

INHIBIDORES DE CKD8/19

Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos inhibidores de CDK8/19, métodos para sus preparaciones, composiciones farmacéuticas que comprenden los presentes compuestos y métodos para usar dichos compuestos o dichas composiciones en los tratamientos de enfermedades y trastornos.

Antecedentes de la invención

La CDK8, junto con su isoforma estrechamente relacionada -en términos de estructura y función- CDK19, es una quinasa reguladora de la transcripción oncogénica (Xu, W. & Ji, J. Y. (2011) Dysregulation of CDK8 and Cyclin C in tumorigenesis, *J. Genet. Genomics* 38, 439-452; Galbraith, M. D. y colaboradores (2010); Firestein, R. & Hahn, W. C. (2009)). A diferencia de las quinasas CDK1, CDK2 y CDK4/6, la CDK8 no juega ningún rol en la regulación del ciclo celular y, por lo tanto, el bloqueo de la CDK8 no impide el crecimiento de células normales (Adler, A. S. y colaboradores (2012) CDK8 maintains tumor de-differentiation and embryonic stem cell pluripotency, *Cancer Res.* 72, 2129-2139; Kapoor, A. y colaboradores (2010) The histone variant macroH2A suppresses melanoma progression through regulation of CDK8, *Nature* 468, 1105-1109). Sin embargo, el silenciamiento de la CDK8 en células madre embrionarias impide el desarrollo embrionario (Adler, A. S. y colaboradores (2012)) debido al rol esencial que juega en la formación del fenotipo de células madre pluripotentes (Firestein, R. y colaboradores (2008)). El rol de la CDK8 en la carcinogénesis se debe a su exclusiva función como regulador de varios programas transcripcionales (Xu, W. & Ji, J. Y. (2011)). La sobreexpresión de CDK8 se ha observado en el 50% de los casos de cáncer de colon (Firestein, R. y colaboradores (2010)), melanomas (Kapoor, A. y colaboradores (2010)), cánceres de mama (Broude E. y colaboradores (2015)); y se la ha asociado a los pronósticos poco favorables (Gyorffy, B. y colaboradores (2010)).

Los efectos cancerígenos de la CDK8 son mediados por la regulación positiva de la vía de señalización Wnt/[beta] (Kapoor, A. y colaboradores (2010); Alarcon, C. y colaboradores (2009) Nuclear CDKs drive Smad transcriptional activation and turnover in

BMP and TGF-beta pathways, Cell 139, 757- 769); la transcripción inducida por el factor de crecimiento NF-kB (DiDonato, J. A. y colaboradores (2012) NF-kappaB and the link between inflammation and cancer, Immunol. Rev. 246, 379-400); y la activación de la vía de señalización TGF-beta (Acharyya, S. y colaboradores (2012) A CXCL1 paracrine network links cancer chemoresistance and metastasis, Cell 150, 165-178). Se sabe que los fármacos quimioterapéuticos contribuyen al daño del ADN, a la inducción de TNF α y a la activación del factor de transcripción NFkB (Fabian y colaboradores (2005) A small molecule-kinase interaction map for clinical kinase inhibitors, Nat. Biotechnol. 23, 329-336). El TNF α derivado de estroma actúa sobre las células tumorales, donde induce la producción mediada por NFkB de las citocinas CXCL1 y CXCL2 que promueven el crecimiento de las células tumorales. Las CXCL 1/2 atraen células mieloides al tumor, al enlazarse al receptor CXCR2 en la superficie de las células mieloides. Las células mieloides, a su vez, secretan proteínas S 100A8/9 asociadas con la inflamación crónica y el crecimiento tumoral (Huang y colaboradores (2012) MED12 Controls the response to multiple cancer drugs through regulation of TGF- β receptor signaling, Cell 151, 937-950). También se demostró que la CDK8 puede mantener el fenotipo pluripotente de las células madre embrionarias y puede estar asociada con el fenotipo de células madre del cáncer (Firestein, R. y colaboradores (2008) CDK8 is a colorectal cancer oncogene that regulates beta-catenin activity, Nature 455, 547-551).

La búsqueda de nuevos compuestos que inhiban las proteínas quinasas dependientes de ciclina CDK8/19 es de interés en la actualidad.

Descripción de la invención

A continuación se consignan los términos utilizados en la Memoria de la presente invención.

«Alquilo» significa un grupo hidrocarburo alifático de cadena lineal o cadena ramificada que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono. Cadena «ramificada» significa cadena de alquilo que tiene uno o más sustituyentes «alquilo inferior». Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, sin limitación: metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo, ter-butilo, n-pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, neo-pentilo, n-hexilo. El alquilo puede tener sustituyentes que tengan

una estructura idéntica o diferente.

«Alquenilo» significa un grupo hidrocarburo alifático de cadena lineal o cadena ramificada que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono, que contiene uno o más enlaces dobles carbono-carbono. El alquenilo puede tener sustituyentes que tengan una estructura idéntica o diferente. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen, sin limitación: vinilo, alilo, 1-metiletenilo, prop-1-enilo, but-1-enilo, but-2-enilo, but-3-enilo, 1-metilprop-1-enilo, 1-metilprop-2-enilo, 2-metilprop-1-enilo, 2-metilprop-2-enilo.

«Alquinilo» significa un grupo hidrocarburo de cadena lineal o cadena ramificada que tiene de 2 a 12 átomos de carbono, más preferiblemente de 2 a 6 átomos de carbono, que contiene uno o más enlaces triples carbono-carbono. El alquinilo puede tener sustituyentes que tengan una estructura idéntica o diferente. Los ejemplos de grupos alquinilo incluyen, sin limitación: etenilo, propargilo, 1-metilprop-2-inilo, 2-metilprop-1-enilo, but-1-inilo, but-2-inilo, but-3-inilo.

«Cicloalquilo» significa un anillo carbocíclico saturado que contiene entre 3 y 10 átomos de carbono del anillo. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, sin limitación: grupos monocíclicos, tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclonoilo o ciclodecilo; y grupos bicíclicos, tales como bicicloheptilo o biciclooctilo. El cicloalquilo puede tener sustituyentes que tengan una estructura idéntica o diferente.

«Cicloalquenilo» significa un sistema de anillos carbocíclicos no aromáticos que comprende de 3 a 10 átomos de carbono en un ciclo, el anillo contiene uno o más enlaces dobles carbono-carbono. El cicloalquenilo puede tener sustituyentes que tengan una estructura idéntica o diferente. Los ejemplos de grupos cicloalquenilo incluyen, sin limitación: grupos monocíclicos, tales como ciclopropentilo, ciclobutenilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo, ciclonoilenilo o ciclodecenilo.

«Arilo» significa un sistema aromático monocíclico o policíclico que tiene de 6 a 14 átomos de carbono, más preferiblemente de 6 a 10 átomos de carbono. El arilo puede tener sustituyentes del sistema cíclico que tengan una estructura idéntica o diferente. El arilo puede estar anillado a un cicloalquilo, heterociclo o heteroarilo. Los ejemplos de grupos

arilo incluyen, sin limitación: fenilo, naftilo, antranilo y similares.

«Alquiloxi» o «alcoxi» significa un grupo alquilo-O-, donde el alquilo es tal como se define en esta sección. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen, sin limitación: metoxi, etoxi, n-propoxi, iso-propoxi y n-butoxi.

«Grupo amino» significa un grupo R'R"N-.

Los ejemplos de R' y R" incluyen, sin limitación, sustituyentes seleccionados del grupo que comprende hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo, que se definen en el presente documento; o R' y R" -junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos- forman heterociclilo de 4-7 miembros o heteroarilo de 5-10 miembros.

«Alquilsulfonilo» (-S(O)₂-alquilo C₁-C₆) significa «alquilo», tal como se definió previamente, unido a un fragmento de molécula apropiado a través de un grupo sulfonilo -SO₂-. Los ejemplos de alquilsulfonilos incluyen, sin limitación: metilsulfonilo, etilsulfonilo, etc.

«Alquilo inferior» significa un alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que tiene de 1 a 4 átomos de carbono.

«Halo» o «halógeno» (Hal) significa flúor, cloro, bromo y yodo.

«Heterociclo», «heterociclilo», «anillo heterocíclico» significa un sistema no aromático monocíclico o policíclico que tiene de 3 a 11 átomos de carbono, de los cuales uno o más átomos de carbono están sustituidos por uno o más heteroátomos, como nitrógeno, oxígeno, azufre. El heterociclo se puede condensar con arilo o heteroarilo. El heterociclo puede tener uno o más sustituyentes que tengan una estructura igual o diferente. Los átomos de nitrógeno y azufre del heterociclo podrían oxidarse a N-óxido, S-óxido o S-dióxido. El heterociclo puede ser completamente saturado, parcialmente saturado e insaturado. Los ejemplos de heterociclo incluyen, entre otros, azetidina, pirrolidina, piperidina, 2,8-diazaspiro [4.5] decano, piperazina, morfolina y otros.

«Heteroarilo» significa un sistema aromático monocíclico o policíclico que tiene de 5 a 11 átomos de carbono, preferiblemente de 5 a 10, de los cuales uno o más átomos de carbono están sustituidos por uno o más heteroátomos, como nitrógeno, azufre u oxígeno. Los átomos de nitrógeno del heterociclo pueden oxidarse a N-óxido. El heteroarilo puede

tener uno o más sustituyentes que tengan una estructura idéntica o diferente. El heteroarilo puede estar anillado a un cicloalquilo, heterociclo o arilo. Los ejemplos de heteroarilo incluyen, sin limitación, pirrolilo, furanilo, tienilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, tiazolilo, pirazolilo, furazanilo, triazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, quinoxalinilo, ftalazinilo, imidazo[1,2-a]piridinilo, imidazo[2,1-b]tiazolilo, benzofurazanilo, indolilo, azaindolilo, bencimidazolilo, benzotiazenilo, quinolinilo, imidazolilo, pirazolilo, tienopiridilo, quinazolinilo, naftiridinilo, tienopirimidinilo, pirrolopiridinilo, imidazopiridilo, isoquinolinilo, benzoazolidilo, 1,2,4-triazinilo, tienopirrolilo, furopirrolilo y demás similares.

«Parcialmente saturado» significa un sistema de anillos que incluye -al menos- un enlace doble o triple. El término «parcialmente saturado» se refiere a los anillos que tienen muchos sitios para la saturación y no incluye los sistemas arilo y heteroarilo tal como se definieron anteriormente.

El término «oxo» utilizado en este documento se relaciona con el radical = O.

«Sustituyente» significa un radical químico unido a un esqueleto (fragmento).

