.17 (3H, s), 6.79 - 6.84 (1H, m), 8.69 (1H, s), 8.88 (1H, s); m/z MH^+ 209.

Intermedio 2: (E)-N-hidroxi-N'-(4-metil-5-nitropiridin-2-il)formimidamida



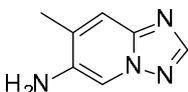
10 Se añadió clorhidrato de hidroxilamina (.901 g, 130 mmol) a (E)-N,N-dimetil-N'-(4-metil-5-nitropiridin-2-il)formimidamida (13.5 g, 64.8 mmol) en MeOH (100 ml) a ta. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1 h y después se dejó enfriar a ta. La mezcla de reacción se repartió entre EtOAc (200 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica se aisló, se lavó con salmuera sat. (50 ml), se pasó a través de un papel de filtro de separación de fases y se concentró para proporcionar el compuesto del título (11.9 g, 94%) en forma de un sólido de color amarillo; $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO) 2.52 (3H, s), 7.06 (1H, s), 7.89 (1H, d), 8.89 (1H, s), 10.10 (1H, d), 10.53 (1H, s); m/z MH^+ 197.

Intermedio 3: 7-metil-6-nitro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina



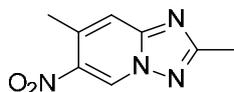
15 Se añadió anhídrido 2,2,2-trifluoroacético (10.1 ml, 72.8 mmol) a (E)-N-hidroxi-N'-(4-metil-5-nitropiridin-2-il)formimidamida (11.9 g, 60.7 mmol) en THF (100 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 18 h y después se concentró. La mezcla en bruto resultante se purificó por fcc, eluyendo con EtOAc al 0-100% en heptano, para proporcionar un sólido de color naranja pálido impuro. Este sólido se recristalizó en heptano:EtOAc, se filtró y se secó al vacío, después se recogió en EtOAc (100 ml), se lavó con HCl ac. 0.1 M (50 ml), agua (50 ml) y salmuera sat. (50 ml). La capa orgánica se pasó a través de un papel de filtro de separación de fases y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título (3.42 g, 32%); $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO) 2.67 (3H, s), 7.88 - 8.01 (1H, m), 8.73 (1H, s), 9.97 (1H, s); m/z MH^+ 179.

Intermedio 4: 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-amina



25 Se añadió Pd/C (10%, soporte húmedo) (0.409 g, 3.84 mmol) a 7-metil-6-nitro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina (3.42 g, 19.2 mmol) y formiato de amonio (6.05 g, 96.0 mmol) en etanol (150 ml) a ta. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar a ta, se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto del título (2.60 g, 91%) en forma de un sólido de color pardo pálido; $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO) 2.26 (3H, s), 5.00 (2H, s), 7.47 (1H, s), 8.10 (2H, d).

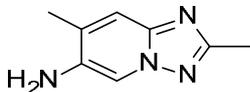
Intermedio 5: 2,7-dimetil-6-nitro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina



35 Una mezcla de 2-cloro-4-metil-5-nitropiridina (1499 mg, 8.68 mmol), 5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-amina (500 mg, 4.34 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (1.51 ml, 8.68 mmol) en tolueno (5 ml) se puso en un tubo cerrado herméticamente y se calentó a 140 °C térmicamente durante 2 días. La mezcla de reacción se dejó enfriar a ta y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por fcc, gradiente de elución de EtOAc del 0 al 100% en heptano para proporcionar el

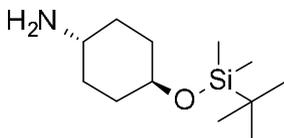
compuesto del título (275 mg, 33%); ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 2.51 (3H, s), 2.64 (3H, s), 7.78 (1H, s), 9.83 (1H, s); *m/z* MH⁺ 193.

Intermedio 6: 2,7-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-amina



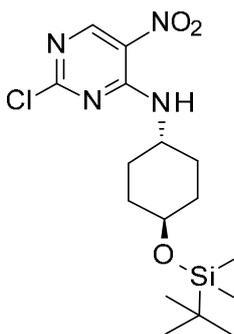
- 5 Se añadió agua (2.32 ml) a una mezcla agitada de 2,7-dimetil-6-nitro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina (312 mg, 1.62 mmol), hierro (544 mg, 9.74 mmol) y clorhidrato de amoníaco (60.8 mg, 1.14 mmol) en EtOH (13.9 ml) y la suspensión resultante se calentó a 90 °C durante 2 h. La mezcla de reacción enfriada se cargó sobre una columna de 10 g SCX, lavando con MeOH, y después eluyendo con NH₃ 1 M/MeOH para proporcionar un producto en bruto. El producto en
- 10 bruto se purificó por fcc, gradiente de elución de MeOH del 0 al 5% en DCM, para proporcionar el compuesto del título (108 mg, 41%) en forma de un sólido de color amarillo pálido; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 2.24 (3H, s), 2.35 (3H, s), 4.90 (2H, s), 7.33 (1H, s), 8.00 (1H, s); *m/z* MH⁺ 163.

Intermedio 7: (1*r*,4*r*)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)ciclohexanamina (trans-4-[[dimetil(2-metil-2-propanil)silil]oxi]ciclohexanamina)



- 15 Se añadió imidazol (29.6 g, 434 mmol) a (trans)-4-aminociclohexanol (20 g, 174 mmol), en DCM (200 ml). Se añadió en porciones TBDMS-Cl (39.3 g, 260 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a ta durante 18 h. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad y se disolvió de nuevo en EtOAc (200 ml) y se lavó secuencialmente con agua (100 ml), NaOH ac. 2 M (100 ml), agua (100 ml) y salmuera sat. (100 ml). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y el disolvente se eliminó al vacío. El producto en bruto se purificó por fcc, gradiente de elución de amoníaco metanólico 1 M del 0 al 10%
- 20 en DCM, para proporcionar el compuesto del título (30 g, 75%) en forma de un aceite de color dorado oscuro; ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) 0.05 (6H, s), 0.88 (9H, s), 1.05 - 1.22 (2H, m), 1.26 - 1.43 (2H, m), 1.44 - 1.76 (1H, s a) 1.76 - 1.81 (4H, m), 1.82 - 2.29 (1H, s a), 2.67 (1H, tt), 3.51 - 3.63 (1H, m).

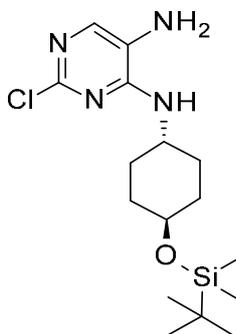
Intermedio 8: N-((1*r*,4*r*)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)ciclohexil)-2-cloro-5-nitropirimidin-4-amina (2-cloro-N-(trans-4-[[dimetil(2-metil-2-propanil)silil]oxi]ciclohexil)-5-nitro-4-pirimidinamina)



- 25 Se enfrió 2,4-dicloro-5-nitropirimidina (20 g, 103 mmol), disuelta en DCM (400 ml), a -78 °C. Se añadió DIPEA (35.9 ml, 206 mmol) seguido de la adición gota a gota de (1*r*,4*r*)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)ciclohexanamina (23.7 g, 103 mmol), disuelta en DCM (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 30 minutos y después a ta durante 18 h. La mezcla de reacción se lavó secuencialmente con agua (200 ml) y salmuera saturada (200 ml). La capa orgánica se filtró
- 30 a través de un papel de filtro de separación de fases y el disolvente se eliminó al vacío y el residuo se trituró en EtOAc:heptano (~1:1) y el sólido resultante se retiró por filtración y se secó para proporcionar el compuesto del título (32.0 g, 80%) en forma de un

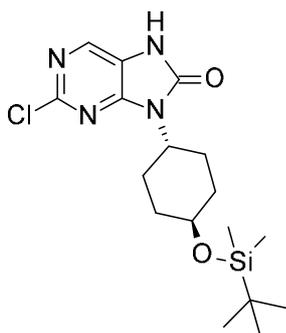
- 35 sólido de color naranja pálido; ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) 0.07 (6H, s), 0.90 (9H, s), 1.36 - 1.48 (2H, m), 1.49 - 1.6 (2H, m), 1.84 - 1.96 (2H, m), 2.06 - 2.19 (2H, m), 3.70 (1H, td), 4.17 - 4.3 (1H, m), 8.30 (1H, d), 9.03 (1H, s); *m/z* MH⁺ 387.

Intermedio 9: N4-((1r,4r)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)ciclohexil)-2-cloropirimidin-4,5-diamina (2-cloro-N4-((trans-4-[[dimetil(2-metil-2-propanil)silil]oxi]ciclohexil)-4,5-pirimidindiamina)



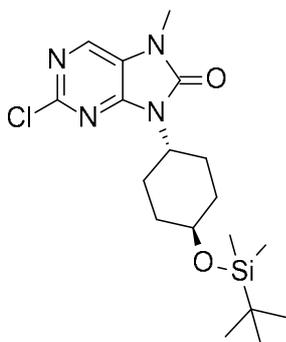
5 Se añadió platino (10% sobre carbono) (0.207 g, 1.06 mmol) a N-((1r,4r)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)ciclohexil)-2-cloro-5-nitropirimidin-4-amina (8.20 g, 21.2 mmol) en EtOAc (100 ml) a ta en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se purgó con hidrógeno y se agitó a ta durante 18 h. La mezcla de reacción se filtró, se lavó con EtOAc y el disolvente se eliminó al vacío para proporcionar el compuesto del título (7.40 g, 98%); ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) 0.05 (6H, d), 0.89 (9H, d), 1.2 - 1.32 (2H, m), 1.51 (2H, tdd), 1.87 (2H, dd), 2.06 - 2.15 (2H, m), 2.91 (2H, s), 3.63 (1H, ddd), 3.99 (1H, dtd), 4.90 (1H, d), 7.59 (1H, s); m/z MH⁺ 357.

10 **Intermedio 10: 9-((1r,4r)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)ciclohexil)-2-cloro-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (2-cloro-9-((trans-4-[[dimetil(2-metil-2-propanil)silil]oxi]ciclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona)**



15 Se puso N4-((1r,4r)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)ciclohexil)-2-cloropirimidin-4,5-diamina (21.8 g, 61.1 mmol) en un matraz en EtOAc (400 ml) a ta. Se añadió di(1H-imidazol-1-il)metanona (15.84 g, 97.71 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 2 h. Aproximadamente la mitad del disolvente se eliminó al vacío y la solución se enfrió sobre hielo durante 30 minutos. El sólido resultante se retiró por filtración y se secó para proporcionar el compuesto del título (10.2 g, 44%) en forma de un sólido de color pardo pálido; ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) 0.09 (6H, s), 0.90 (9H, s), 1.45 - 1.56 (2H, m), 1.81 (2H, d), 2.01 (2H, d), 2.45 (2H, qd), 3.75 (1H, ddd), 4.35 (1H, tt), 8.10 (1H, s) NH not observed; m/z MH⁺ 383.

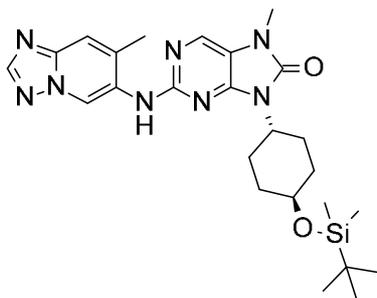
20 **Intermedio 11: 9-((1r,4r)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)ciclohexil)-2-cloro-7-metil-7H-purin-8(9H)-ona (2-cloro-9-((trans-4-[[dimetil(2-metil-2-propanil)silil]oxi]ciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona)**



Se añadió en porciones hidruro sódico (60%) (2.26 g, 56.4 mmol) a 9-((1r,4r)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)ciclohexil)-2-cloro-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (14.4 g, 37.6 mmol) en DMF (150 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó durante 30

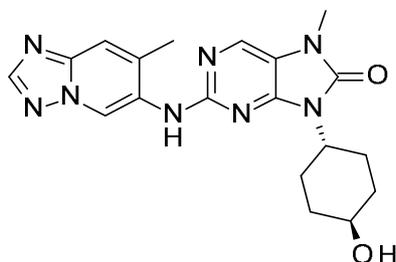
minutos, se enfrió sobre hielo y después se añadió gota a gota yodometano (3.92 ml, 62.7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 1 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (500 ml), y se lavó secuencialmente con agua (3 x 200 ml) y salmuera sat. (200 ml). La capa orgánica se filtró a través de un papel de filtro de separación de fases y el disolvente se eliminó al vacío para proporcionar el compuesto del título (10.4 g, 67%) en forma de un sólido de color pardo claro; ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) 0.09 (6H, s), 0.90 (9H, s), 1.44 - 1.54 (2H, m), 1.78 (2H, d), 1.99 (2H, d), 2.43 (2H, qd), 3.43 (3H, s), 3.74 (1H, ddd), 4.36 (1H, tt), 7.98 (1H, s); *m/z* MH⁺ 397.

Intermedio 12: 9-((1*r*,4*r*)-4-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)ciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8*H*-purin-8-ona
(9-((*trans*-4-[[*terc*-butil(dimetil)silil]oxi)ciclohexil)-7-metil-2-[[7-metil[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino]-7,9-dihidro-8*H*-purin-8-ona)



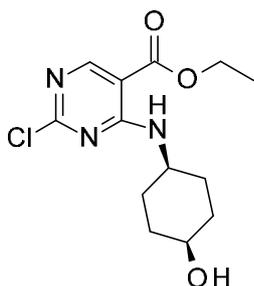
Se añadió carbonato de cesio (328 mg, 1.01 mmol) a 9-((1*r*,4*r*)-4-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)ciclohexil)-2-cloro-7-metil-7*H*-purin-8(9*H*)-ona (200 mg, 0.50 mmol) y 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-amina (112 mg, 0.76 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml). La reacción se desgasificó y se añadió Brettphos precat G3 (45.7 mg, 0.05 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 18 h. La reacción se estancó a una conversión de ~60%. Se añadió un catalizador al 10% adicional y se agitó a 100 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió a ta, se diluyó con EtOAc (10 ml), se filtró y se concentró a sequedad. El producto en bruto se purificó por fcc, gradiente de elución MeOH del 0 al 10% en DCM, para proporcionar el compuesto del título (190 mg, 74%) en forma de un sólido de color pardo; *m/z* MH⁺ 509.