«Solvato» es un agregado molecular que consiste en el compuesto de la presente invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, con una o más moléculas de disolventes. Las moléculas de disolventes son moléculas de disolventes farmacéuticos comunes, acerca de los cuales se sabe que son seguros para los receptores, por ejemplo, agua, etanol, etilenglicol, etc. Otros disolventes -como metanol, éter metil-ter-butílico, acetato de etilo, acetato de metilo, (R)-propilenglicol o (S)-propilenglicol, 1,4-butanodiol y similares- se pueden usar para formar solvatos intermedios con el propósito de obtener los solvatos preferibles.

«Hidrato» significa un solvato con agua a modo disolvente.

Con preferencia, los solvatos o hidratos existen en forma cristalina.

Los términos «enlace», «enlace químico» o «enlace simple» se refieren a un enlace químico de dos átomos o dos fracciones (es decir, grupos, fragmentos) cuando los átomos unidos por el enlace se consideran parte de una subestructura más grande.

El término «grupo protector» se refiere a grupos que se usan para bloquear la reactividad de grupos funcionales, tales como un grupo amino, un grupo carboxilo o un grupo hidroxilo. Los ejemplos de grupos protectores incluyen, sin limitación, ter-butiloxicarbonilo (Boc),

benciloxycarbonilo (Cbz), 2-(trimetilsilil)etoxi) metilacetal (SEM), trialkilsililo, alquil(diaril)sililo o alquilo.

El término «excipiente» se usa en el presente documento para describir cualquier ingrediente distinto de los compuestos de la invención.

«Composición farmacéutica» significa una composición que comprende un compuesto de la invención y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El excipiente se puede seleccionar del grupo que consiste en agentes de carga, disolventes, diluyentes, vehículos, auxiliares, agentes distribuidores y sensores, agentes de administración, tales como conservantes, estabilizantes, rellenos, desintegrantes, humectantes, emulsionantes, agentes de suspensión, espesantes, endulzantes, agentes saborizantes, agentes aromatizantes, agentes antibacterianos, fungicidas, lubricantes y controladores de administración prolongada -en todos los casos farmacéuticamente aceptables y farmacológicamente compatibles-, cuyas elección y proporciones adecuadas dependen del tipo y la forma de administración y dosificación. Los ejemplos de agentes de suspensión adecuados son, sin limitación, alcohol isoestearílico etoxilado, polioxietileno, sorbitol y éter de sorbitol, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, como así también sus mezclas. La protección contra la acción de los microorganismos puede ser proporcionada por varios agentes antibacterianos y antifúngicos, tales como, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, ácido sórbico y compuestos similares. La composición también puede contener agentes isotónicos, tales como, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio y compuestos similares. La acción prolongada de la composición se puede conseguir mediante agentes que retrasan la absorción del ingrediente activo, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina. Los ejemplos de vehículos, disolventes, diluyentes y agentes de administración adecuados incluyen, sin limitación, agua, etanol, polialcoholes y sus mezclas, aceites naturales (tales como aceite de oliva) y ésteres orgánicos (tales como oleato de etilo) para inyecciones. Los ejemplos de agentes de carga son, sin limitación, lactosa, azúcar de leche, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de calcio y similares. Los ejemplos de desintegrantes y distribuidores son, sin limitación, almidón, ácido algínico y sus sales, silicatos y similares. Los ejemplos de lubricantes adecuados son, sin limitación, estearato de magnesio, laurilsulfato de sodio, talco y polietilenglicol de alto peso molecular. La composición

farmacéutica para la administración peroral, sublingual, transdérmica, intramuscular, intravenosa, subcutánea, local o rectal del principio activo -solo o en combinación con otro compuesto activo- puede administrarse a seres humanos y animales en una forma de administración estándar, mezclada con vehículos farmacéuticos tradicionales. Las formas de administración estándar adecuadas incluyen, sin limitación: formas perorales tales como comprimidos, cápsulas de gelatina, píldoras, polvos, gránulos, gomas de mascar y soluciones o suspensiones perorales; formas de administración sublingual y transbucal; aerosoles; implantes; formas de administración local, transdérmica, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intranasal o intraocular y rectal.

«Sal farmacéuticamente aceptable» significa sales -tanto orgánicas como inorgánicas- relativamente no tóxicas de ácidos y bases que se describen en esta invención. Las sales de los compuestos proporcionados en el presente documento pueden obtenerse a partir de bases y ácidos inorgánicos u orgánicos. Los ejemplos de sales preparadas de esta manera incluyen, sin limitación, clorhidratos, hidrobromuros, sulfatos, bisulfatos, fosfatos, nitratos, acetatos, oxalatos, valeriatos, oleatos, palmitatos, estearatos, lauratos, boratos, benzoatos, lactatos, p-toluenosulfonatos, citratos, maleatos, fumaratos, succinatos, tartratos, metanosulfonatos, malonatos, salicilatos, propionatos, etanosulfonatos, bencenosulfonatos, sulfamatos y similares; sales de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso y aluminio, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, sales de aminas sustituidas, incluidas las sales de aminas sustituidas presentes en la naturaleza; sales de aminas cíclicas, tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dietilaminoetanol, trimetamina, dicitclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, piperazina, piperidina, N-etilpiperidina (cuya descripción detallada se consigna en: Berge, S.M. y colaboradores, *Pharmaceutical Salts*, J. Pharm. Sci. 1977, 66: 1-19). Los aminoácidos pueden seleccionarse entre lisina, ornitina y arginina.

«Medicamento (medicina)» es un compuesto o una mezcla de compuestos como una composición farmacéutica en forma de tabletas, cápsulas, inyecciones, pomadas y otras formas listas destinadas a la restauración, mejora o modificación de funciones

fisiológicas en seres humanos y animales, como a sí también para el tratamiento y la profilaxis de enfermedades, para el diagnóstico, anestesia, anticoncepción, cosmetología y otros usos.

Los términos «tratar» y «tratamiento» se refieren a un método para aliviar o erradicar un trastorno biológico o -al menos- uno de los síntomas concomitantes de este. El término, «aliviar» una enfermedad, trastorno o afección significa atenuar la gravedad o frecuencia de ocurrencia de los síntomas de la enfermedad, trastorno, o afección. Además, las referencias en este documento a «tratamiento» incluyen referencias a tratamiento curativo, paliativo y profiláctico.

En un aspecto, el sujeto del tratamiento o paciente es un mamífero, preferiblemente un sujeto humano. Dicho sujeto puede ser macho o hembra, y de cualquier edad.

El término «trastorno» se refiere a cualquier afección que se beneficiaría con el tratamiento en el cual se emplee el compuesto de la presente invención. Esto significa enfermedades o trastornos crónicos y agudos, incluidas aquellas afecciones patológicas que predisponen al mamífero al trastorno en cuestión. Los ejemplos no limitativos de trastornos a tratar aquí incluyen enfermedades oncológicas, en particular cáncer de mama, cáncer de mama triple negativo (TNBC, por sus siglas en inglés), cáncer de ovario, cáncer de ovario metastásico, cáncer de estómago, cáncer de estómago metastásico, cáncer de endometrio, glándula salival, pulmón, riñón o colon; cáncer colorrectal, melanoma, melanoma metastásico, cáncer de tiroides, páncreas, próstata o vejiga; enfermedades hemato-oncológicas, leucosis, leucemia mieloide aguda y neoplasias malignas linfoides; trastornos neuronales, gliales, astrocíticos, hipotalámicos y otros de tipo glandular, macrófago, epitelial, estromal y blastocélico; trastornos inflamatorios, angiogénicos e inmunológicos.

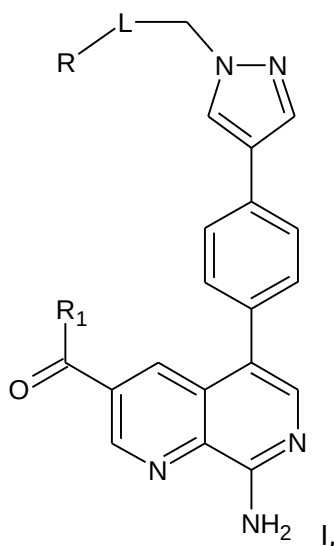
El término «cantidad terapéuticamente eficaz» se refiere a la cantidad del agente terapéutico que se administra, el cual aliviará en cierta medida uno o más de los síntomas del trastorno a tratar.

En la presente Memoria y en las Reivindicaciones que siguen, salvo que el contexto indique de otra manera, las palabras «comprender», «tener», «incluir», o variantes tales

como «comprende», «que comprende», «tiene», «que tiene», «incluye» o «que incluye», y todas sus variantes gramaticales implican la inclusión de un número entero o grupo de números enteros, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o grupo de números enteros.

Descripción detallada de la invención

En una forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable o esteroisómero de este,

donde L es $-\text{[CH}_2\text{]}_{0-3}-$, $-\text{[CH}_2\text{]}_{0-2}-\text{C(O)}-$, $-\text{C(O)}-\text{[CH}_2\text{]}_{0-2}-$;

R es $-\text{NR}^4\text{R}^5$, $-\text{OR}^6$;

R^1 es $-\text{NR}^2\text{R}^3$;

R^2 y R^3 son -de manera independiente- H; alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^7 ; alquenilo $\text{C}_2\text{-C}_6$, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^7 ; alquinilo $\text{C}_2\text{-C}_6$, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^7 ; cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_7$, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^8 ; cicloalquenilo $\text{C}_3\text{-C}_7$, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^8 ; heterociclilo de 5-6 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^9 ; arilo, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{10} ; heteroarilo con 1-4 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{11} , o

R^2 y R^3 , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico

de 4-7 miembros con 1-3 heteroátomos, seleccionados de N y O, donde el anillo heterocíclico, formado por R² y R³, puede estar insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R⁹;

R⁴ y R⁵ son -de manera independiente- H; alquilo C₁-C₆, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹²; alquenilo C₂-C₆, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹²; alquinilo C₂-C₆, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹²; cicloalquilo C₃-C₇, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹³; cicloalquenilo C₃-C₇, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹³; heterociclilo de 5 a 6 miembros con 1 a 2 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹⁴; arilo, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹⁵; heteroarilo con 1-4 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹⁶, o

R⁴ y R⁵, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico de 4-7 miembros con 1-3 heteroátomos, seleccionados de N y O, donde el anillo heterocíclico, formado por R⁴ y R⁵, puede estar insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹⁴;