Ejemplo 1: 9-((1*r*,4*r*)-4-hidroxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8*H*-purin-8-ona



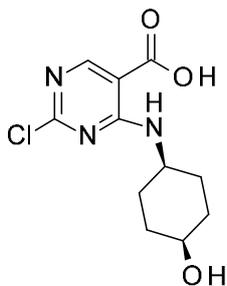
Se añadió ácido clorhídrico conc. (0.011 ml, 0.37 mmol) a 9-((1*r*,4*r*)-4-((*terc*-butildimetilsilil)oxi)ciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8*H*-purin-8-ona (190 mg, 0.37 mmol) en EtOH (5 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 1 h, después se purificó por HPLC preparativa de fase inversa. El producto impuro resultante se trituró en MeCN, se filtró y se secó para proporcionar el compuesto del título (55 mg, 37%) en forma de un sólido de color blanquecino; ¹H RMN (500 MHz, DMSO) 1.17 - 1.34 (2H, m), 1.68 (2H, d), 1.90 (2H, d), 2.21 - 2.33 (2H, m), 2.39 (3H, d), 3.28 (3H, s), 3.35 - 3.46 (1H, m), 4.11 (1H, ddt), 4.61 (1H, d), 7.63 - 7.71 (1H, m), 8.08 (1H, s), 8.36 (1H, s), 8.61 (1H, s), 9.15 (1H, s); *m/z* MH⁺ 395.

Intermedio 13: 2-cloro-4-[[*cis*-4-hidroxiciclohexil)amino]pirimidin-5-carboxilato de etilo



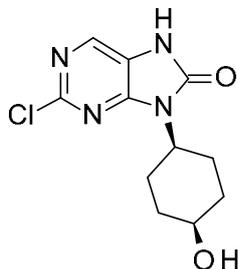
5 Se añadió carbonato potásico (78 g, 565 mmol) a 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (50.0 g, 226 mmol) y clorhidrato de cis-4-aminociclohexanol (34.3 g, 226 mmol) en acetonitrilo (700 ml) a ta al aire. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celite. El filtrado se concentró a presión reducida. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con MeCN (100 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (41.0 g, 61%) en forma de un sólido de color blanco; $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO) 1.32 (3H, t), 1.42 - 1.58 (2H, m), 1.60 - 1.75 (6H, m), 3.66 (1H, d), 4.06 (1H, dd), 4.33 (2H, q), 4.57 (1H, d), 8.46 (1H, d), 8.63 (1H, s); m/z MH+ 300.

Intermedio 14: Ácido 2-cloro-4-[(cis-4-hidroxiciclohexil)amino]pirimidin-5-carboxílico



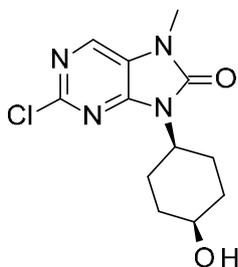
10 Se añadió LiOH (9.75 g, 407 mmol) a 2-cloro-4-[(cis-4-hidroxiciclohexil)amino]pirimidin-5-carboxilato de etilo (61.0 g, 204 mmol) en THF (400 ml) y agua (400 ml) a ta al aire. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. La mezcla se concentró a presión reducida y se ajustó a pH = 2 con HCl ac. 2 M. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (500 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (52 g, 94%) en forma de un sólido de color blanco; $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO) 1.51 (2H, d), 1.58 - 1.75 (6H, m), 3.63 - 3.69 (1H, m), 4.00 - 4.07 (1H, m), 4.56 (1H, s), 8.59 (1H, s), 8.69 (1H, d), 13.82 (1H, s); m/z MH+ 272.

15 **Intermedio 15: 2-cloro-9-((1s,4s)-4-hidroxiciclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona**

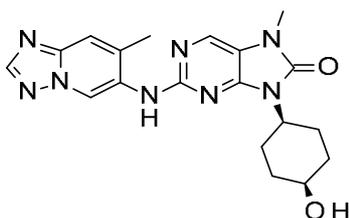


20 Se añadió trietilamina (28.2 ml, 202 mmol) a ácido 2-cloro-4-[(cis-4-hidroxiciclohexil)amino]pirimidin-5-carboxílico (55.0 g, 202 mmol) en acetonitrilo (550 ml) a ta al aire. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 15 minutos. Se añadió DPPA (55.7 g, 202 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 30 minutos y después a 90 °C durante 6 h. La mezcla de reacción se vertió en agua (4 l). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (1 l) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (34.9 g, 64%) en forma de un sólido de color blanco; m/z MH+ 269.

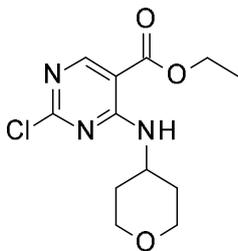
Intermedio 16: 2-cloro-9-((1s,4s)-4-hidroxiciclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



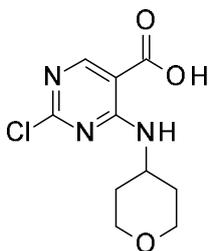
25 Se añadió yodometano (31.7 g, 223 mmol) a 2-cloro-9-((1s,4s)-4-hidroxiciclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (30.0 g, 112 mmol), NaOH (22.3 g, 558 mmol) en THF (300 ml) y agua (150 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (250 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (24.0 g, 76%) en forma de un sólido de color blanco; $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO) 1.43 - 1.61 (4H, m), 1.79 (2H, d), 2.54 - 2.68 (2H, m), 3.34 (3H, s), 3.87 (1H, s), 4.15 - 4.21 (1H, m), 4.46 (1H, d), 8.34 (1H, s); m/z MH+ 283.

Ejemplo 2: 9-((1s,4s)-4-hidroxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona

5 Se añadió Brettphos precat G3 (64.1 mg, 0.07 mmol) a 2-cloro-9-((1s,4s)-4-hidroxiciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (100 mg, 0.35 mmol), 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-amina (62.9 mg, 0.42 mmol) y carbonato de cesio (230 mg, 0.71 mmol) en 1,4-dioxano (3 ml) en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 16 h. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del título (102 mg, 73%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.41 - 1.57 (4H, m), 1.74 - 1.85 (2H, m), 2.39 (3H, s), 2.58 - 2.74 (2H, m), 3.29 (3H, s), 3.84 - 3.91 (1H, m), 4.11 - 4.24 (1H, m), 4.34 (1H, d), 7.69 (1H, s), 8.05 (1H, s), 8.37 (1H, s), 8.61 (1H, s), 9.13 (1H, s); *m/z* MH⁺ 395.

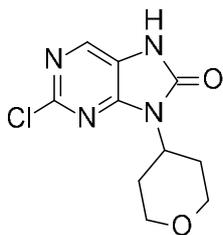
Intermedio 17: 2-cloro-4-((tetrahydro-2H-piran-4-il)amino)pirimidin-5-carboxilato de etilo

15 Se añadió carbonato potásico (62.5 g, 452 mmol) a 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (40 g, 181 mmol) y clorhidrato de tetrahydro-2H-piran-4-amina (24.9 g, 181 mmol) en acetonitrilo (1000 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con THF (750 ml) y las capas orgánicas se eliminaron a presión reducida. El producto en bruto se purificó por fcc, gradiente de elución THF del 0 al 2% en DCM, para proporcionar el compuesto del título (37.7 g, 73%) en forma de un sólido de color amarillo pálido; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.32 (3H, t), 1.54 - 1.63 (2H, m), 1.85 - 1.89 (2H, m), 3.46 (2H, td), 3.85 (2H, dt), 4.19 (1H, dtt), 4.31 (2H, q), 8.34 (1H, d), 8.64 (1H, s); *m/z* MH⁺ 286.

20 Intermedio 18: Ácido 2-cloro-4-((tetrahydro-2H-piran-4-il)amino)pirimidin-5-carboxílico

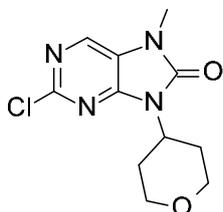
25 Una solución de LiOH (13.1 g, 547 mmol) en agua (800 ml) se añadió a una solución agitada de 2-cloro-4-((tetrahydro-2H-piran-4-il)amino)pirimidin-5-carboxilato de etilo (78.2 g, 273 mmol) en THF (800 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 3 h. Las capas orgánicas se eliminaron a presión reducida. La mezcla de reacción se acidificó con HCl ac. 2 M. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (500 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (66.4 g, 92%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.5 - 1.63 (2H, m), 1.85 - 1.95 (2H, m), 3.47 (2H, td), 3.85 (2H, dt), 4.08 - 4.26 (1H, m), 8.57 (1H, dd), 8.60 (1H, s), 13.76 (1H, s); *m/z* MH⁺ 258.

Intermedio 19: 2-cloro-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



5 Se añadió trietilamina (25.4 g, 251 mmol) a ácido 2-cloro-4-((tetrahydro-2H-piran-4-il)amino)pirimidin-5-carboxílico (64.8 g, 251 mmol) y DPPA (69.2 g, 251 mmol) en DMA (330 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 1 h, después se agitó a 120 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió en hielo (2 l), el precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (400 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (44.8 g, 70%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.66 - 1.70 (2H, m), 2.43 (2H, td), 3.45 (2H, t), 3.97 (2H, dd), 4.42 (1H, tt), 8.14 (1H, s), 11.65 (1H, s); *m/z* MH⁺ 255.

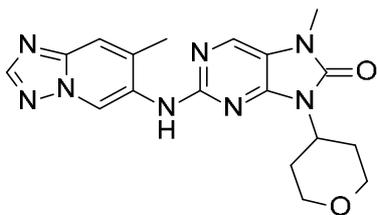
Intermedio 20: 2-cloro-7-metil-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



10 Una solución de NaOH (31.0 g, 776 mmol) en agua (80 ml) se añadió a una solución agitada de 2-cloro-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (39.5 g, 155 mmol) y MeI (48.5 ml, 776 mmol) en THF (720 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. La capa orgánica se eliminó a presión reducida. La mezcla de reacción se diluyó con agua. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (300 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (32.5 g, 69%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.67-1.71 (2H, m), 2.39 - 2.48 (2H, m), 3.37 (3H, s), 3.46 (2H, td), 3.97 (2H, dd), 4.45 (1H, tt), 8.37 (1H, s); *m/z* MH⁺ 269.

15

Ejemplo 3: 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



20 Se añadió carbonato de cesio (24.3 g, 74.4 mmol) a 2-cloro-7-metil-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (10.0 g, 37.2 mmol) y 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-amina (5.51 g, 37.2 mmol) en 1,4-dioxano (200 ml). Se añadió Brettphos precat G3 (1.69 g, 1.86 mmol) y la suspensión resultante se agitó vigorosamente a 100 °C durante 1 h. Se añadió un 1% adicional de catalizador y se agitó durante 30 minutos más. La mezcla de reacción se enfrió a ta, se filtró y sólido se lavó con MeOH al 10 % en DCM (100 ml). El filtrado se recogió y el disolvente se eliminó al vacío. El producto en bruto resultante se purificó por fcc, eluyendo con MeOH al 0-10% en DCM, después por recristalización en MeOH y DCM para proporcionar el compuesto del título (7.59 g, 54%) en forma de un sólido de color crema; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.63 - 1.72 (2H, m), 2.40 (3H, s), 2.52 - 2.58 (2H, m), 3.31 (3H, s), 3.42 (2H, t), 3.97 (2H, dd), 4.42 (1H, tt), 7.70 (1H, s), 8.08 (1H, s), 8.37 (1H, s), 8.65 (1H, s), 9.11 (1H, s); *m/z* MH⁺ 381.

25

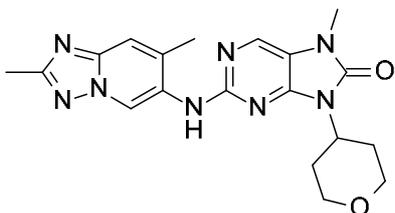
Forma A

30 El producto final, 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, se analizó por XRPD y DSC y se encontró que era cristalino. El XRPD de una muestra del material dio lugar a un patrón de difracción como se muestra en la figura 1. La Forma A de 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona se caracteriza por al menos un pico a un valor 2θ de 7.6° y 18.7°, medido usando radiación CuKα. Los diez picos más prominentes de XRPD se muestran en la Tabla A.

Tabla A: Diez picos XRPD más prominentes para 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona Forma A

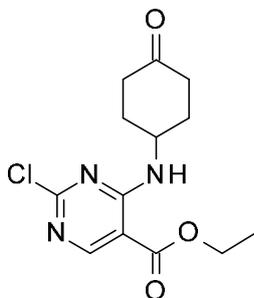
Ángulo 2-Theta (2θ)	% de intensidad
18.7	100
7.6	71.4
11.7	45.2
9.3	27.5
26.4	22.3
14.3	21.0
27.2	20.3
24.7	19.5
23.2	15.5
15.1	6.3

5 **Ejemplo 4: 2-((2,7-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7-metil-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona**



10 Se añadió en una porción carbonato de cesio (388 mg, 1.19 mmol) a 2-cloro-7-metil-9-(tetrahydro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (160 mg, 0.60 mmol) y 2,7-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-amina (97 mg, 0.60 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) a *ta* y se desgasificó por burbujeo de nitrógeno a través de la mezcla durante 5 minutos. Se añadió Brettphos precat G3 (54.0 mg, 0.06 mmol) y la reacción se calentó a 100 °C durante 2 h. La mezcla se diluyó con DCM y se filtró. La capa orgánica se evaporó y el residuo se purificó por fcc, gradiente de elución MeOH del 0 al 5% en DCM, después por trituración con MeCN, para proporcionar el compuesto del título (125 mg, 53%) en forma de un sólido de color crema; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) 1.69 - 1.79 (2H, m), 2.49 (3H, s), 2.58 (3H, s), 2.76 (2H, qd), 3.41 (3H, s), 3.55 (2H, t), 4.14 (2H, dd), 4.55 (1H, tt), 6.60 (1H, s), 7.43 (1H, s), 7.87 (1H, s), 9.60 (1H, s); *m/z* MH⁺ 395.

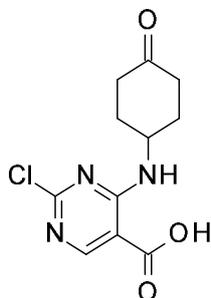
15 **Intermedio 21: 2-Cloro-4-((4-oxociclohexil)amino)pirimidin-5-carboxilato de etilo**



20 Se añadió gota a gota DIPEA (8.38 ml, 48.0 mmol) a 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (8.84 g, 40 mmol) y clorhidrato de 4-aminociclohexan-1-ona (5.98 g, 40.0 mmol) en acetonitrilo (200 ml) a 0 °C durante un periodo de 2 minutos. La mezcla de reacción se agitó a *ta* durante 16 h. El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por fcc, eluyendo con EtOAc al 0 - 5% en DCM, para proporcionar el compuesto del título (6.13 g, 52%)

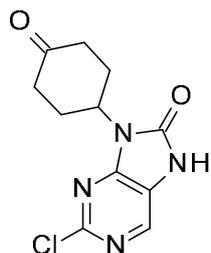
en forma de un sólido de color blanco; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) 1.41 (3H, t), 1.84 - 1.97 (2H, m), 2.28 - 2.41 (2H, m), 2.44 - 2.62 (4H, m), 4.38 (2H, q), 4.53 - 4.66 (1H, m), 8.55 (1H, d), 8.72 (1H, s); m/z MH^+ 298.

Intermedio 22: Ácido 2-cloro-4-((4-oxociclohexil)amino)pirimidin-5-carboxílico



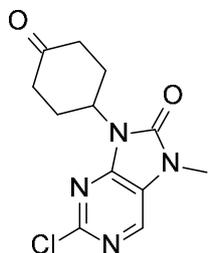
- 5 Se añadió en una porción LiOH (0.981 g, 41.0 mmol) a 2-cloro-4-((4-oxociclohexil)amino)pirimidin-5-carboxilato de etilo (6.10 g, 20.5 mmol) en THF (50 ml) y agua (50 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. El disolvente orgánico se eliminó a presión reducida. La mezcla de reacción se acidificó con HCl ac. 2 M. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (20 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (3.50 g, 63%)
 10 en forma de un sólido de color blanco, que se usó sin purificación adicional; ^1H RMN (400 MHz, DMSO) 1.79 - 1.93 (2H, m), 2.11 - 2.31 (4H, m), 2.50 - 2.63 (2H, m), 4.37 - 4.51 (1H, m), 8.60 (1H, s), 8.70 (1H, d), 13.90 (1H, s); m/z MH^+ 270.

Intermedio 23: 2-cloro-9-(4-oxociclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



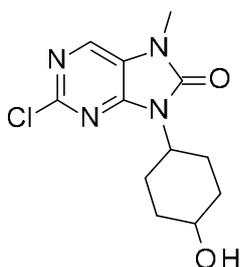
- 15 Se añadió en una porción difenilfosforil azida (2.80 ml, 13.0 mmol) a ácido 2-cloro-4-((4-oxociclohexil)amino)pirimidin-5-carboxílico (3.5 g, 13.0 mmol) y Et_3N (1.81 ml, 13.0 mmol) en THF (70 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 16 h. El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por fcc, eluyendo con EtOAc al 0 - 40% en DCM, para proporcionar el compuesto del título (2.00 g, 58%) en forma de un sólido de color blanco; ^1H RMN (400 MHz, DMSO) 2.03 - 2.13 (2H, m), 2.25 - 2.36 (2H, m), 2.51 - 2.65 (2H, m), 2.65 - 2.77 (2H, m), 4.72 - 4.85 (1H, m), 8.15 (1H, s), 11.68 (1H, s); m/z MH^+ 267.

Intermedio 24: 2-cloro-7-metil-9-(4-oxociclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



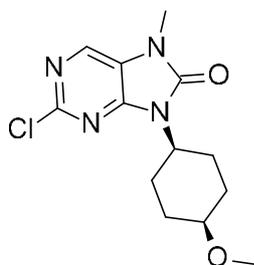
- 20 Se añadió en una porción NaH (0.420 g, 10.5 mmol) a 2-cloro-9-(4-oxociclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (2.8 g, 10.5 mmol) en DMF (50 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 30 minutos. Se añadió MeI (1.97 ml, 31.5 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió en agua (150 ml) y el precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (50 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (1.80 g, 61%) en forma de un sólido de color blanco, que se usó sin purificación adicional; ^1H RMN (400 MHz, DMSO) 2.03 - 2.14 (2H, m), 2.26 - 2.36 (2H, m), 2.53 - 2.65 (2H, m), 2.65 - 2.78 (2H, m), 3.37 (3H, s), 4.76 - 4.89 (1H, m), 8.38 (1H, s); m/z MH^+ 281.
 25

Intermedio 25: 2-cloro-9-(4-hidroxociclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



5 Se añadió NaBH₄ (121 mg, 3.21 mmol) a 2-cloro-7-metil-9-(4-oxociclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (900 mg, 3.21 mmol) en MeOH (15 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml), y se lavó con agua (100 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó para proporcionar el compuesto del título en forma de una mezcla desconocida de isómeros cis y trans (800 mg, 88%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (isómero principal) (300 MHz, CDCl₃) 0.83 - 0.90 (1H, m), 1.42 - 1.52 (2H, m), 1.78 - 1.87 (2H, m), 2.11 - 2.17 (2H, m), 2.41 - 2.58 (2H, m), 3.44 (3H, s), 3.78 - 3.87 (1H, m), 4.33 - 4.44 (1H, m), 8.02 (1H, s); *m/z* MH⁺ 283.

Intermedio 26: 2-cloro-9-((1s,4s)-4-metoxiciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona

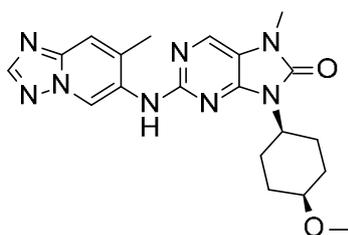


10

15 Se añadió NaH (113 mg, 2.83 mmol) a 2-cloro-9-(4-hidroxiciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (800 mg, 2.83 mmol) en THF (15 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a ta durante 1 h. Se añadió Mel (0.531 ml, 8.49 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 5 h. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa para proporcionar 2-cloro-9-((1r,4r)-4-metoxiciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (220 mg, 26%) en forma de un sólido de color blanco y el compuesto del título (60 mg, 0.202 mmol, 7%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.46 - 1.59 (4H, m), 1.95 - 2.05 (2H, m), 2.37 - 2.48 (2H, m), 3.26 (3H, s), 3.35 (3H, s), 3.40 - 3.45 (1H, m), 4.22 (1H, tt), 8.34 (1H, s); *m/z* MH⁺ 297.

15

Ejemplo 5: 9-((1s,4s)-4-metoxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona

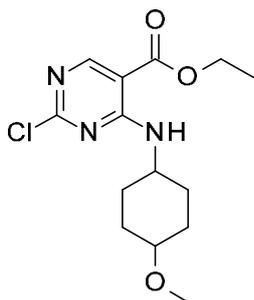


20

25 Se añadieron Brettphos precat G3 (14 mg, 0.02 mmol) y 2-diciclohexilfosfino-2',6'-di-i-propoxi-1,1'-bifenilo (7.9 mg, 0.02 mmol) a 2-cloro-9-((1s,4s)-4-metoxiciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (50 mg, 0.17 mmol), 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-amina (25.0 mg, 0.17 mmol) y carbonato de cesio (110 mg, 0.34 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 4 h. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del título (0.054 g, 78%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.36 - 1.50 (4H, m), 1.90 - 1.99 (2H, m), 2.37 (3H, s), 2.38 - 2.50 (2H, m), 3.06 (3H, s), 3.29 (3H, s), 3.35 - 3.38 (1H, m), 4.10 - 4.23 (1H, m), 7.71 (1H, s), 8.07 (1H, s), 8.38 (1H, s), 8.66 (1H, s), 9.02 (1H, s); *m/z* MH⁺ 409.

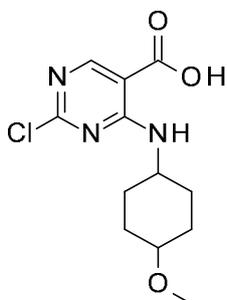
25

Intermedio 27: 2-cloro-4-((4-metoxiciclohexil)amino)pirimidin-5-carboxilato de etilo



5 Se añadió DIPEA (3.24 ml, 18.58 mmol) a 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (3.42 g, 15.5 mmol) y 4-metoxiciclohexan-1-amina (2.0 g, 15.5 mmol) en acetonitrilo (80 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por fcc, eluyendo con EtOAc al 0 - 5% en éter de petróleo, para proporcionar el compuesto del título (3.60 g, 74%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) 1.26 - 1.50 (4H, m), 1.38 (3H, t), 2.02 - 2.18 (4H, m), 3.15 - 3.27 (1H, m), 3.37 (3H, s), 4.04 - 4.18 (1H, m), 4.35 (2H, q), 8.34 (1H, d), 8.66 (1H, s); *m/z* MH⁺ 314.

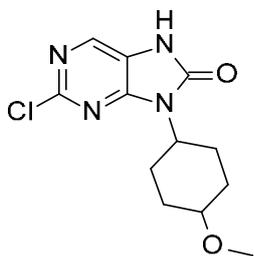
Intermedio 28: Ácido 2-cloro-4-((4-metoxiciclohexil)amino)pirimidin-5-carboxílico



10 Se añadió LiOH (0.549 g, 22.95 mmol) a 2-cloro-4-((4-metoxiciclohexil)amino)pirimidin-5-carboxilato de etilo (3.6 g, 11.5 mmol) en THF (25 ml) y agua (25 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. El disolvente orgánico se eliminó a presión reducida y la mezcla se acidificó con HCl ac. 2 M. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con agua (20 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (3.10 g, 95%) en forma de un sólido de color blanco, que se usó sin purificación adicional; ¹H RMN (300 MHz, DMSO) 1.19 - 1.49 (4H, m), 1.91 - 2.04 (4H, m), 3.14 - 3.20 (1H, m), 3.25 (3H, s), 3.85 - 4.02 (1H, m), 8.51 (1H, d), 8.59 (1H, s), 13.8 (1H, s); *m/z* MH⁺ 286.

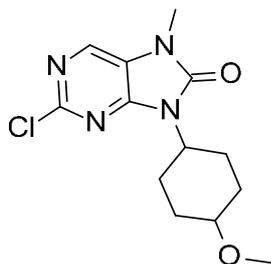
15

Intermedio 29: 2-cloro-9-(4-metoxiciclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



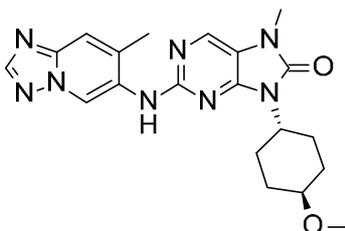
20 Se añadió difenilsfosforil azida (2.34 ml, 10.9 mmol) a ácido 2-cloro-4-((4-metoxiciclohexil)amino)pirimidin-5-carboxílico (3.1 g, 10.9 mmol) y Et₃N (1.51 ml, 10.9 mmol) en THF (50 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (150 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (2.50 g, 82%) en forma de un sólido de color blanco, que se usó sin purificación adicional; ¹H RMN (300 MHz, DMSO) 1.21 - 1.35 (2H, m), 1.79 (2H, dd), 2.13 (2H, dd), 2.15 - 2.35 (2H, m), 3.15 - 3.25 (1H, m), 3.28 (3H, s), 4.09 - 4.26 (1H, m), 8.13 (1H, s), 11.64 (1H, s); *m/z* MH⁺ 283.

Intermedio 30: 2-cloro-9-(4-metoxiciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



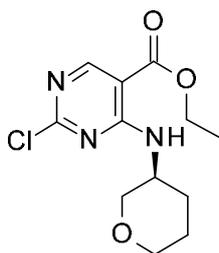
5 Se añadió NaH (0.240 g, 6.01 mmol) a 2-cloro-9-(4-metoxiciclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (1.7 g, 6.01 mmol) en DMF (25 ml) a 0 °C al aire. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos. Se añadió MeI (1.13 ml, 18.0 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 5 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (75 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (1.33 g, 75%) en forma de un sólido de color blanco, que se usó sin purificación adicional; ¹H RMN (300 MHz, DMSO) 1.17 - 1.37 (2H, m), 1.79 (2H, dd), 2.10 (2H, dd), 2.17 - 2.36 (2H, m), 3.15 - 3.24 (1H, m), 3.27 (3H, s), 3.35 (3H, s), 4.12 - 4.29 (1H, m), 8.35 (1H, s); *m/z* MH⁺ 297.

10 **Ejemplo 6: 9-((1*r*,4*r*)-4-metoxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona**



15 Se añadió Brettphos precat G3 (45.8 mg, 0.05 mmol) a 2-cloro-9-(4-metoxiciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (150 mg, 0.51 mmol), 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-amina (74.9 mg, 0.51 mmol) y carbonato de cesio (329 mg, 1.01 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml) en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 100°C durante 16 h. El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del título (136 mg, 66%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.21 (2H, qd), 1.75 (2H, dd), 2.07 (2H, dd), 2.30 (2H, qd), 2.41 (3H, s), 3.11 (1H, tt), 3.24 (3H, s), 3.30 (3H, s), 4.10 - 4.23 (1H, m), 7.71 (1H, s), 8.11 (1H, s), 8.38 (1H, s), 8.66 (1H, s), 9.21 (1H, s); *m/z* MH⁺ 409.