R⁶ es H; alquilo C₁-C₆, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹⁷;

cada R⁷ y R¹² es -de manera independiente- H, Hal, CN, -OR¹⁸, -NR¹⁹R²⁰, -C(=O)R¹⁸, -C(=O)NR¹⁹R²⁰, -NR²¹C(=O)R¹⁸; -NR²¹C(=O)NR¹⁹R²⁰; -SO₂R²²; -SO₂NR²³R²⁴, cicloalquilo C₃-C₇, insustituido o sustituido con uno o varios radicales, seleccionados de alquilo C₁-C₆, halógeno;

cada R⁹ y R¹⁴ es -de manera independiente- H, Hal, CN, -OR¹⁸, -NR¹⁹R²⁰, -C(=O)R¹⁸, -C(=O)NR¹⁹R²⁰, -NR²¹C(=O)R¹⁸; -NR²¹C(=O)NR¹⁹R²⁰; -SO₂R²²; -SO₂NR²³R²⁴, grupo oxo, alquilo C₁-C₆, insustituido o sustituido con uno o varios halógenos; cicloalquilo C₃-C₇, insustituido o sustituido con uno o varios radicales, seleccionados de alquilo C₁-C₆, halógeno;

cada R⁸, R¹⁰, R¹¹, R¹³, R¹⁵ y R¹⁶ es -de manera independiente- H, Hal, CN, -OR¹⁸, -NR¹⁹R²⁰, -C(=O)R¹⁸, -C(=O)NR¹⁹R²⁰, -NR²¹C(=O)R¹⁸; -NR²¹C(=O)NR¹⁹R²⁰; -SO₂R²²; -SO₂NR²³R²⁴, alquilo C₁-C₆, insustituido o sustituido con uno o varios halógenos; cicloalquilo C₃-C₇, insustituido o sustituido con uno o varios radicales, seleccionados de alquilo C₁-C₆,

halógeno;

cada R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{20} y R^{21} es -de manera independiente- H, alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios halógenos; alquenilo C_2-C_6 , alquinilo C_2-C_6 , cicloalquilo C_3-C_7 , insustituido o sustituido con uno o varios radicales, seleccionados de alquilo C_1-C_6 , halógeno; o

R^{19} y R^{20} , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico de 4-7 miembros con 1-3 heteroátomos, seleccionados de N y O, donde el anillo heterocíclico, formado por R^{19} y R^{20} , puede estar insustituido o sustituido con 1 o 2 sustituyentes, seleccionados del grupo oxo; Hal; OH; NH₂; CN; alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios halógenos; alcoxi C_1-C_6 ; alquilamino C_1-C_6 .

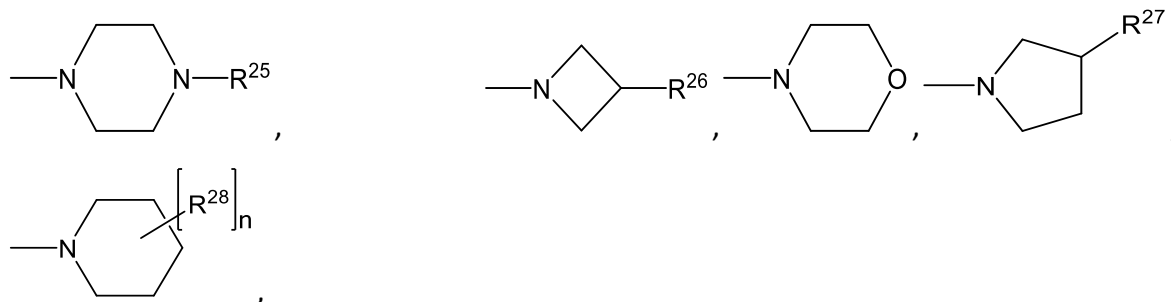
En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde L es -C(O)-, -CH₂-.

En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde R^1 es -NR²R³,

donde R^2 y R^3 son -de manera independiente- H; alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^7 ; alquenilo C_2-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^7 ; alquinilo C_2-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^7 ; cicloalquilo C_3-C_7 , insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^8 ; cicloalquenilo C_3-C_7 , insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^8 ; heterociclilo de 5 a 6 miembros con 1 a 2 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^9 ; arilo, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{10} ; heteroarilo con 1-4 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{11} ;

R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} tienen los significados que se les asignó previamente; o

donde R^1 es:



R²⁵ es H, alquilo C₁-C₆;

R²⁶, R²⁷, R²⁸ son H, CN, OH, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₄;

n es 0, 1, 2 o 3.

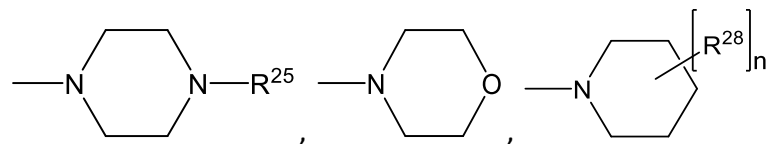
En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde R es -NR⁴R⁵, -OR⁶;

cada R⁴ y R⁵ es -de manera independiente- H; alquilo C₁-C₆, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹²; alquenilo C₂-C₆, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹²; alquinilo C₂-C₆, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹²; cicloalquilo C₃-C₇, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹³; cicloalquenilo C₃-C₇, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹³; heterociclilo de 5-6 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹⁴; arilo, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹⁵; heteroarilo con 1-4 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹⁶;

R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ tienen los significados que se les asignó previamente; o

donde R⁴ y R⁵, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico de 4-7 miembros con 1-3 heteroátomos, seleccionados de N y O, donde el anillo heterocíclico, formado por R⁴ y R⁵, puede estar insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹⁴;

donde el anillo heterocíclico de 4-7 miembros es



R²⁵ es H, alquilo C₁-C₆;

R²⁸ es H, CN, OH, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₄;

n es 0, 1, 2 o 3.

R⁶ es alquilo C₁-C₆, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R¹⁷;

R¹⁷ tiene el significado que se le asignó previamente.

En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde R¹ es -NR²R³;

donde R² y R³ son -de manera independiente- H; alquilo C₁-C₆, insustituido o sustituido con

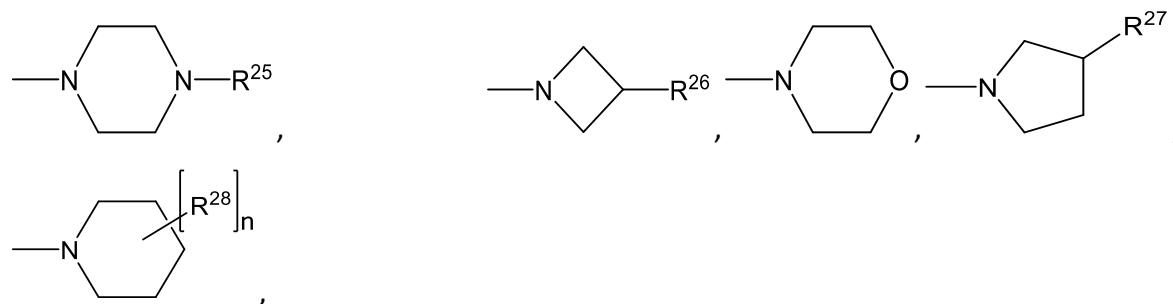
uno o varios sustituyentes R^7 ; cicloalquilo C_3-C_7 , insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^8 ; heterociclilo de 5-6 miembros con 1-2 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^9 ; arilo, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{10} ; heteroarilo con 1-4 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{11} ;

cada R^7 y R^9 es -de manera independiente- H, Hal, CN, $-OR^{18}$, $-NR^{19}R^{20}$, $-C(=O)R^{18}$, $-C(=O)NR^{19}R^{20}$;

cada R^8 , R^{10} y R^{11} es -de manera independiente- H, Hal, CN, $-OR^{18}$, $-NR^{19}R^{20}$, $-C(=O)R^{18}$, $-C(=O)NR^{19}R^{20}$, alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios halógenos;

cada R^{18} , R^{19} y R^{20} es -de manera independiente- H, alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios halógenos; cicloalquilo C_3-C_7 , insustituido o sustituido con uno o varios radicales, seleccionados de alquilo C_1-C_6 , halógeno; o

donde R^1 es:



R^{25} es H, alquilo C_1-C_6 ;

R^{26} , R^{27} , R^{28} son H, CN, OH, alcoxi C_1-C_4 ;

n es 0, 1, 2 o 3.

En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde R es $-NR^4R^5$, $-OR^6$;

cada R^4 y R^5 es -de manera independiente- H; alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{12} ; cicloalquilo C_3-C_7 , insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{13} ; heterociclilo de 5-6 miembros con 1 a 2 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{14} ; arilo, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{15} ; heteroarilo con 1-4 heteroátomos, seleccionados de N, O y S, insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{16} ;

cada R^{12} y R^{14} es -de manera independiente- H, Hal, CN, $-OR^{18}$, $-NR^{19}R^{20}$, $-C(=O)R^{18}$, -

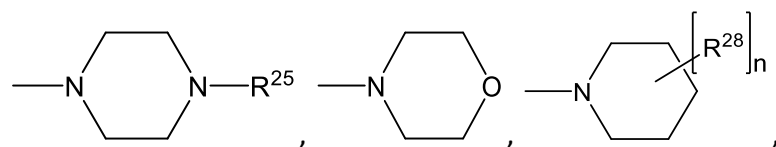
$C(=O)NR^{19}R^{20}$;

cada R^{13} , R^{15} y R^{16} es -de manera independiente- H, Hal, CN, $-OR^{18}$, $-NR^{19}R^{20}$, $-C(=O)R^{18}$, $-C(=O)NR^{19}R^{20}$, alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios halógenos;

cada R^{18} , R^{19} y R^{20} es -de manera independiente- H, alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios halógenos; cicloalquilo C_3-C_7 , insustituido o sustituido con uno o varios radicales, seleccionados de alquilo C_1-C_6 , halógeno; o

donde R^4 y R^5 , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico de 4-7 miembros con 1-3 heteroátomos, seleccionados de N y O, donde el anillo heterocíclico, formado por R^4 y R^5 , puede estar insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{14} ;

donde el anillo heterocíclico de 4-7 miembros es



R^{25} es H, alquilo C_1-C_6 ;

R^{28} es H, CN, OH, alcoxi C_1-C_4 ;

n es 0, 1, 2 o 3.

R^6 es alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios halógenos;

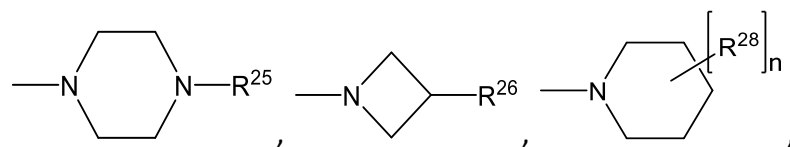
En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde R^1 es $-NR^2R^3$,

donde R^2 y R^3 son -de manera independiente- H; alquilo C^1-C^6 , insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^7 ;

R^7 es H, Hal, $-OR^{18}$, cicloalquilo C_3-C_7 , insustituido o sustituido con uno o varios radicales, seleccionados de alquilo C_1-C_6 , halógeno;

R^{18} es H, alquilo C_1-C_6 ;

donde R^1 es:



R^{25} es H, alquilo C_1-C_6 ;

R^{26} y R^{28} son H, OH, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_4 ;

n es 0, 1.

En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde R es $-NR^4R^5$, $-OR^6$;

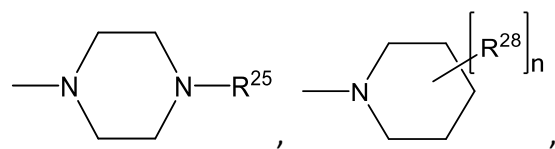
cada R^4 y R^5 es -de manera independiente- H; alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios sustituyentes R^{12} ; o

R^6 es alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios halógenos;

R^7 es H, Hal, $-OR^{18}$, cicloalquilo C_3-C_7 , insustituido o sustituido con uno o varios radicales, seleccionados de alquilo C_1-C_6 , halógeno;

cada R^{18} es -de manera independiente- H, alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con uno o varios halógenos;

donde R es:

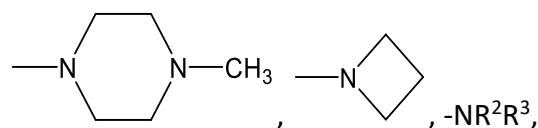


R^{25} es H, alquilo C_1-C_6 ;

R^{28} es H, OH, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_4 ;

n es 0, 1.

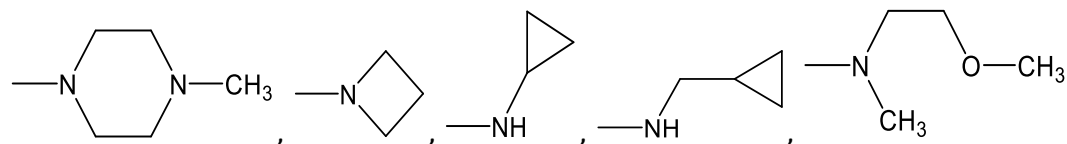
En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde R^1 es:



cada R^2 y R^3 es -de manera independiente- H; alquilo C_1-C_6 , insustituido o sustituido con Hal, $-OR^{18}$, cicloalquilo C_3-C_7 ; cicloalquilo C_3-C_7 ;

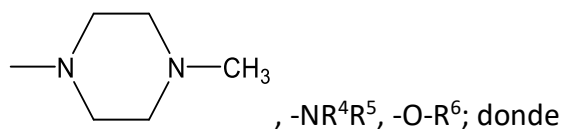
R^{18} es H, alquilo C_1-C_6 .

En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde R es:



En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la

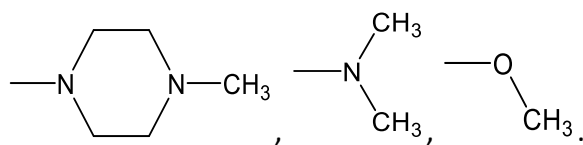
fórmula I, donde R es:



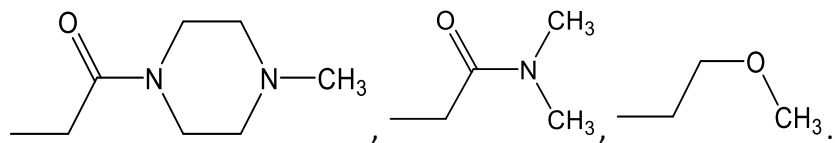
cada R⁴ y R⁵ es -de manera independiente- H; alquilo C₁-C₆;

R⁶ es alquilo C₁-C₆.

En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde R es:



En otra forma de realización, la presente invención se refiere al compuesto de la fórmula I, donde -L-R es:



Los compuestos, descritos en la presente invención, pueden formarse o usarse como sales farmacéuticamente aceptables. El tipo de sales farmacéuticamente aceptables, incluye, sin limitación: sales ácidas, formadas por reacción de la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico farmacéuticamente aceptable, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido metafosfórico, y similares; o con un ácido orgánico, tal como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido trifluoroacético, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-metilbicyclo-[2.2.2]oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 4,4'-metilenobis-3-hidroxi-2-eno-1-carboxílico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido ter-butilacético, ácido laurilsulfúrico, ácido

glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico y similares.

Los contraiones correspondientes de las sales farmacéuticamente aceptables pueden analizarse e identificarse utilizando diversos métodos que incluyen, entre otros, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía iónica, electroforesis capilar, plasma acoplado inductivamente, espectroscopia de absorción atómica, espectrometría de masas o cualquier combinación de ellos.

Las sales se recuperan utilizando -al menos- uno de los siguientes métodos: filtración, precipitación con un no-disolvente seguido de filtración, evaporación del disolvente o, en el caso de soluciones acuosas, liofilización. Debe entenderse que la referencia a una sal farmacéuticamente aceptable incluye las formas de adición de disolventes o formas cristalinas de estas, particularmente solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de un disolvente y pueden formarse durante el proceso de cristalización con disolventes farmacéuticamente aceptables, tales como agua, etanol y similares. Los hidratos se forman cuando el disolvente es agua, o los alcoholatos se forman cuando el disolvente es alcohol. Los solvatos de los compuestos que se describen en el presente documento pueden prepararse o formarse convenientemente durante los procesos aquí detallados. Además, los compuestos proporcionados en el presente documento pueden existir en formas no solvatadas y solvatadas. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las formas no solvatadas para los fines de los compuestos y métodos proporcionados en el presente documento.

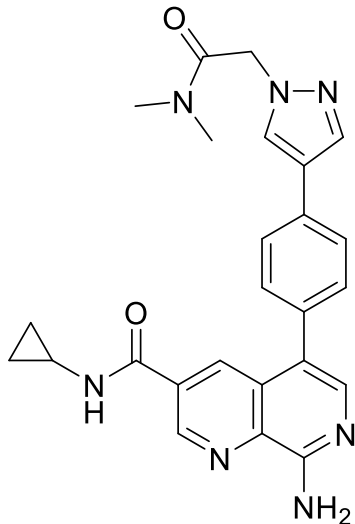
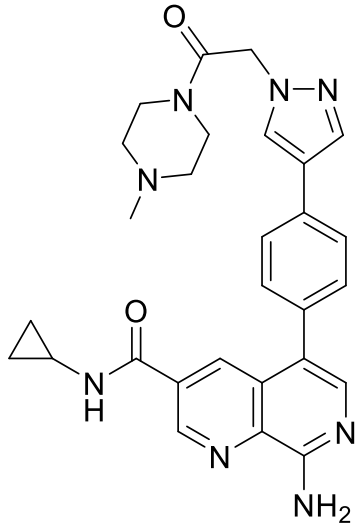
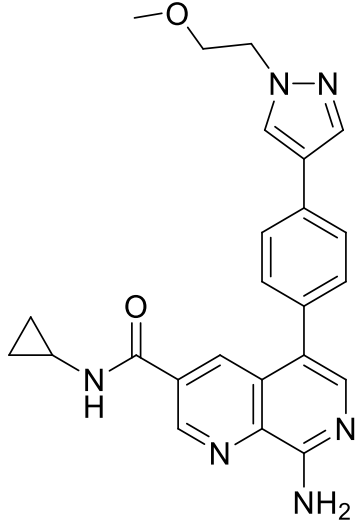
Los compuestos que se describen en el presente documento pueden presentarse en diversas formas, incluso, sin limitación, formas amorfas, formas molidas y formas de nanopartículas. Además, los compuestos que se describen aquí incluyen formas cristalinas, también conocidas como polimorfos. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de empaquetamiento de cristales de la misma composición elemental de un compuesto. Los polimorfos suelen tener diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros infrarrojos, puntos de fusión, densidad, dureza, forma del cristal, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad y solubilidad. Varios factores, como el disolvente de recristalización,

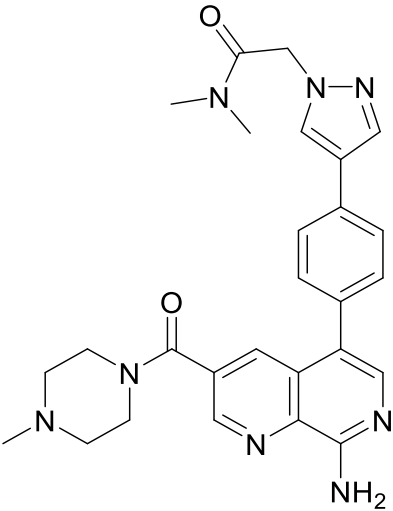
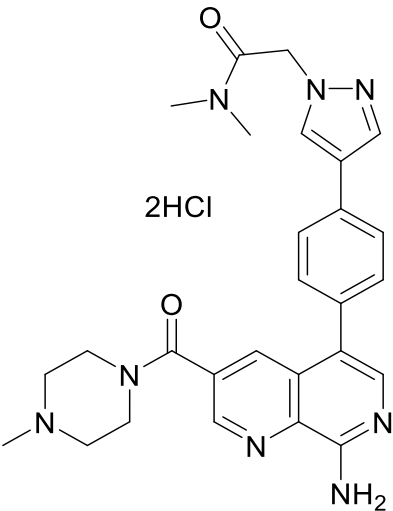
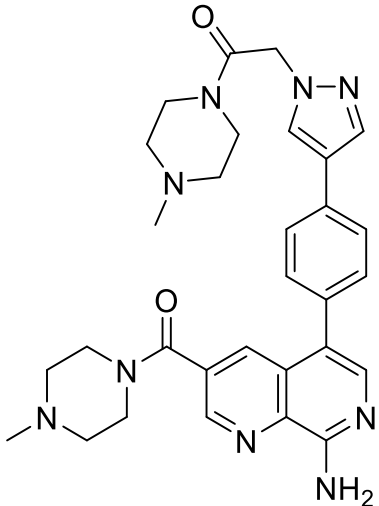
la velocidad de cristalización y la temperatura de almacenamiento pueden hacer que domine una forma de cristal.