Intermedio 31: 2-cloro-4-[[*(3S)*-tetrahidropiran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxilato de etilo

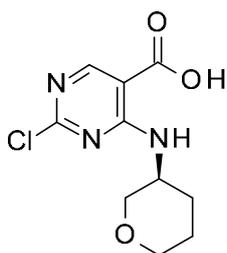


20 Se añadió gota a gota clorhidrato de (*3S*)-tetrahidro-2H-piran-3-amina (1.99 g, 14.5 mmol) en MeCN (10 ml) a una mezcla de DIPEA (6.30 ml, 36.2 mmol) y 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (3.2 g, 14.5 mmol) en MeCN (60 ml) a 0 °C durante un periodo de 5 minutos al aire. La mezcla de reacción se agitó durante 4 h, permitiendo lentamente el calentamiento a ta a medida que se fundió el baño de hielo. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 18 h. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad para eliminar el MeCN, se diluyó con EtOAc (100 ml), y se lavó con agua y después salmuera sat. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó para proporcionar un producto en bruto. El producto en bruto se purificó por fcc, eluyendo con EtOAc al 0 - 40% en heptano para proporcionar el compuesto del título (3.24 g, 78%) en forma de un aceite de color amarillo; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.32 (3H, t), 1.49 - 1.6 (1H, m), 1.63 - 1.79 (2H, m), 1.83 - 1.94 (1H, m), 3.48 (1H, dd), 3.54 - 3.65 (2H, m), 3.74 (1H, dd), 4.08 - 4.19 (1H, m), 4.33 (2H, q), 8.57 (1H, d), 8.64 (1H, s); *m/z* [M-H]⁻ 284.

25

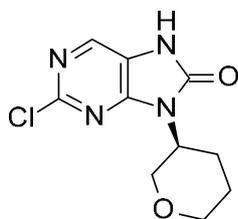
30

Intermedio 32: Ácido 2-cloro-4-[[*(3S)*-tetrahidropiran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxílico



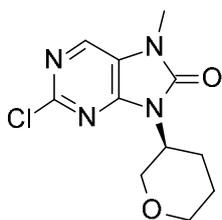
Se añadió en una porción hidróxido de litio hidrato (0.933 g, 22.23 mmol) a 2-cloro-4-[[*(3S)*-tetrahidropiran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxilato de etilo (3.24 g, 11.1 mmol) en THF (20 ml) y agua (20 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h. El disolvente orgánico se eliminó al vacío. La mezcla de reacción se acidificó con HCl ac. 2 M. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua (50 ml) y se secó al aire al vacío durante una noche. El sólido de color blanco resultante se secó adicionalmente al vacío a 50 °C durante 24 h para proporcionar el compuesto del título (2.40 g, 84%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.55 (1H, dq), 1.61 - 1.77 (2H, m), 1.85 - 1.95 (1H, m), 3.45 (1H, dd), 3.59 (2H, t), 3.75 (1H, dd), 4.06 - 4.16 (1H, m), 8.60 (1H, s), 8.76 (1H, d), 13.62 (1H, s); *m/z* MH⁺ 258.

10 **Intermedio 33: (S)-2-cloro-9-(tetrahidro-2H-piran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona**



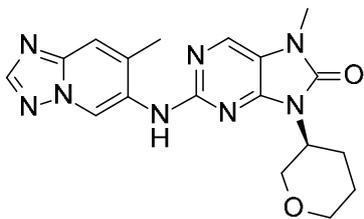
Se añadió en una porción difenilfosforil azida (2.00 ml, 9.29 mmol) a una solución de ácido 2-cloro-4-[[*(3S)*-tetrahidropiran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxílico (2.40 g, 9.29 mmol) y trietilamina (1.30 ml, 9.29 mmol) en THF (50 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 24 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar se vertió entonces en agua (40 ml). El THF se eliminó al vacío haciendo que se formara un precipitado de color blanco en el agua que se eliminó por filtración al vacío, se lavó con agua, se secó al aire al vacío durante 2 h, después se secó al vacío a 50 °C para proporcionar el compuesto del título (1.84 g, 78%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.61 - 1.82 (2H, m), 1.88 - 1.99 (1H, m), 2.40 - 2.49 (1H, m), 3.3 - 3.37 (1H, m), 3.78 - 3.93 (3H, m), 4.2 - 4.32 (1H, m), 8.13 (1H, s), 11.63 (1H, s); *m/z* MH⁺ 255.

20 **Intermedio 34: 2-cloro-7-metil-9-[(3S)-tetrahidropiran-3-il]purin-8-ona**



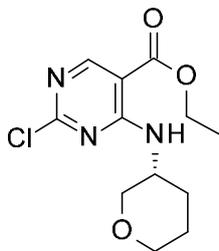
Se añadió en porciones hidruro sódico (60%) (0.434 g, 10.9 mmol) a (S)-2-cloro-9-(tetrahidro-2H-piran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (1.84 g, 7.24 mmol) en DMF (25 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos después se añadió gota a gota yodometano (1.36 ml, 21.7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua (50 ml) y el precipitado resultante se eliminó por filtración y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (1.62 g, 83%) en forma de un sólido de color crema; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.64 - 1.82 (2H, m), 1.90 - 1.98 (1H, m), 2.41 - 2.48 (1H, m), 3.32 - 3.38 (4H, m), 3.79 - 3.91 (3H, m), 4.25 - 4.34 (1H, m), 8.35 (1H, s); *m/z* MH⁺ 269

30 **Ejemplo 7: (S)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona**



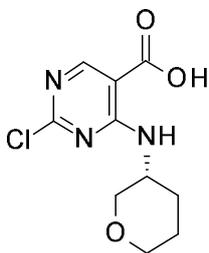
Se añadió carbonato de cesio (303 mg, 0.93 mmol) a 2-cloro-7-metil-9-[(3S)-tetrahidropiran-3-il]purin-8-ona (125 mg, 0.47 mmol) y 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-amina (68.9 mg, 0.47 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml). La reacción se desgasificó y se añadió Brettphos precat G3 (42.2 mg, 0.05 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 2 h. La reacción se enfrió a ta y se concentró. El sólido se disolvió de nuevo en DCM y se filtró a través de celite. El filtrado se purificó por fcc, eluyendo con MeOH al 0 - 8% en DCM, y el sólido resultante se trituró con éter dietílico, se filtró y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (110 mg, 62%) en forma de un sólido de color naranja; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.62 - 1.74 (2H, m), 1.89 (1H, d), 2.41 (3H, s), 2.42 - 2.47 (1H, m), 3.19 - 3.26 (1H, m), 3.30 (3H, s), 3.76 - 3.86 (2H, m), 3.92 (1H, t), 4.22 - 4.32 (1H, m), 7.71 (1H, s), 8.11 (1H, s), 8.37 (1H, s), 8.65 (1H, s), 9.18 (1H, s); *m/z* MH⁺ 381.

Intermedio 35: 2-Cloro-4-[[[(3R)-tetrahidropiran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxilato de etilo



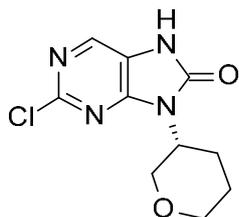
Se añadió gota a gota clorhidrato de (R)-tetrahidro-2H-piran-3-amina (1.00 g, 7.27 mmol) en acetonitrilo (5 ml) a una mezcla de DIPEA (3.16 ml, 18.2 mmol) y 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (1.61 g, 7.27 mmol) en acetonitrilo (30 ml) a 0 °C durante un periodo de 5 minutos al aire. La suspensión resultante se agitó durante 4 h, permitiendo lentamente el calentamiento a ta, y se agitó a ta durante una noche. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad para eliminar el MeCN, se diluyó con EtOAc (100 ml), y se lavó con agua y después con salmuera sat. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó. El producto en bruto resultante se purificó por fcc, gradiente de elución de EtOAc del 0 al 50% en heptano, para proporcionar el compuesto del título (0.936 g, 45%) en forma de un aceite de color amarillo; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.33 (3H, t), 1.57 (1H, dt), 1.71 (2H, dtd), 1.91 (1H, ddt), 3.48 (1H, dd), 3.55 - 3.66 (2H, m), 3.75 (1H, dd), 4.11 - 4.2 (1H, m), 4.33 (2H, q), 8.58 (1H, d), 8.65 (1H, s); *m/z* MH⁺ 286.

Intermedio 36: Ácido 2-cloro-4-[[[(3R)-tetrahidropiran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxílico



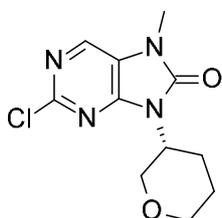
Se añadió en una porción hidróxido de litio hidrato (276 mg, 6.57 mmol) a 2-cloro-4-[[[(3R)-tetrahidropiran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxilato de etilo (939 mg, 3.29 mmol) en THF (1.23 ml) y agua (4.10 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 30 minutos. El disolvente orgánico se eliminó a presión reducida. La mezcla de reacción se acidificó con HCl ac. 2 M. El sólido de color blanco resultante se filtró para proporcionar el compuesto del título (806 mg, 95%) en forma de un sólido de color blanco que se secó al vacío a 45 °C durante una noche; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.56 (1H, dq), 1.70 (2H, ddt), 1.91 (1H, ddt), 3.46 (1H, dd), 3.60 (2H, t), 3.76 (1H, dd), 4.12 (1H, d), 8.61 (1H, s), 8.77 (1H, d); *m/z* MH⁺ 258.

Intermedio 37: 2-cloro-9-[(3R)-tetrahidropiran-3-il]-7H-purin-8-ona



5 Se añadió en una porción difenilfosforil azida (0.674 ml, 3.13 mmol) a una solución de ácido 2-cloro-4-[[[(3R)-tetrahidropiran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxílico (806 mg, 3.13 mmol) y trietilamina (0.436 ml, 3.13 mmol) en THF (17.3 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 24 h, después se dejó enfriar y se vertió en agua (20 ml). El THF se eliminó al vacío haciendo que se formara un precipitado de color blanco en el agua. El precipitado se recogió por filtración y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (565 mg, 71%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.64 - 1.83 (2H, m), 1.93 (1H, d), 2.42 - 2.49 (1H, m), 3.35 (1H, dd), 3.8 - 3.92 (3H, m), 4.21 - 4.36 (1H, m), 8.13 (1H, s), 11.6 (1H, s); *m/z* MH⁺ 255.

Intermedio 38: 2-cloro-7-metil-9-[(3R)-tetrahidropiran-3-il]purin-8-ona

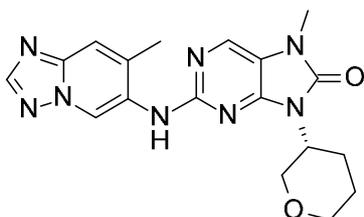


10

15 Se añadió en porciones hidruro sódico (60%) (133 mg, 3.33 mmol) a 2-cloro-9-[(3R)-tetrahidropiran-3-il]-7H-purin-8-ona (565 mg, 2.22 mmol) en DMF (5.13 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos y después se añadió gota a gota yodometano (416 µl, 6.66 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura de baño de hielo durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua (50 ml) y el precipitado resultante se eliminó por filtración y se secó durante una noche para proporcionar el compuesto del título (535 mg, 90%) en forma de un sólido de color blanco que se usó directamente en la siguiente etapa; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.73 (2H, dddd), 1.94 (1H, d), 2.41 - 2.49 (1H, m), 3.34 - 3.38 (1H, m), 3.36 (3H, s), 3.81 - 3.92 (3H, m), 4.24 - 4.36 (1H, m), 8.36 (1H, s); *m/z* MH⁺ 269.

15

Ejemplo 8: (R)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona

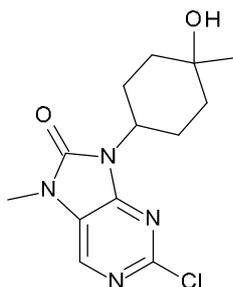


20

25 Se añadió en una porción carbonato de cesio (364 mg, 1.12 mmol) a 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-amina (83 mg, 0.56 mmol) y 2-cloro-7-metil-9-[(3R)-tetrahidropiran-3-il]purin-8-ona (150 mg, 0.56 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) a ta y se desgasificó por burbujeo de nitrógeno a través de la mezcla durante 5 minutos. Se añadió Brettphos precat G3 (51 mg, 0.06 mmol) y la reacción se calentó a 100 °C durante 2 h. La mezcla se diluyó con DCM y se filtró. La capa de DCM se evaporó y el residuo se purificó por fcc, gradiente de elución MeOH del 0 al 5% en DCM, después se trituró con MeCN, se filtró y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (92 mg, 43%) en forma de un sólido de color crema; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.59 - 1.77 (2H, m), 1.90 (1H, d), 2.41 (3H, s), 2.43 - 2.49 (1H, m), 3.25 (1H, td), 3.31 (3H, s), 3.76 - 3.88 (2H, m), 3.92 (1H, t), 4.27 (1H, ddt), 7.72 (1H, s), 8.12 (1H, s), 8.37 (1H, s), 8.66 (1H, s), 9.19 (1H, s); *m/z* MH⁺ 381.

25

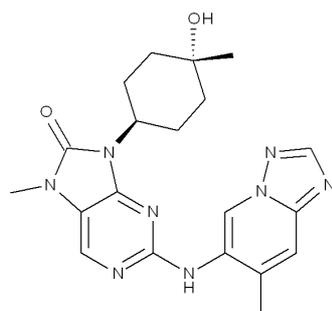
30 **Intermedio 39: 2-cloro-9-(4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona**



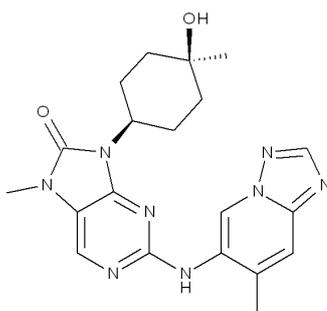
Se añadió bromuro de metil magnesio (3 M, 0.89 ml, 2.67 mmol) a 2-cloro-7-metil-9-(4-oxociclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (500 mg, 1.78 mmol) en THF (10 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 4 h. El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del título (400 mg, 76%) en forma de un sólido de color blanco (mezcla de diastereoisómeros); ¹H RMN (diastereoisómero principal) (300 MHz, CDCl₃) 1.30 (3H, s), 1.47 (1H, s), 1.51 - 1.74 (4H, m), 1.76 - 92 (2H, m), 2.62 - 2.83 (2H, m), 3.44 (3H, s), 4.26 - 4.50 (1H, m), 8.01 (1H, s); *m/z* MH⁺ 297.

Ejemplo 9: 9-((1*r*,4*r*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona y

Ejemplo 10: 9-((1*s*,4*s*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



Ejemplo 9



Ejemplo 10

Se añadieron Brettphos precat G3 (169 mg, 0.20 mmol) y 2-diciclohexilfosfino-2',6'-di-*i*-propoxi-1,1'-bifenilo (94 mg, 0.20 mmol) a 2-cloro-9-(4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (300 mg, 1.01 mmol), 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-amina (180 mg, 1.21 mmol) y carbonato de cesio (659 mg, 2.02 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 5 h. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa para proporcionar 9-((1*r*,4*r*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (73 mg, 18%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 0.66 (3H, s), 1.33 - 1.45 (2H, m), 1.45 - 1.57 (4H, m), 2.11 - 2.27 (2H, m), 2.33 (3H, s), 3.29 (3H, s), 3.99 - 4.13 (1H, m), 4.33 (1H, s), 7.71 (1H, s), 8.10 (1H, s), 8.38 (1H, s), 8.70 (1H, s), 8.97 (1H, s); *m/z* MH⁺ 409; y 9-((1*s*,4*s*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (190 mg, 46%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.15 (3H, s), 1.34 - 1.51 (4H, m), 1.66 (2H, d), 2.39 (3H, s), 2.57 - 2.73 (2H, m), 3.29 (3H, s), 4.04 (1H, s), 4.08 - 4.21 (1H, m), 7.70 (1H, s), 8.05 (1H, s), 8.38 (1H, s), 8.59 (1H, s), 9.14 (1H, s); *m/z* MH⁺ 409.

25 Forma A

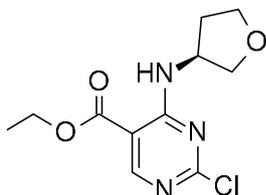
El producto final, 9-((1*s*,4*s*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona, se analizó por XRPD y DSC y se encontró que era cristalino. El XRPD de una muestra del material dio lugar a un patrón de difracción como se muestra en la figura 3. La Forma A 9-((1*s*,4*s*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona se caracteriza por al menos un pico a un valor 2θ de 8.8° y 12.7°, medido usando radiación CuKα. Los diez picos más prominentes de XRPD se muestran en la Tabla B.

Tabla B: Diez picos XRPD más prominentes para la Forma A 9-((1*s*,4*s*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.

Ángulo 2-Theta (2θ)	% de intensidad
---------------------	-----------------

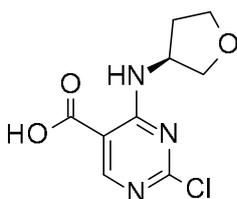
12.7	100
14.8	83.3
8.8	82.3
23.8	57.4
16.5	53.1
5.1	43.6
13.0	42.6
10.3	42
13.8	40.3
24.2	38.6

Intermedio 40: 2-cloro-4-[[[(3S)-tetrahidrofuran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxilato de etilo



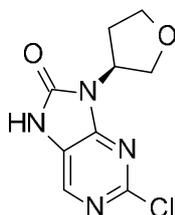
5 Se añadió gota a gota DIPEA (4.74 ml, 27.1 mmol) a 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (5 g, 22.6 mmol) y (S)-tetrahidrofuran-3-amina (1.97 g, 22.6 mmol) en acetonitrilo (100 ml) a 0 °C durante un periodo de 2 min. La mezcla de reacción se dejó calentar a ta, después se agitó a ta durante 16 h y se concentró al vacío. El producto en bruto resultante se purificó por fcc, gradiente de elución EtOAc del 0 al 5% en éter de petróleo, para proporcionar el compuesto del título (4.60 g, 75%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.32 (3H, t), 1.83 - 1.95 (1H, m), 2.21 - 2.35 (1H, m), 3.65 (1H, dd), 3.69 - 3.92 (3H, m), 4.27 - 4.37 (2H, m), 4.57 - 4.68 (1H, m), 8.44 (1H, d), 8.63 (1H, s); *m/z* MH⁺ 272.

10 **Intermedio 41: Ácido 2-cloro-4-[[[(3S)-tetrahidrofuran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxílico**



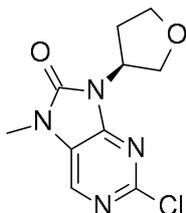
15 Se añadió en una porción LiOH (0.811 g, 33.9 mmol) a 2-cloro-4-[[[(3S)-tetrahidrofuran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxilato de etilo (4.60 g, 16.93 mmol) en THF (50 ml) y agua (25 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar a ta, se agitó a ta durante 2 h, se concentró parcialmente al vacío y se acidificó con HCl ac. 2 M. El precipitado resultante se aisló por filtración, se lavó con agua (20 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (3.50 g, 85%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 1.81 - 1.93 (1H, m), 2.21 - 2.35 (1H, m), 3.60 - 3.68 (1H, m), 3.69 - 3.94 (3H, m), 4.56 - 4.68 (1H, m), 8.61 (1H, s), 8.65 (1H, s) 13.84 (1H, s); *m/z* MH⁺ 244.

Intermedio 42: 2-cloro-9-[[[(3S)-tetrahidro-3-furanyl]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



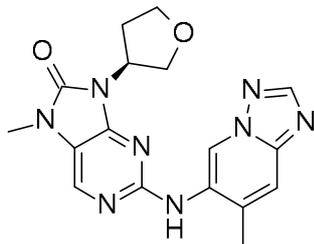
Se añadió en una porción difenilfosforil azida (3.10 ml, 14.37 mmol) a ácido 2-cloro-4-[(3S)-tetrahidrofuran-3-il]amino]pirimidin-5-carboxílico (3.5 g, 14.4 mmol) y Et₃N (2.00 ml, 14.4 mmol) en THF (100 ml) a ta. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 2 días. El disolvente se eliminó a presión reducida. El producto en bruto resultante se purificó por fcc, gradiente de elución EtOAc del 0 al 50% en éter de petróleo, para proporcionar el compuesto del título (3.20 g, 93%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 2.16 - 2.32 (1H, m), 2.35 - 2.48 (1H, m), 3.81 - 3.92 (2H, m), 3.97 (1H, t), 4.10 (1H, q), 4.91 - 5.03 (1H, m), 8.14 (1H, s), 11.66 (1H, s); *m/z* MH⁺ 241.

Intermedio 43: 2-cloro-7-metil-9-[(3S)-tetrahidro-3-furanil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



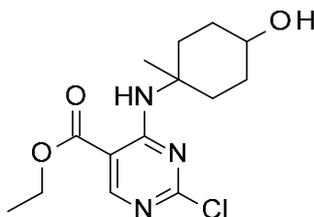
Se añadió en una porción NaH (0.532 g, 13.30 mmol) a 2-cloro-9-[(3S)-tetrahidro-3-furanil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (3.2 g, 13.30 mmol) en DMF (30 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 30 min. Se añadió Mel (2.49 ml, 39.9 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h, después se inactivó con agua (5 ml) y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por fcc, gradiente de elución EtOAc del 0 al 40% en éter de petróleo, para proporcionar el compuesto del título (2.90 g, 86%) en forma de un sólido de color amarillo; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) 2.18 - 2.32 (1H, m), 2.35 - 2.48 (1H, m), 3.36 (3H, s), 3.82 - 3.94 (2H, m), 3.98 (1H, t), 4.11 (1H, q), 4.95 - 5.07 (1H, m), 8.36 (1H, s); *m/z* MH⁺ 255.

Ejemplo 11: (S)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



Se añadió RuPhos Pd (13.96 mg, 0.02 mmol) a 2-cloro-7-metil-9-[(3S)-tetrahidro-3-furanil]-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (85 mg, 0.33 mmol), 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-amina (49.5 mg, 0.33 mmol), RuPhos (15.57 mg, 0.03 mmol) y Cs₂CO₃ (326 mg, 1.00 mmol) en 1,4-dioxano (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 16 h, después se dejó enfriar a ta y se concentró al vacío. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida C18, gradiente de elución MeOH del 0 al 55% en agua con ácido fórmico al 0.1% para proporcionar el compuesto del título (87 mg, 71%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) 2.30 - 2.40 (1H, m), 2.47 - 2.55 (1H, m), 2.51 (3H, s), 3.42 (3H, s), 3.87 (1H, q), 4.00 - 4.14 (2H, m), 4.20 (1H, q), 5.02 - 5.30 (1H, m), 7.64 (1H, s), 8.07 (1H, s), 8.33 (1H, s), 9.43 (1H, s), protón NH no observado; *m/z* MH⁺ 367.

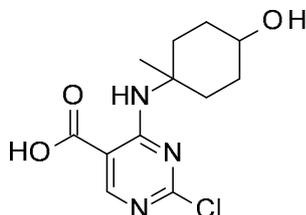
Intermedio 44: 2-cloro-4-((4-hidroxi-1-metilciclohexil)amino)pirimidin-5-carboxilato de etilo



Se añadió gota a gota DIPEA (4.28 ml, 24.5 mmol) a 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (2.46 g, 11.1 mmol) y clorhidrato de 4-amino-4-metil-ciclohexanol (2.00 g, 11.1 mmol) en acetonitrilo (40 ml) a 0 °C durante 5 min. La mezcla de reacción se dejó calentar a ta, después se agitó a ta durante 6 h y se concentró al vacío, se diluyó con EtOAc (300 ml) y se lavó con salmuera sat. (100 ml x 2). La capa orgánica se aisló, se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El producto en bruto resultante se purificó por fcc, gradiente de elución EtOAc del 0 al 20% en n-heptano, para proporcionar el compuesto del título (2.82 g, 81%) en forma de una goma de color amarillo pálido; ¹H RMN (400 MHz,

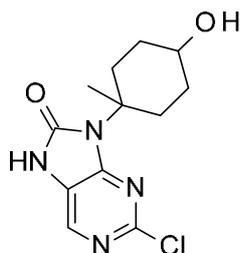
DMSO) 1.36 - 1.44 (3H, m), 1.44 - 1.58 (6H, m), 1.57 - 1.71 (1H, m), 1.72 - 2.13 (3H, m), 2.41 - 2.54 (2H, m), 3.63 - 3.75 (1H, m), 4.36 (2H, q), 8.52 - 8.59 (1H, m), 8.67 (1H, d); m/z MH^+ 314.

Intermedio 45: Ácido 2-cloro-4-((4-hidroxi-1-metilciclohexil)amino)pirimidin-5-carboxílico



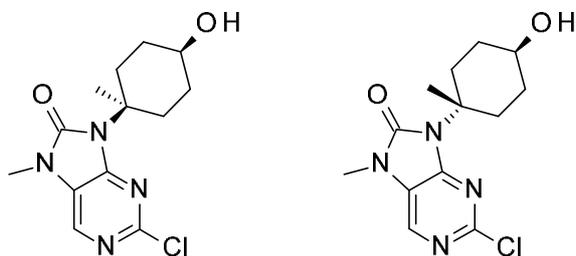
- 5 Se añadió en una porción LiOH (0.43 g, 17.97 mmol) a 2-cloro-4-((4-hidroxi-1-metilciclohexil)amino)pirimidin-5-carboxilato de etilo (2.82 g, 8.99 mmol) en THF (25 ml) y agua (25 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar a ta, se agitó a ta durante 5 h, después se concentró parcialmente al vacío y se acidificó con HCl ac. 2 M. El precipitado resultante se aisló por filtración, se lavó con agua (20 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (2.17 g, 85%) en forma de un sólido de color blanco; 1H RMN (400 MHz, DMSO) 1.18 - 1.32 (2H, m), 1.34 - 1.52 (2H, m), 1.43 (3H, s), 1.52 - 1.79 (2H, m), 2.21 - 2.30 (2H, m), 3.37 - 3.49 (1H, m), 4.55 (1H, s), 8.59 (1H, d), 8.74 (1H, s), 13.85 (1H, s); m/z MH^+ 286.
- 10

Intermedio 46: 2-cloro-9-(4-hidroxi-1-metilciclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



- 15 Se añadió en una porción difenilfosforil azida (1.64 ml, 7.59 mmol) a ácido 2-cloro-4-((4-hidroxi-1-metilciclohexil)amino)pirimidin-5-carboxílico (2.17 g, 7.59 mmol) y Et_3N (1.06 ml, 7.59 mmol) en THF (20 ml) a ta. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 2 días, y después se concentró al vacío. El producto en bruto resultante se purificó por fcc, gradiente de elución EtOAc del 0 al 50% en DCM, para proporcionar el compuesto del título (1.79 g, 83%) en forma de un sólido de color blanco; 1H RMN (400 MHz, DMSO) 1.09 - 1.25 (2H, m), 1.34 (3H, s), 1.36 - 1.64 (2H, m), 1.65 - 1.77 (2H, m), 3.17 (2H, d), 3.41 - 3.57 (1H, m), 4.07 - 4.15 (1H, m), 8.10 (1H, d), 11.61 (1H, s); m/z MH^+ 283.
- 20

Intermedios 47 y 48: 2-cloro-9-((1s,4s)-4-hidroxi-1-metilciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona y 2-cloro-9-((1r,4r)-4-hidroxi-1-metilciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona

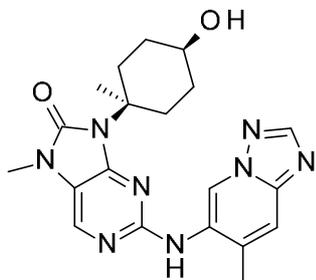


- 25 Una solución de NaOH (1.27 g, 31.66 mmol) en agua (24 ml) se añadió a una mezcla agitada de 2-cloro-9-(4-hidroxi-1-metilciclohexil)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (1.79 g, 6.33 mmol), yodometano (1.97 ml, 31.66 mmol) y bromuro de tetrabutilamonio (0.204 g, 0.63 mmol) en DCM (40 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h, y después se extrajo con DCM (3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto en bruto resultante se purificó por fcc, gradiente de elución EtOAc del 0 al 40% en DCM, para proporcionar los compuestos del título:

- 30 Producto secundario 2-cloro-9-((1s,4s)-4-hidroxi-1-metilciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (0.26 g, 14%) en forma de un sólido de color blanco; 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) 1.66 (3H, s), 1.67 - 1.85 (4H, m), 2.19 - 2.31 (2H, m), 2.91 - 3.02 (2H, m), 3.41 (3H, s), 3.89 - 3.99 (1H, m), 7.99 (1H, s), un protón intercambiable no observado; m/z MH^+ 297.