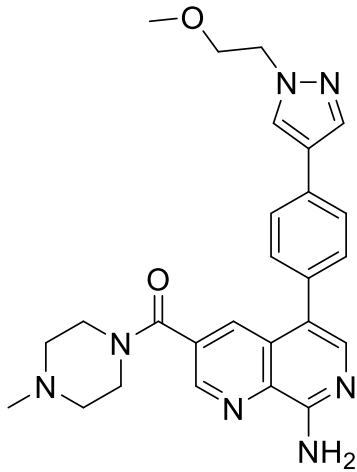
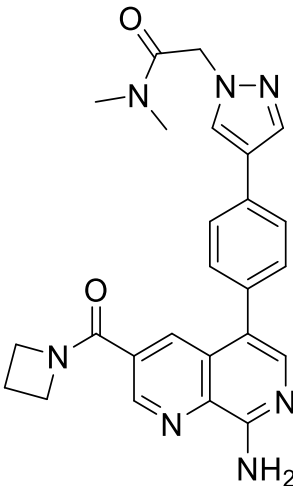
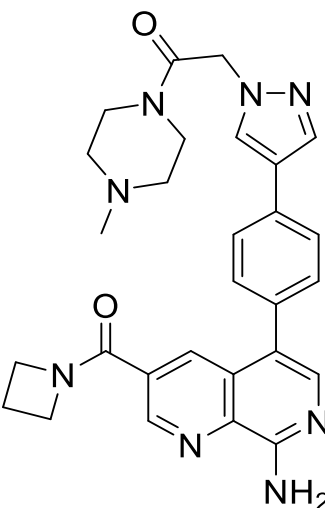
La selección y caracterización de las sales, polimorfos o solvatos farmacéuticamente aceptables se puede lograr utilizando una variedad de técnicas que incluyen, entre otras, análisis térmico, difracción de rayos X, espectroscopia, absorción de vapor y microscopía. Los métodos de análisis térmico se enfocan en el análisis de la degradación termoquímica o los procesos termo físicos que incluyen, entre otros, las transiciones polimórficas, y dichos métodos se utilizan para analizar las relaciones entre las formas polimórficas, para determinar la pérdida de peso, para encontrar la temperatura de transición vítrea, o para realizar estudios de compatibilidad de excipientes. Tales métodos incluyen, sin limitación, calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés), calorimetría diferencial de barrido modulada (MDCS, por sus siglas en inglés), análisis termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés), análisis termogravimétrico e infrarrojo (TG/IR, por sus siglas en inglés). Los métodos de difracción de rayos X incluyen, sin limitación, difractómetros de monocristales y para polvo, como así también fuentes sincrotrónicas. Las diversas técnicas espectroscópicas utilizadas incluyen de manera no taxativa las enumeradas a continuación: determinación del espectro Raman (dispersión Raman), FTIR, UVIS y NMR (resonancia magnética nuclear) (de líquidos y sólidos). Las diversas técnicas microscópicas incluyen de manera no taxativa las enumeradas a continuación: microscopía en luz polarizada, microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) con análisis de rayos X por energía dispersiva (EDX, por sus siglas en inglés), microscopía electrónica de barrido en modo de entorno natural de microscopía con EDX (en atmósfera de gas o vapor de agua), microscopía IR y microscopía Raman.

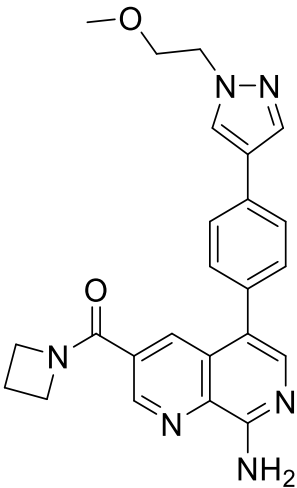
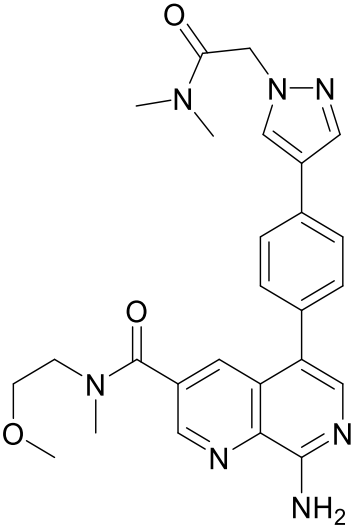
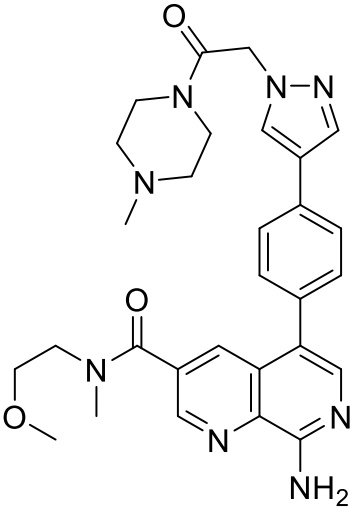
En otra forma de realización, la presente invención se refiere a los compuestos seleccionados del grupo que incluye

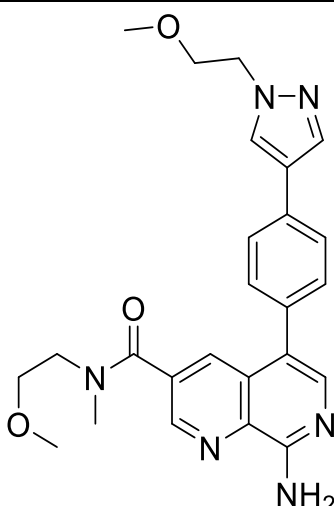
N.º	Fórmula	Denominación
3.43		8-amino-N-(ciclopropilmetil)-5-(4-(1-(2-(dimetilamino)-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)fenil)-1,7-naftiridina-3-carboxamida
3.44		8-amino-N-(ciclopropilmetil)-5-(4-(1-(2-(4-metilpiperazin-1-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)fenil)-1,7-naftiridina-3-carboxamida
3.45		8-amino-N-(ciclopropilmetil)-5-(4-(1-(2-metoxietil)-1H-pirazol-4-il)fenil)-1,7-naftiridina-3-carboxamida

N.º	Fórmula	Denominación
3.46		8-amino-N-ciclopropil-5-(4-(1-(2-(dimetilamino)-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)fenil)-1,7-naftiridina-3-carboxamida
3.47		8-amino-N-ciclopropil-5-(4-(1-(2-(4-metilpiperazin-1-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)fenil)-1,7-naftiridina-3-carboxamida
3.48		8-amino-N-ciclopropil-5-(4-(1-(2-(2-metoxietil)-1H-pirazol-4-il)fenil)-1,7-naftiridina-3-carboxamida

N.º	Fórmula	Denominación
3.49		2-(4-(4-(8-amino-3-(4-metilpiperazina-1-carbonil)-1,7-naftiridina-5-il)fenil)-1H-pirazol-1-il)-N,N-dimetilacetamida
3.49×2HCl		diclorhidrato de 2-(4-(4-(8-amino-3-(4-metilpiperazina-1-carbonil)-1,7-naftiridina-5-il)fenil)-1H-pirazol-1-il)-N,N-dimetilacetamida
3.50		2-(4-(4-(8-amino-3-(4-metilpiperazina-1-carbonil)-1,7-naftiridina-5-il)fenil)-1H-pirazol-1-il)-1-(4-metilpiperazina-1-il)etan-1-ona

N.º	Fórmula	Denominación
3.51		(8-amino-5-(4-(1-(2-metoxietil)-1H-pirazol-4-il)fenil)-1,7-naftiridin-3-il)(4-metilpiperazina-1-il)metanona
3.52		2-(4-(4-(8-amino-3-(azetidina-1-carbonil)-1,7-naftiridina-5-il) fenil)-1H-pirazol-1-il)-N,N-dimetilacetamida
3.53		2-(4-(4-(8-amino-3-(azetidina-1-carbonil)-1,7-naftiridina-5-il)fenil) -1H-pirazol-1-il)-1-(4-metilpiperazina-1-il)etan-1-ona

N.º	Fórmula	Denominación
3.54		(8-amino-5-(4-(1-(2-metoxietil)-1H-pirazol-4-il)fenil)-1,7-naftiridin-3-il) (azetidin-1-il)metanona
3.55		8-amino-5-(4-(1-(2-(dimetilamino)-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il) fenil-N(2-metoxietil)-N-metil-1,7-naftiridina-3-carboxamida
3.56		8-amino-N(2-metoxietil)-N-metil-5-(4-(1-(2-(4-metilpiperazina-1-il)-2-oxoetil)-1H-pirazol-4-il)fenil)-1,7-naftiridina-3-carboxamida

N.º	Fórmula	Denominación
3.57		8-amino-N-(2-metoxietil)-5-(4-(1-(2-metoxietil)-1H-pirazol-4-il)fenil)-N-metil-1,7-naftiridina-3-carboxamida

La presente invención también se refiere a un método para inhibir la actividad biológica de las proteínas quinasas dependientes de ciclina CDK8/19 en un sujeto, que comprende poner en contacto las proteínas quinasas dependientes de ciclina CDK8/19 con el compuesto descrito en el presente documento.

En una forma de realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de -al menos- uno de los compuestos que se describen en este documento, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de estos, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En otra forma de realización, la composición farmacéutica de la presente invención está destinada a tratar o prevenir una enfermedad o trastorno mediado por la activación de las proteínas quinasas dependientes de ciclina CDK8/19. En otra forma de realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica para la prevención o el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la activación de las proteínas quinasas dependientes de ciclina CDK8/19, donde la enfermedad o el trastorno mediado por la activación de proteínas quinasas dependientes de ciclina CDK8/19 es de tipo oncológico o hemato-oncológico. En otra forma de realización, la composición farmacéutica de la presente invención está destinada a tratar o prevenir el cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de mama, cáncer de mama triple negativo (TNBC), cáncer de próstata, cáncer de ovario metastásico, cáncer de estómago metastásico,

leucosis, leucemia mieloide aguda, cáncer de páncreas.

La composición farmacéutica de la presente invención comprende, por ejemplo, de aproximadamente 10% a aproximadamente 100% de principios activos, preferiblemente de aproximadamente 20% a aproximadamente 60% de principios activos. Debe entenderse que cada unidad de dosificación puede no comprender una cantidad eficaz de uno o más principios activos, porque se puede llegar a la cantidad eficaz suficiente mediante la dosificación múltiple.

Una composición típica se prepara mezclando el compuesto que se describe en el presente documento con uno o varios excipientes. Los ejemplos de excipientes incluyen, sin limitación, diluyentes, vehículos y cargas. Los especialistas en la técnica conocen acabadamente los vehículos, cargas y diluyentes adecuados, que comprenden, entre otros, materiales tales como carbohidratos, ceras, polímeros hidrosolubles o hinchables, materiales hidrófilos o hidrófobos, gelatina, aceites, disolventes, agua, y similares. El vehículo, carga o diluyente particular utilizado dependerá de los medios y los propósitos para los cuales se aplica el compuesto de la presente invención. En general, los disolventes se seleccionan en función de aquellos disolventes que los especialistas en la técnica reconocen como seguros para ser administrados a un mamífero. En general, los disolventes seguros son disolventes acuosos no tóxicos, tal como agua y otros disolventes no tóxicos que son solubles o miscibles en agua. Los disolventes acuosos adecuados incluyen agua como componente principal, etanol, propilenglicol, polietilenglicoles (por ejemplo, PEG400, PEG300), etc., y mezclas de estos. Las composiciones también pueden incluir uno o más tampones, agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes de infusión, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, agentes opacantes, deslizantes, auxiliares de procesamiento, colorantes, endulzantes, agentes perfumantes, agentes saborizantes y otros aditivos conocidos para aportar una presentación elegante del fármaco (es decir, un compuesto de la invención o una composición farmacéutica de este) o facilitar la fabricación del producto farmacéutico (es decir, un medicamento).

Las composiciones farmacéuticas también incluyen solvatos e hidratos de los compuestos de la presente invención, o forma estabilizada del compuesto (por ejemplo,

complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente de complejación conocido).

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse para la administración por vía oral. La administración por vía oral puede implicar la ingestión del medicamento, de modo que el compuesto ingresa al tracto gastrointestinal; o bien la administración bucal, lingual o sublingual por medio de la cual el compuesto ingresa al torrente sanguíneo directamente desde la boca.

Las formulaciones adecuadas para administración oral incluyen sistemas sólidos, semisólidos y líquidos tales como comprimidos; gránulos; cápsulas blandas o duras que contienen multipartículas o nanopartículas; líquidos o polvos; pastillas (incluidas las llenas de líquido); masticables; geles; formas de dosificación de dispersión rápida; películas; óvulos; esprays y parches bucales/mucoadhesivos.

Las formulaciones líquidas incluyen suspensiones, soluciones, jarabes y elixires. Dichas formulaciones se pueden emplear como rellenos en cápsulas blandas o duras (elaboradas, por ejemplo, de gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa) y -típicamente- comprenden un vehículo, por ejemplo, agua, etanol, polietilenglicol, propilenglicol, metilcelulosa o un aceite adecuado, y uno o más agentes emulsionantes o agentes de suspensión. Las formulaciones líquidas también pueden prepararse mediante la reconstitución de un sólido, por ejemplo, a partir de un saché.

Las composiciones farmacéuticas de la invención podrían usarse para la administración parenteral. Como se usa en el presente documento, la «administración parenteral» de una composición farmacéutica incluye cualquier vía de administración caracterizada por la ruptura física de un tejido de un sujeto y la administración de la composición farmacéutica a través de la ruptura en el tejido, lo que -generalmente- resulta en la administración directa en el torrente sanguíneo, en el músculo o en un órgano interno. Así, la administración parenteral incluye, sin limitación, la administración de una composición farmacéutica mediante inyección de la composición, mediante la aplicación de la composición a través de una incisión quirúrgica, mediante la aplicación de la composición a través de una herida no quirúrgica que penetra en el tejido, y administraciones similares. En particular, se contempla que la administración parenteral incluya, sin limitación, inyección subcutánea, intraperitoneal, intramuscular, intraesternal,

intravenosa, intraarterial, intratecal, intraventricular, intrauretral, intracraneal, intrasínovial o infusiones; y técnicas de infusión dialítica renal. La administración intratumoral -por ejemplo, la inyección intratumoral- puede ser igualmente ventajosa. También se contempla la perfusión regional.

Típicamente, las formulaciones de una composición farmacéutica adecuadas para la administración parenteral comprenden el principio activo combinado con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como agua estéril o solución salina isotónica estéril. Dichas formulaciones pueden prepararse, envasarse o venderse en una forma adecuada para la administración en bolo o para la administración continua. Las formulaciones inyectables pueden prepararse, envasarse o venderse en una forma farmacéutica unitaria, como en ampollas, o en recipientes de dosis múltiples que contienen un conservante. Las formulaciones para administración parenteral incluyen, sin limitación, suspensiones, soluciones, emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, pastas y similares.

Las formulaciones pueden formularse para ser de liberación inmediata o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada.

En una forma de realización, la presente invención se refiere al método para tratar una enfermedad o un trastorno mediado por la activación de las proteínas quinasas dependientes de ciclina CDK8/19 que comprende el paso de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o la composición farmacéutica de la presente invención en un sujeto que lo necesita.

En otra forma de realización, la presente invención se refiere al método para tratar una enfermedad o un trastorno mediado por la activación de las proteínas quinasas dependientes de ciclina CDK8/19, que es oncológico o hemato-oncológico, que comprende el paso de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto descrito en el presente documento, o una composición farmacéutica de la presente invención a un sujeto que necesita tal tratamiento.

En otra forma de realización, la presente invención se refiere al método que se describió anteriormente en el que la enfermedad oncológica y hemato-oncológica se

selecciona del grupo que comprende cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de mama, cáncer de mama triple negativo (TNBC), cáncer de próstata, cáncer de ovario metastático, cáncer de estómago metastático, leucosis, leucemia mieloide aguda, cáncer pancreático.

Se entiende que los compuestos de la invención se pueden usar en métodos para tratar, como se describió anteriormente; en tratamiento, como se describió anteriormente; o en la fabricación de un medicamento para las aplicaciones terapéuticas.

Tal como se usa en el presente documento, los términos «coadministración», «coadministrado» y «en combinación con» en referencia a los compuestos con uno o más agentes terapéuticos distintos, significan, incluyen y aluden a lo siguiente:

- La administración simultánea de tal combinación del compuesto de la invención y agentes terapéuticos a un paciente que tiene necesidad de recibir tratamiento, cuando tales componentes se formulan juntos en una única forma farmacéutica que libera dichos componentes sustancialmente al mismo tiempo en dicho paciente.
- La administración sustancialmente simultánea de tal combinación del compuesto de la invención y los agentes terapéuticos a un paciente que necesita el tratamiento, cuando tales componentes se formulan separados uno del otro en formas farmacéuticas separadas que dicho paciente toma sustancialmente al mismo tiempo, después de lo cual dichos componentes se liberan sustancialmente al mismo tiempo en el paciente.
- La administración en secuencias de tal combinación del compuesto de la invención y los agentes terapéuticos a un paciente que tiene necesidad de recibir tratamiento, cuando tales componentes se formulan separados entre sí en formas farmacéuticas independientes que dicho paciente toma en momentos consecutivos con un intervalo de tiempo significativo entre cada administración, después de lo cual dichos componentes se liberan en tiempos sustancialmente diferentes en dicho paciente.
- La administración en secuencias de tal combinación del compuesto y los agentes terapéuticos a un paciente que tiene necesidad de recibir tratamiento, cuando tales componentes se formulan juntos en una única forma farmacéutica que libera dichos componentes de manera controlada, tras lo cual se liberan de manera concurrente, consecutiva o superpuesta al mismo tiempo o en momentos distintos en dicho paciente, donde cada parte puede administrarse por la misma vía o por vías diferentes.

Como bien saben los especialistas en la técnica, las dosis terapéuticamente eficaces pueden variar cuando los fármacos se usan en el tratamiento combinado. En la literatura se describen los métodos para determinar de manera experimental las dosis terapéuticamente eficaces de fármacos y otros agentes para uso en regímenes de tratamiento combinados. Por ejemplo, en la literatura se describe el uso de la dosificación metronómica, es decir, suministrar dosis más frecuentes y más bajas para minimizar los efectos secundarios adversos. El tratamiento combinado también incluye tratamientos periódicos que comienzan y terminan en varios momentos para ayudar con el manejo clínico del paciente. Por supuesto, para los tratamientos combinados que se describen en el presente documento, las dosis de los compuestos coadministrados variarán en función del tipo de cofármaco empleado, del fármaco específico empleado, de la afección o trastorno que se esté tratando, etc.

Además, los compuestos que se describen en el presente documento también pueden usarse en combinación con procedimientos que pueden proporcionar un beneficio adicional o sinérgico al sujeto. Solo a modo de ejemplo, se espera que los sujetos encuentren un beneficio terapéutico o profiláctico en los métodos que se describen en el presente documento, donde la composición farmacéutica de la presente invención y las combinaciones con otros agentes terapéuticos se combinan con pruebas genéticas para determinar si ese individuo es portador de un gen mutante que -según se sabe- está correlacionado con ciertas enfermedades o afecciones.

Los compuestos que son inhibidores de CDK8/19 se pueden usar en los métodos de tratamiento que se describieron anteriormente en forma de monoterapia, o en combinación con cirugía, radioterapia o farmacoterapia.

Dicha farmacoterapia puede comprender la administración de uno o más de los agentes anticancerígenos. Los ejemplos de agentes anticancerígenos incluyen, de manera no taxativa, cualquiera de los siguientes: agentes alquilantes, sulfonatos alquilados, nitrosoureas o triazenos; antimetabolitos; agentes hormonales o antagonistas de hormonas; compuestos de platino; antibióticos antitumorales; inhibidores de topoisomerasa.

Como ejemplos de antimetabolitos se pueden citar de manera no taxativa, los

análogos del ácido fólico (por ejemplo, metotrexato, trimetrexato, pemetrexed, pralatrexato, raltitrexed, levofolinato de calcio); análogos de pirimidina (por ejemplo, citarabina, tegafur, fluorouracilo, capecitabina, floxouridina, azacitidina, enocitabina, carmofur, gemcitabina, sapacitabina, elacitarabina, doxifluridina); análogos de la purina (por ejemplo, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina, fludarabina, cladribina, nelarabina, azatioprina, clofarabina); o asparaginasa.

Los ejemplos de agentes alquilantes incluyen, sin limitación, mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucil, melfalán, bendamustina, hexametilmelamina, tiotepa, busulfán, carmustina, lomustina, laromustina, semustina, estreptozocina, dacarbazina, ifosfamida, improsulfán, mitobronitol, mitolactol, nimustina, ranimustina, temozolomida, treosulfán, carboquona, apaziquona, fotemustina, altretamina, glufosfamida, pipobroman, trofosfamida, uramustina, evofosfamida, VAL-083.

Los ejemplos de hormonas y antagonistas incluyen, sin limitación, prednisona, prednisolona, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de megestrol, acetato de medroxiprogesterona, dietilstilbestrol, estradiol, tamoxifeno, propionato de testosterona, fluoximesterona, flutamida, leuprolide, abarelix, abiraterona, biculatamida, buserelina, calusterona, clorotrianiseno, degarelix, dexametasona, fluocortolona, fulvestrant, goserelina, histrelina, leuprorelina, mitotano, nafarelina, nandrolona, nilutamida, octreotida, raloxifeno, tirotropina alfa, toremifeno, triptorelina, dietilestilbestrol, acolbifeno, danazol, deslorelina, epitiostanol, orteronel, enzalutamida, aminoglutetimida, anastrozol, exemestano, fadrozol, letrozol, testolactona, formestano.