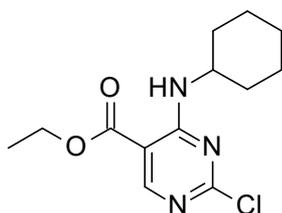
Producto principal 2-cloro-9-((1*r*,4*r*)-4-hidroxi-1-metilciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8*H*-purin-8-ona (1.44 g, 77%) en forma de un sólido de color blanco.; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) 1.42 - 1.50 (2H, m), 1.51 (3H, s), 1.58 - 1.88 (2H, m), 1.88 - 2.00 (2H, m), 3.40 (3H, s), 3.52 - 3.63 (2H, m), 3.72 - 3.84 (1H, m), 7.99 (1H, s), un protón intercambiable no observado; *m/z* MH⁺ 297.

5 **Ejemplo 12: 9-((1*s*,4*s*)-4-hidroxi-1-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8*H*-purin-8-ona**



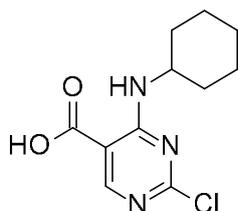
10 Se añadió RuPhos Pd (5.64 mg, 6.74 μmol) a 2-cloro-9-((1*s*,4*s*)-4-hidroxi-1-metilciclohexil)-7-metil-7,9-dihidro-8*H*-purin-8-ona (40 mg, 0.13 mmol), 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridin-6-amina (22 mg, 0.15 mmol), Cs₂CO₃ (132 mg, 0.40 mmol) y RuPhos (6.3 mg, 0.01 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml). La mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 3 h, se dejó enfriar a ta y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida C18-flash, gradiente de elución MeOH del 0 al 90% en eluyente de agua con ácido fórmico al 0.1%, después se purificó adicionalmente por HPLC preparativa, para proporcionar el compuesto del título (20 mg, 36%) en forma de un sólido de color blanco; ¹H RMN (300 MHz, DMSO) 1.34 - 1.43 (2H, m), 1.43 (3H, s), 1.50 - 1.58 (2H, m), 1.96 (2H, t), 2.38 (3H, s), 2.78 - 2.83 (2H, m), 3.26 (3H, s), 3.60 - 3.61 (1H, m), 4.40 (1H, d), 7.70 (1H, m), 8.09 (1H, s), 8.37 (1H, s), 8.55 (1H, s), 9.04 (1H, s); *m/z* MH⁺ 409.

Intermedio 49: 2-cloro-4-(ciclohexilamino)pirimidin-5-carboxilato de etilo



20 Se añadió gota a gota ciclohexanamina (4.92 ml, 43.0 mmol) en acetonitrilo (30 ml) a una mezcla de DIPEA (11.2 ml, 64.5 mmol) y 2,4-dicloropirimidin-5-carboxilato de etilo (9.5 g, 43.0 mmol) en acetonitrilo (200 ml) a 0 °C durante un periodo de 5 min al aire. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 4 h, permitiendo lentamente un calentamiento a temperatura ambiente a medida que se fundió el baño de hielo. La mezcla de reacción se concentró al vacío, se diluyó con EtOAc (200 ml), y se lavó con agua (75 ml) y salmuera sat. (50 ml). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El producto en bruto resultante se purificó por fcc, gradiente de elución EtOAc del 0 al 50% en heptano, para proporcionar el compuesto del título (8.84 g, 73%) en forma de un aceite incoloro que solidificó en reposo; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) 1.24 - 1.35 (3H, m), 1.38 (3H, t), 1.38 - 1.51 (2H, m), 1.63 (1H, dt), 1.75 (2H, dq), 1.92 - 2.02 (2H, m), 4.06 - 4.21 (1H, m), 4.35 (2H, q), 8.36 (1H, d), 8.64 (1H, s); *m/z*: MH⁺ 284.

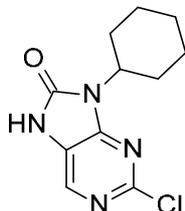
Intermedio 50: Ácido 2-cloro-4-(ciclohexilamino)pirimidin-5-carboxílico



30 Se añadió en una porción hidróxido de litio hidrato (2.61 g, 62.3 mmol) a 2-cloro-4-(ciclohexilamino)pirimidin-5-carboxilato de etilo (8.84 g, 31.2 mmol) en THF (50 ml) y agua (50 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 h, después se concentró parcial al vacío, y se acidificó HCl ac. 2 M. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con agua (50 ml) y se secó al vacío a 50 °C durante 2 días para proporcionar el compuesto del título

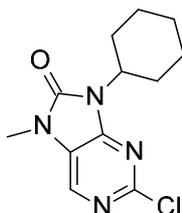
(7.58 g, 95%) en forma de un sólido de color blanco; ^1H RMN (400 MHz, DMSO) 1.18 - 1.45 (5H, m), 1.52 - 1.62 (1H, m), 1.64 - 1.73 (2H, m), 1.83 - 1.95 (2H, m), 3.91 - 4.04 (1H, m), 8.54 - 8.6 (2H, m), 13.74 (1H, s); m/z : MH^+ 256.

Intermedio 51: 2-cloro-9-ciclohexil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



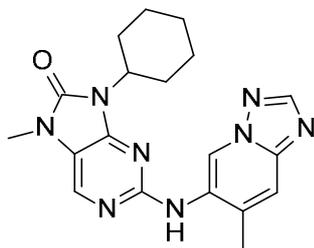
- 5 Se añadió en una porción difenilfosforil azida (6.39 ml, 29.6 mmol) a una solución de ácido 2-cloro-4-(ciclohexilamino)pirimidin-5-carboxílico (7.58 g, 29.6 mmol) y trietilamina (4.1 ml, 29.6 mmol) en THF (150 ml) a ta. La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 26 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar a ta, después se vertió en agua (80 ml), y la mezcla resultante se concentró parcialmente al vacío. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó al vacío durante una noche a 50 °C para proporcionar el compuesto del título (7.69 g, 103%) en forma de un sólido de color blanco; ^1H RMN (400 MHz, DMSO) 1.12 - 1.27 (1H, m), 1.36 (2H, qd), 1.63 - 1.7 (1H, m), 1.71 - 1.79 (2H, m), 1.79 - 1.88 (2H, m), 2.18 (2H, qd), 4.14 (1H, tt), 8.11 (1H, s), 11.57 (1H, s); m/z MH^+ 253.

Intermedio 52: 2-cloro-9-ciclohexil-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



- 15 Se añadió en porciones hidruro sódico (60%) (0.261 g, 6.53 mmol) a 2-cloro-9-ciclohexil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (1.1 g, 4.35 mmol) en DMF (10 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min y después se añadió gota a gota yodometano (0.817 ml, 13.16 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h, después se inactivó con agua (50 ml) y el precipitado resultante se recogió por filtración y se secó al vacío durante una noche para proporcionar el compuesto del título (1.08 g, 93%) en forma de un sólido de color crema; ^1H RMN (400 MHz, DMSO) 1.21 (1H, ddd), 1.38 (2H, tdd), 1.65 (1H, d), 1.74 (2H, d), 1.83 (2H, d), 2.09 - 2.26 (2H, m), 3.30 (3H, s), 4.18 (1H, tt), 8.34 (1H, s); m/z MH^+ 267.

Ejemplo 13: 9-ciclohexil-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona



- 25 Se añadió en una porción carbonato de cesio (733 mg, 2.25 mmol) a 2-cloro-9-ciclohexil-7-metil-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona (300 mg, 1.12 mmol) y 7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-amina (167 mg, 1.12 mmol) en 1,4-dioxano (8 ml) a ta. La reacción se desgasificó por burbujeo de nitrógeno a través de la mezcla durante 5 min. Se añadió Brettphos precat G3 (102 mg, 0.11 mmol) y la reacción se calentó a 100 °C durante 2 h. La mezcla se diluyó con DCM y se filtró. El filtrado se concentró al vacío y el residuo se purificó por fcc, gradiente de elución MeOH del 0 al 5% en DCM, después se purificó adicionalmente por trituración con MeCN y se secó al vacío a 45 °C durante una noche para proporcionar el compuesto del título (233 mg, 55%) en forma de un sólido de color crema; ^1H RMN (400 MHz, DMSO) 1.16 (1H, q), 1.33 (2H, q), 1.62 (1H, d), 1.71 (2H, d), 1.80 (2H, d), 2.14 - 2.3 (2H, m), 2.42 (3H, s), 3.31 (3H, s), 4.16 (1H, ddd), 7.71 (1H, s), 8.11 (1H, s), 8.37 (1H, s), 8.60 (1H, s), 9.20 (1H, s); m/z MH^+ 379.

REFERENCIAS

- An J et al. DNA-PKcs plays a dominant role in the regulation of H2AX phosphorylation in response to DNA damage and cell cycle progression. *BMC Mol Biol* 2010; 11: 18
- Ashley AK. DNA-PK phosphorylation of RPA32 Ser4/Ser8 regulates replication stress checkpoint activation, fork restart, homologous recombination and mitotic catastrophe. *DNA Repair* 2014; 21: 131-139
- 5 Buisson R et al. Distinct but concerted roles of ATR, DNA-PK and Chk1 in countering replication stress during S phase. *Molecular Cell* 2015; 59: 1011-1024
- Chan DW et al. Autophosphorylation of the DNA-dependent protein kinase catalytic subunit is required for rejoining of DNA double-strand breaks. *Genes Dev* 2002; 16: 2333-2338
- 10 Ciszewski WM et al. DNA-PK inhibition by NU7441 sensitizes breast cancer cells to ionizing radiation and doxorubicin. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 143: 47-55
- Deitlein F et al. A functional cancer genomics screen identifies a druggable synthetic lethal interaction between MSH3 and PRKDC. *Cancer Discovery* 2014; 4: 592-605
- Douglas P et al. Identification of in vitro and in vivo phosphorylation sites in the catalytic subunit of the DNA dependent protein kinase. *Biochem J* 2002; 368: 243-251
- 15 Escribano-Diaz C. et al. A cell cycle dependent regulatory circuit composed of 53BP1-RIF1 and BRCA1-CtIP controls DNA repair pathway choice. *Mol Cell* 2013; 49: 872-883
- Goodwin JF and Knudsen KE. Beyond DNA repair: DNA-PK function in cancer. *Cancer Discovery* 2014; 4: 1126-1139
- Goodwin JF et al. A hormone-DNA repair circuit governs the response to genotoxic insult. *Cancer Discovery* 2013; 3: 1254-1271
- 20 Hartlerode AJ and Scully R. Mechanisms of double-strand break repair in somatic mammalian cells. *Biochem J* 2009; 423: 157-168
- Lin Y-F et al. DNA-PKcs is required to maintain stability of Chk1 and claspin for optimal replication stress response. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: 4463-4473
- 25 Medunjanin S et al. Interaction of the double strand break repair kinase DNA-PK and estrogen receptor alpha. *Mol Biol Cell* 2010; 21: 1620-1628
- Munck JM et al. Chemosensitization of cancer cells by KU-0060648, a dual inhibitor of DNA-PK and PI-3K. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 1789-1798
- Neal JA and Meek K. Choosing the right path: does DNA-PK help make the decision? *Mutat Res* 2011; 711: 73-86
- 30 Riabinska A et al. Therapeutic targeting of a robust non-oncogene addiction to PRKDC in ATM-defective tumors. *Science Translational Medicine* 2013; 189: 189ra78
- San Filippo J et al. Mechanism of eukaryotic homologous recombination. *Annu Rev Biochem* 2008; 77: 229-257
- Smith GCM and Jackson SP. The DNA dependent protein kinase. *Genes and Development* 1999; 13: 916-934
- Symington LS and Gautier J. Double strand break end resection and repair pathway choice. *Annu Rev Genet* 2011; 45: 247-271
- 35 Willmore E et al. A novel DNA-dependent protein kinase inhibitor, NU7026, potentiates the cytotoxicity of topoisomerase II poisons used in the treatment of leukemia
- Blood* 2004; 103: 4659-4665
- Yoo S and Dynan WS. Geometry of a complex formed by double strand break repair proteins at a single DNA end: recruitment of DNA-PKcs induces inward translocation of Ku protein. *Nucleic Acids Res* 1999; 27: 4679-4686
- 40

<110> AstraZeneca AB

Cancer Research Technology Limited

<120> Compuestos de amino-triazolopiridina y su uso en el tratamiento del cáncer

<130> 200585-WO-PCT

5 <140> PCT/EP2017/083625

<141> 2017-12-19

<150> US62/436619

<151> 2016-12-20

<160> 1

10 <210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220> Péptido básico para péptido marcado con fluoresceína

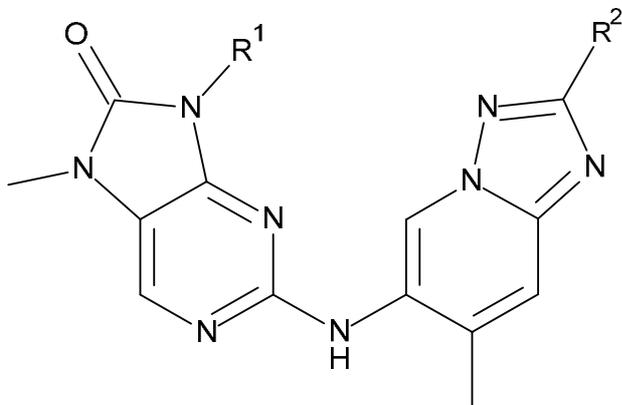
15 <400> 1

Glu Pro Pro Leu Ser Gln Glu Ala Phe Ala Asp Leu Trp Lys Lys

1 5 10 15

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I):