Los ejemplos de compuestos de platino incluyen, entre otros, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, eptaplatino, hidrato de miriplatino, lobaplatino, nedaplatino, picoplatino, satraplatino.

Los ejemplos de antibióticos antitumorales incluyen, entre otros, doxorubicina, daunorubicina, idarrubicina, carubicina, valrubicina, zorubicina, aclarrubicina, pirarrubicina, nemorubicina, amrubicina, epirubicina, bleomicina, dactinomicina, plicamicina, peplomicina, mitomicina C, zinostatina, estreptozocina.

Los ejemplos de inhibidores de topoisomerasa incluyen, entre otros, irinotecán, topotecán, belotecán, tenipósido, etopósido, voreloxina, amonafida.

Los ejemplos de agentes anticancerígenos incluyen, entre otros, cualquiera de los siguientes: fármacos dirigidos por microtúbulos, como taxanos (por ejemplo, paclitaxel, docetaxel, cabazitaxel, tezetaxel); alcaloides de la vinca (por ejemplo, vinorelbina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinflunina); inhibidores de la señalización de la proteína quinasa activada por mitógenos (por ejemplo, U0126, PD98059, PD184352, PD0325901, ARRY-142886, SB239063, SP600125, BAY 43-9006, wortmannina o LY294002); inhibidores de mTOR (por ejemplo, sirolimus, temsirolimus, everolimus, ridaforolimus); anticuerpos (por ejemplo, rituximab, trastuzumab, alemtuzumab, besilesomab, cetuximab, denosumab, ipilimumab, bevacizumab, pertuzumab, nivolumab, ofatumumab, panitumumab, tositumomab, catumaksomab, elotuzumab, epratuzumab, farletuzumab, mogamulizumab, necitumumab, nimotuzumab, obinutuzumab, ocaratuzumab, oregovomab, ramucirumab, rilotumumab, siltuximab, tocilizumab, zalutumumab, zanolimumab, matuzumab, dalotuzumab, onartuzumab, racotumomab, tabalumab, EDM-525797); inhibidores de la quinasa (fostamatinib, entospletinib, erlotinib, imatinib, lapatinib, nilotinib, pazopanib, vemurafenib, gefitinib, crizotinib, dasatinib, regorafenib, ruxolitinib, sorafenib, sunitinib, vandetanib, bosutinib, axitinib, afatinib, alisertib, dabrafenib, dacomitinib, dinaciclib, dovitinib, nintedanib, lenvatinib, linifanib, linsitinib, masitinib, motesanib, neratinib, orantinib, ponatinib, radotinib, tipifarnib, tivantinib, tivozanib, trametinib, apatinib, ibrutinib, acalabrutinib, cobimetinib, fedratinib, alaninato de brivanib, cediranib, cabozantinib, icotinib, cipatinib, rigosertib, pimasertib, buparlisib, idelalisib, midostaurina, perifosina, XL-647); fotosensibilizadores (por ejemplo, talaporfina, temoporfina, porfímero sódico); citocinas (por ejemplo, aldesleucina, interferón alfa, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, celmoleucina, tasonermina, interleucina-2 recombinante, oprelvecina, interferón beta-1a recombinante); vacunas (por ejemplo, picibanil, sipuleucel-T, vitespen, emepepimut-S, oncoVAX, rindopepimut, troVAX, MGN-1601, MGN-1703); bisantreno, decitabina, mitoxantrona, procarbazona, trabectedina, amsacrina, brostalicina, miltefosina, romidepsina, plitidepsina, eribulina, ixabepilona, fosbretabulin, denileucina diftitox, ibritumomab tiuxetan, prednimustina, trastuzumab, emtansina, estramustina, gemtuzumab ozogamicina, aflibercept, oportuzumab monatox, cintredequina besudotox, edotreotida, inotuzumab ozogamicina,

naptumomab estafenatox, vintafolida, brentuximab vedotin, bortezomib, ixazomib, carfilzomib, lenalidomida, talidomida , pomalidomida, ácido zoledrónico, ácido ibandronico, ácido pamidronico, alitretinoína, tretinoína, peretinoína, bexaroteno, tamibaroteno, imiquimod, lentinan, mifamurtida, romurtida, pegaspargasa, pentostatina, endostatina, sizofirano, vismodegib, vorinostat, entinostat, panobinostat, celecoxib, cilengitida, etanidazol, ganetespib, idronoksil, iniparib, lonidamina, nimorazol, procodazol, tasquinimod, telotristat, belinostat, timalfasina, tirapazamina, tosedostat, trabedersen, ubenimex, valspodar, gendicina, reolisina, retaspimicina, trebananib, virulizina.

En una forma de realización, la presente invención se relaciona con el uso del compuesto descrito en el presente documento, una sal farmacéuticamente aceptable de este, o una composición farmacéutica de la presente invención en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la activación de proteínas quinasas dependientes de ciclina CDK8/19 en un sujeto que lo necesita.

En una forma de realización, la presente invención se relaciona con el uso del compuesto descrito en el presente documento, una sal farmacéuticamente aceptable de este, o la composición farmacéutica de la presente invención en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado por la activación de proteínas quinasas dependientes de ciclina CDK8/19 que es tipo oncológico o hemato-oncológico, en un sujeto que lo necesita.

En otra forma de realización, la presente invención se refiere al uso del compuesto descrito anteriormente, una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o la composición farmacéutica de la presente invención en el tratamiento de una enfermedad oncológica o hemato-oncológica seleccionada del grupo que comprende cáncer colorrectal, melanoma, melanoma metastásico, cáncer de mama, cáncer de mama triple negativo (TNBC), cáncer de próstata, cáncer de ovario metastásico, cáncer de estómago metastásico, leucosis, leucemia mieloide aguda, cáncer de páncreas en un sujeto que necesita dicho tratamiento. En todas estas formas de realización, el sujeto puede ser humano.

Los compuestos de la invención se administran en una cantidad eficaz para el tratamiento de la afección en cuestión; es decir, en dosis y durante los períodos de tiempo necesarios para lograr el resultado que se pretende obtener. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar en función de factores tales como la afección

particular que se está tratando, la edad, el sexo y el peso del paciente, y si los compuestos se están administrando como un tratamiento independiente o en combinación con uno o más tratamientos complementarios.

Los regímenes de dosificación se pueden ajustar para proporcionar la respuesta que se busca. Por ejemplo, se puede administrar una única dosis, se pueden administrar varias dosis divididas con el correr del tiempo o la dosis puede reducirse o aumentarse proporcionalmente según se indique conforme a las exigencias de la situación terapéutica. Resulta especialmente ventajoso formular composiciones orales en una forma farmacéutica unitaria para alcanzar la facilidad de administración y la uniformidad de dosificación. Una forma farmacéutica unitaria, tal como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para los pacientes/sujetos a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada del compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico que se busca en asociación con el vehículo farmacéutico que se requiera.

Además, se entenderá que -para cualquier sujeto particular- los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse en el tiempo según la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los rangos de dosificación expuestos en este documento son a modo de ejemplo solamente y no están destinados a limitar el alcance o la puesta en práctica de las composiciones cuyas formas de realización se presentan. Además, el régimen de dosificación con las composiciones de esta invención puede estar basado en una variedad de factores, incluidos el tipo de enfermedad, la edad, el peso, el sexo, el estado de salud del paciente, la gravedad de la afección, la vía de administración y el compuesto particular que se emplea. Por lo tanto, el régimen de dosificación puede variar en gran medida, pero se puede determinar rutinariamente utilizando métodos estándar. Por ejemplo, las dosis pueden ajustarse en base a parámetros farmacocinéticos o farmacodinámicos, que pueden incluir efectos clínicos tales como efectos tóxicos o los valores de laboratorio. Por lo tanto, la presente invención abarca el aumento de las dosis intrapaciente según lo determinado por el especialista en la técnica. La determinación de las dosis y los regímenes apropiados son bien conocidos en la técnica relevante, y se entenderá que el especialista allí los

considera comprendidos una vez que se proporcionan las enseñanzas descriptas en este documento.

En general, la dosis diaria estándar para un ser humano adulto está en el rango de 0,02 mg a 5000 mg por día o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1500 mg por día.

Una vez que se ha producido una mejora en las condiciones del paciente, se administra una dosis de mantenimiento, si es necesario. Posteriormente, la dosis o la frecuencia de administración, o ambas, pueden reducirse, en función de los síntomas, a un nivel en el que se mantiene la mejora de la enfermedad o el trastorno. A los pacientes se les puede requerir que se sometan a un tratamiento periódico a largo plazo ante cualquier recaída de los síntomas.

Los rangos anteriores son meras sugerencias, ya que son numerosas las variables con respecto a un régimen de tratamiento individual, y no son infrecuentes los desvíos considerables de estos valores recomendados. Dichas dosis se pueden alterar en función de una serie de variables, no limitadas a la actividad del compuesto utilizado, el trastorno o afección a tratar, el método de administración, los requisitos individuales del sujeto, la gravedad del trastorno o afección que se trata y el criterio del médico.

Todas las referencias, incluidas las patentes o solicitudes de patentes citadas en esta memoria, se incorporan aquí por referencia. Aunque la invención precedente se describió con cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo para propósitos de claridad de comprensión, los especialistas en la técnica comprenderán fácilmente -a la luz de las enseñanzas de esta invención- que es posible introducir ciertos cambios y modificaciones sin apartarse del espíritu o alcance de las formas de realización que se explican.

Los ejemplos que siguen se consignan a fin de que la presente invención pueda comprenderse en mayor grado. Estos ejemplos tienen únicamente fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención.