(I)

- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:
- R¹** es un anillo de ciclohexilo, tetrahidrofuranilo u oxanilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados de hidroxilo, metoxi y metilo; y
- R²** es hidrógeno o metilo.
2. El compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en la reivindicación 1, donde **R¹** es oxanilo.
3. El compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en la reivindicación 2, donde **R¹** es oxan-4-ilo.
4. El compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en la reivindicación 1, donde **R¹** es ciclohexilo.
- 15 5. El compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en la reivindicación 4, donde **R¹** es 1-hidroxi-1-metil-ciclohex-4-ilo.
6. El compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en cualquier reivindicación anterior, donde **R²** es hidrógeno.
7. El compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en la reivindicación 1, donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:
- 9-((1r,4r)-4-hidroxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
- 9-((1s,4s)-4-hidroxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
- 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
- 2-((2,7-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7-metil-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
- 25 9-((1s,4s)-4-metoxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
- 9-((1r,4r)-4-metoxiciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
- (S)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
- (R)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
- 9-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
- 30 9-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
- (S)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidrofuran-3-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;

- 9-((1s,4s)-4-hidroxi-1-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona;
y
9-ciclohexil-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.
8. El compuesto de Fórmula **(I)**, según se reivindica en la reivindicación 1, donde el compuesto es
- 5 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
9. El compuesto de Fórmula **(I)**, según se reivindica en la reivindicación 1, donde el compuesto es 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona.
10. Un compuesto cristalino de Fórmula **(I)**, según se reivindica en la reivindicación 8, donde el compuesto cristalino es 7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-9-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona y tiene un patrón XRPD que comprende picos a 7.6° y $18.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 2-theta según se mide usando radiación CuK α .
- 10 11. Un compuesto cristalino de Fórmula **(I)**, según se reivindica en la reivindicación 10, donde el compuesto cristalino tiene un patrón XRPD sustancialmente como se muestra en la figura 1 según se mide usando radiación CuK α .
12. Un compuesto cristalino de Fórmula **(I)**, según se reivindica en la reivindicación 7, donde el compuesto cristalino es 9-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-7-metil-2-((7-metil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)amino)-7,9-dihidro-8H-purin-8-ona y tiene un patrón XRPD que comprende picos a 8.8° y $12.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 2-theta según se mide usando radiación CuK α .
- 15 13. Un compuesto cristalino de Fórmula **(I)**, según se reivindica en la reivindicación 12, donde el compuesto cristalino tiene un patrón XRPD sustancialmente como se muestra en la figura 3 según se mide usando radiación CuK α .
- 20 14. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula **(I)**, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, y al menos un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
15. Un compuesto de Fórmula **(I)**, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para su uso en terapia.
- 25 16. Un compuesto de Fórmula **(I)**, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para su uso en el tratamiento de cáncer.
17. Un compuesto de Fórmula **(I)**, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para su uso en el tratamiento de cáncer según se reivindica en la reivindicación 16, donde el compuesto de Fórmula **(I)**, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra
- 30 junto con radioterapia.
18. Un compuesto de Fórmula **(I)** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para su uso en el tratamiento de cáncer según se reivindica en la reivindicación 16, donde el compuesto de Fórmula **(I)**, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra
- 35 junto con al menos una sustancia antitumoral adicional seleccionada del grupo que consiste en cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, valrubicina, idarrubicina, doxorubicina, pirarrubicina, irinotecán, topotecán, amrubicina, epirubicina, etopósido, mitomicina, bendamustina, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, carmustina, melfalán, bleomicina, olaparib, MEDI4736 (durvalumab), AZD1775, AZD6738, AZD1390 y AZD0156.

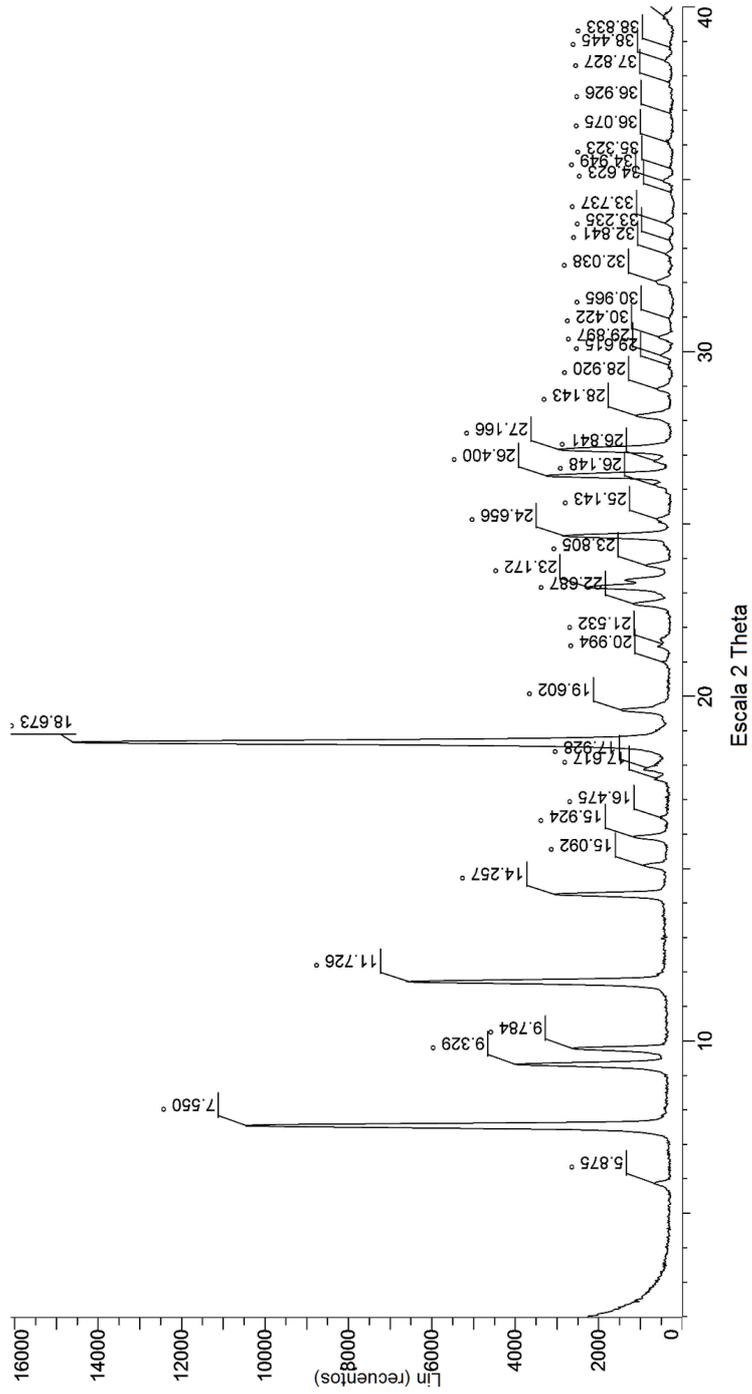


Figura 1: Patrón de difracción de polvo de rayos X del Compuesto A Forma A

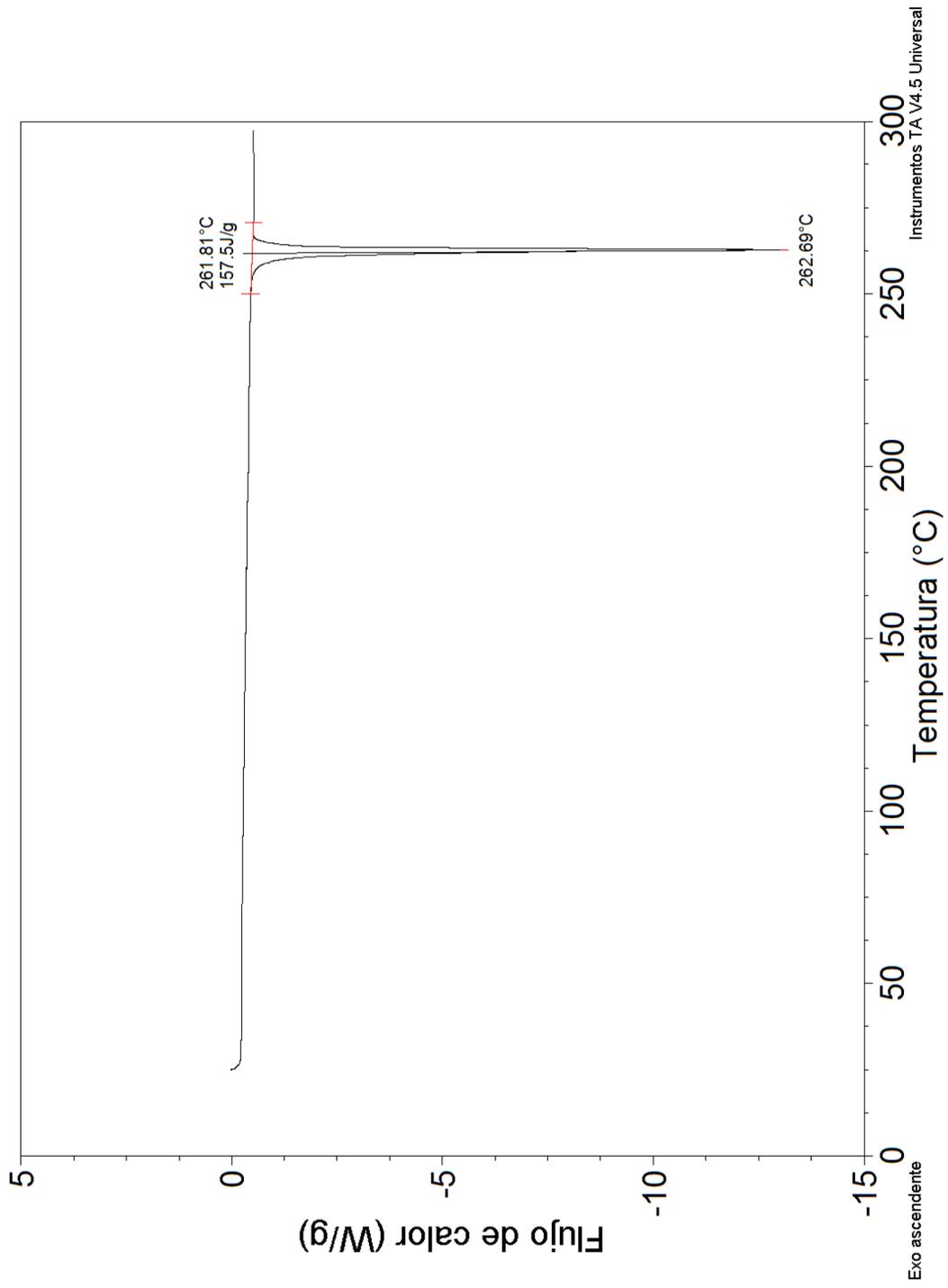


Figura 2: Termograma DSC del Compuesto A Forma A

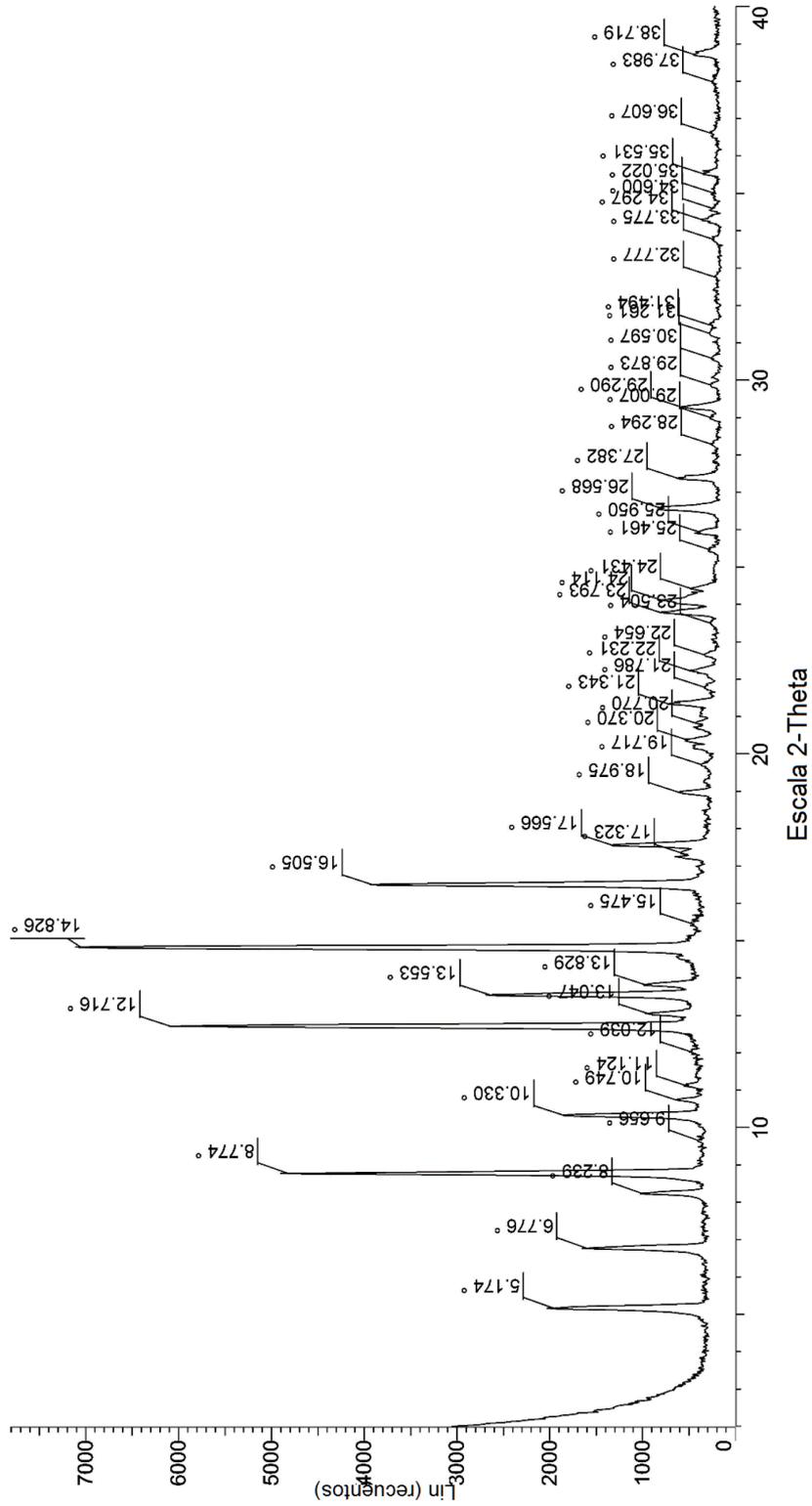


Figura 3: Patrón de difracción de polvo de rayos X del Compuesto B Forma A

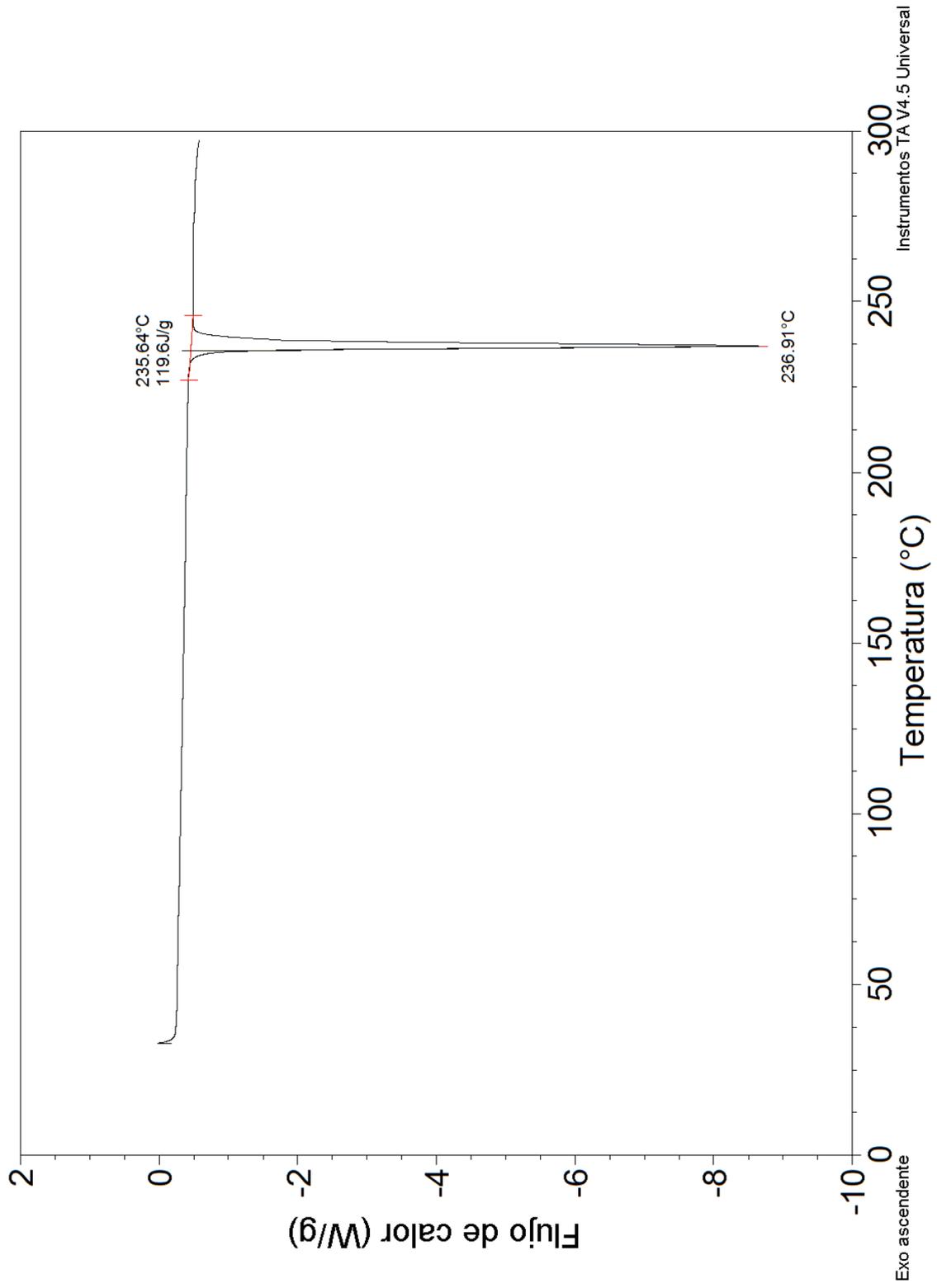


Figura 4: Termograma DSC del Compuesto B Forma A

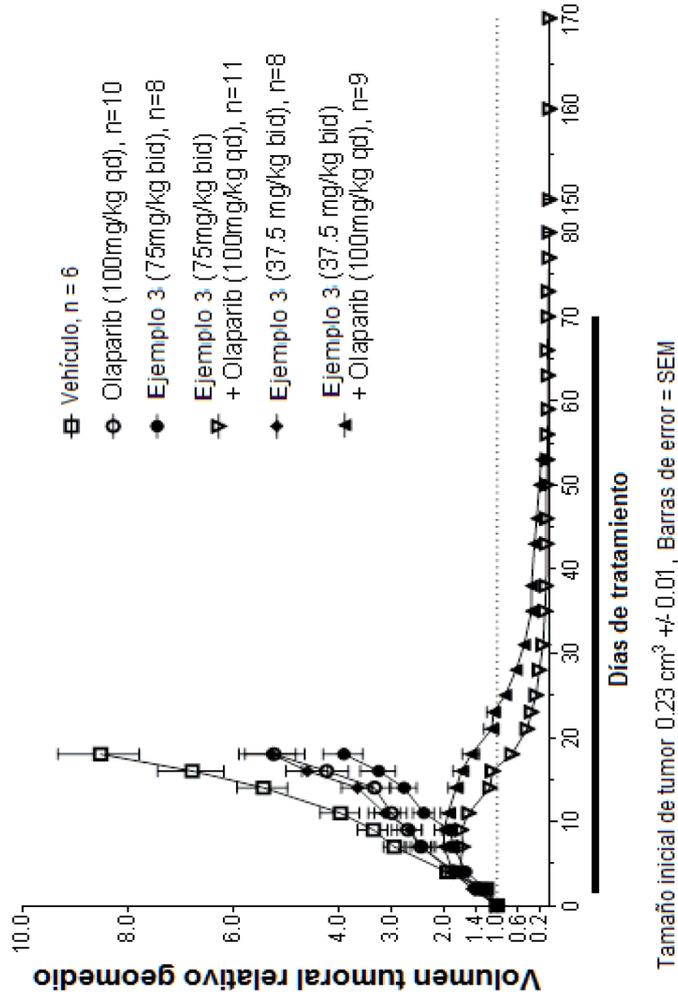


Figura 5: Inhibición del crecimiento tumoral en modelo de xenoinjerto de ratón por el Ejemplo 3 (Compuesto A) junto con Olaparib

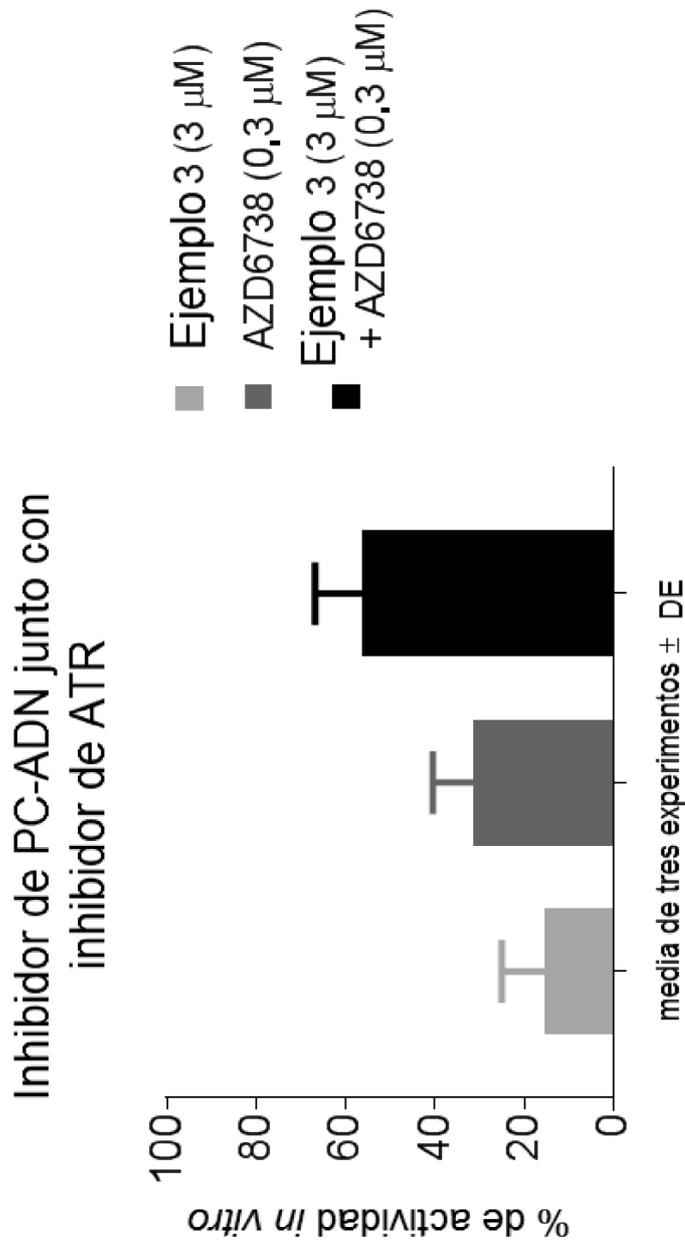


Figura 6: Actividad *in vitro* del Ejemplo 3 (Compuesto A) junto con AZD6738, un inhibidor de ATR

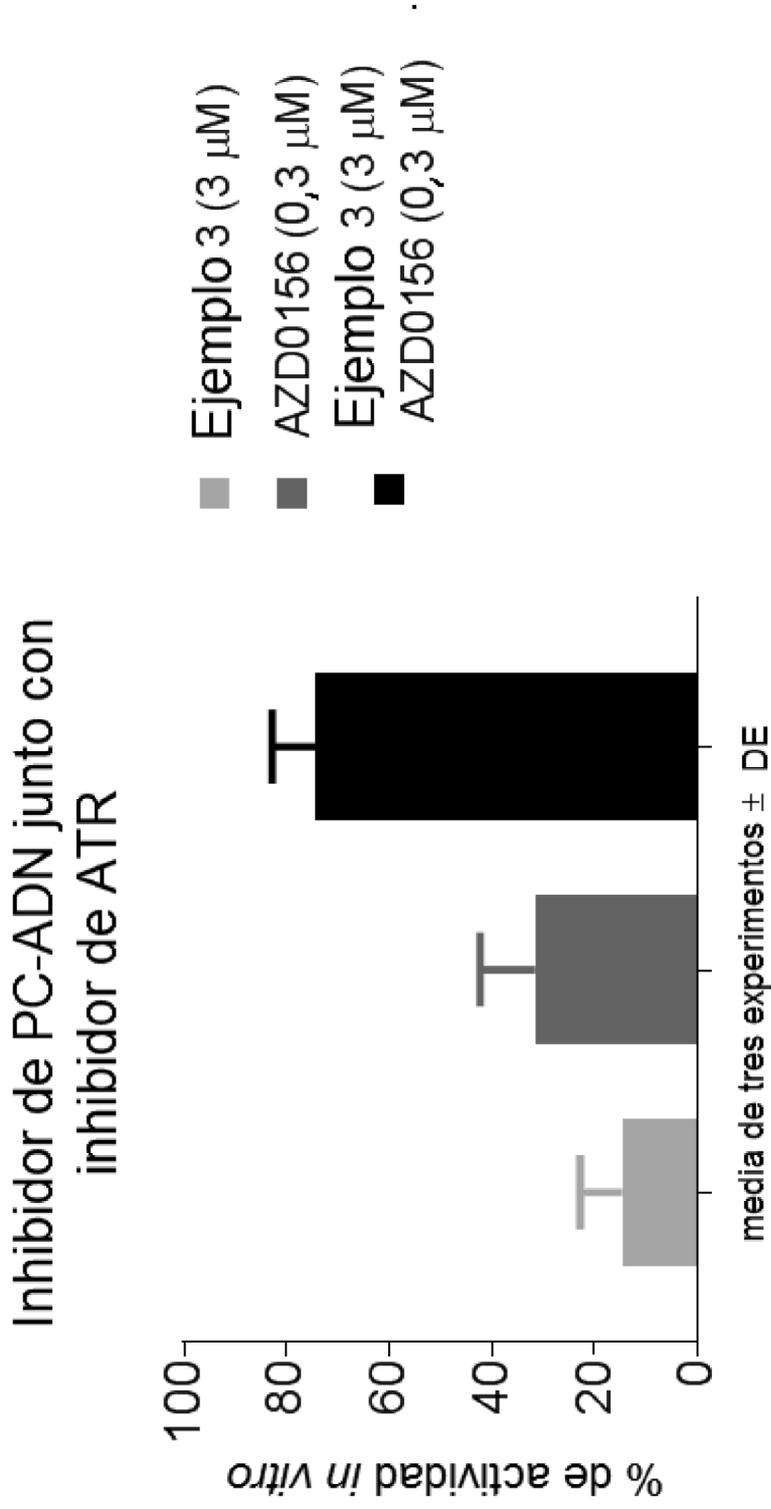


Figura 7: Actividad *in vitro* del Ejemplo 3 (Compuesto A) junto con AZD0156, un inhibidor de ATM