Las abreviaturas en esta Memoria, incluidas las que se muestran en esquemas ilustrativos y los ejemplos que se describen a continuación, son bien conocidas para el especialista en la técnica. Algunas de las abreviaturas son las siguientes:

Dimetilsulfóxido - DMSO

(±)-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-dinaftaleno - BINAP

Clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida - EDC×HCl

Hidrato de 1-hidroxibenzotriazol - HOBt

N,N-dimetilformamida - DMF

Tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) - Pd(PPh₃)₄

Tetrahidrofurano - THF

Tetrametiletilendiamina - TMEDA

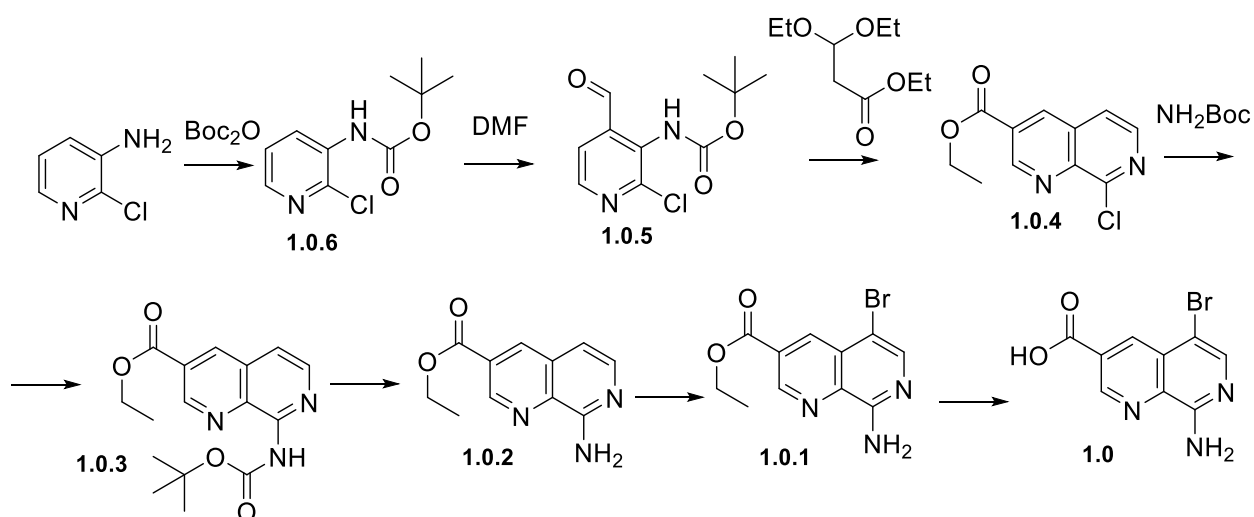
Bis(trimetilsilil)amida sódica - NaHMDS

[1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II), complejo con diclorometano - PddppfCl₂×DCM.

4-dimetilaminopiridina - DMAP

Ejemplos

Ejemplo 1. Método de elaboración del compuesto 1.0.



Paso 1. Una solución de 3-amino-2-cloropiridina (5 g; 39 mmol) en 50 ml de THF se agregó por goteo a 43 ml de una solución de NaHMDS [2M] (86 mmol) en THF a -10 °C en una corriente de nitrógeno. La mezcla de reacción se incubó a una temperatura de 0 °C durante 10 minutos, a continuación una solución de dicarbonato de di-ter-butilo (8,91 g; 41 mmol) en 20 ml de THF se agregó por goteo con un caudal tal que la temperatura no excedió de los 8 °C. Después de transcurridos 30 minutos, se agregaron 150 ml de solución acuosa de HCl [1M] y 50 ml de acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y se

concentró al vacío. El producto 1.0.6 se aisló en forma de un polvo amarillo mediante cromatografía en columna en gel de sílice con el empleo de hexano-diclorometano-acetato de etilo (8:2:0,5) como eluyente. Rendimiento: 8,10 r (91%).

Paso 2. Se agregaron 4,33 ml de TMEDA (29 mmol) en una corriente de nitrógeno a la solución 1.0.6 (3 g; 13 mmol) en 50 ml de THF; 11,5 ml de solución de butil-litio [2,5 M] (29 mmol) en hexano se enfriaron hasta -78 °C y se agregaron por goteo. Al finalizar el agregado, la mezcla de reacción se mantuvo a -70 °C durante 40 minutos y 20 minutos a -20 °C. Después del enfriamiento a -78 °C, se agregó por goteo DMF (2,03 ml; 26 mmol). Tras mantener la mezcla de reacción a una temperatura de -70 °C durante 1 hora, se calentó hasta -20 °C y se agregaron 50 ml de una solución acuosa saturada de NH_4Cl . 20 ml de agua y 50 ml de acetato de etilo se agregaron a la mezcla resultante. La capa orgánica se separó, se lavó con agua y se concentró al vacío. El producto 1.0.5 se aisló en forma de un aceite amarillo mediante cromatografía en columna en gel de sílice con el empleo de hexano-acetato de etilo (8:2) como eluyente. Rendimiento: 2,86 r (85%).

Paso 3. Se agregaron 3,3-dietoxipropionato de etilo (1,14 ml; 5,79 mol) y ácido trifluoroacético (3,54 ml; 46 mmol) a una solución del compuesto 1.0.5 (1 g; 3,86 mol) en 10 ml de cloroformo, y la solución se hizo hervir durante 30 minutos. Tras el enfriamiento de la mezcla de reacción a temperatura ambiente, los disolventes se destilaron a presión reducida. Después, se hizo hervir la mezcla en 5 ml de cloruro de tionilo durante 1 hora. Una solución saturada de NaHCO_3 se agregó a la mezcla de reacción a pH 9, la extracción se realizó con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se combinaron y el disolvente se evaporó a presión reducida. El producto 1.0.4 se aisló en forma un polvo de color amarillo claro mediante cromatografía en columna en gel de sílice con el empleo de hexano-acetato de etilo (8:2) como eluyente. Rendimiento: 502 mg (55%).

Paso 4. Se agregaron Cs_2CO_3 (5,97 g; 18,1 mol), BINAP (570 mg; 0,10 equivalentes), acetato de paladio (II) (103 mg; 0,05 equivalentes), 1,2 ml de solución de carbamato de ter-butilo [1M] (13,6 mol, 1,50 equivalentes) a una solución del compuesto 1.0.4 (2,16 g; 9,06 mol) en 30 ml de 1,4-dioxano; seguidamente, la solución se calentó hasta los 100 °C durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se filtró a través de celita. Los disolventes se destilaron al vacío, el residuo se disolvió en

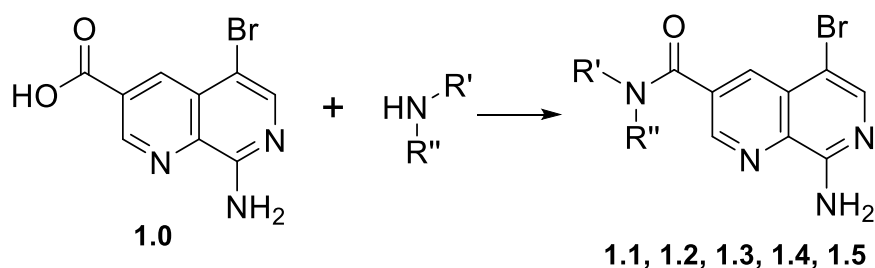
diclorometano, se lavó con agua y se concentró al vacío. El producto 1.0.3 se aisló mediante cromatografía en columna en gel de sílice con el empleo de diclorometano-acetato de etilo (96:4) como eluyente. Rendimiento: 2,73 r (95%).

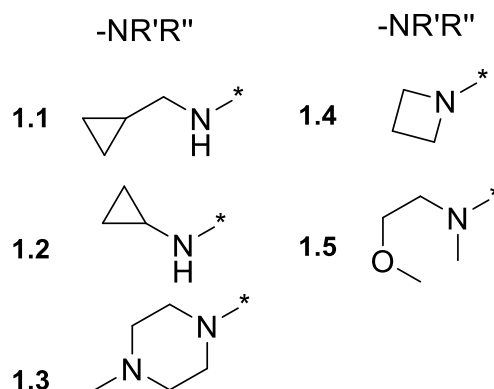
Paso 5. El compuesto 1.0.3 (2,80 g; 7,50 mol) se disolvió en diclorometano y se agregaron 18 ml de solución de HCl en 1,4-dioxano. Después de transcurridas 2 horas, los disolventes se destilaron a presión reducida, al residuo se agregó una solución saturada de NaHCO_3 . El precipitado se filtró y se lavó con una mezcla de hexano-acetato de etilo (1:1); se obtuvo el producto 1.0.2 en forma de un polvo blanco. Rendimiento: 1,60 r (98%).

Paso 6. N-bromosuccinimida (1,38 g; 7,73 mol) se agregó a una suspensión del compuesto 1.0.2 (1,60 g; 7,37 mol) en 15 ml de DMF; luego, se agitó la solución a temperatura ambiente durante 1 hora. Se agregaron 100 ml de agua y 5 ml de una solución saturada de NaHCO_3 a la solución resultante. El precipitado del producto 1.0.1 se filtró. Rendimiento: 1,95 r (89%).

Paso 7. Se agregó una solución de $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (156 mg; 3,68 mmol; 1,1 equivalentes) en 7 ml de agua a una solución del compuesto 1.0.1 (1 g; 3,34 mmol; 1 equivalente) en 7 ml de THF. Después de agitar durante una hora a temperatura ambiente, el THF se destiló a presión reducida, se ajustó el pH de la solución a 4 con solución de HCl [1M], el precipitado del producto 1.0 se filtró, se lavó con agua y se secó con calentamiento y a presión reducida. Rendimiento: 870 mg (97%).

Ejemplo 2. Método de elaboración de los compuestos 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5.

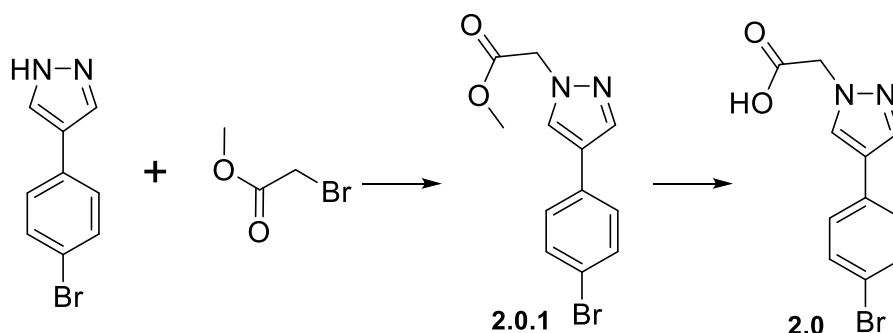




Se agregó EDC×HCl (212 mg; 1,11 mmol) en porciones con enfriamiento en un baño de hielo a una suspensión del compuesto 1.0 (200 mg; 0,739 mmol), ciclopropanometilamina (128 µl; 1,48 mmol), HOBt (170 mg; 1,11 mmol) y trietilamina (206 µl; 1,48 mmol) en 3 ml de DMF. Después de transcurridas 15 horas, el disolvente se destiló a presión reducida. El producto 1.1 se aisló mediante cromatografía en columna en gel de sílice con el empleo de hexano-diclorometano-metanol (5:4:1) como eluyente. Rendimiento: 178 mg (75%).

Los compuestos 1.2, 1.3, 1.4 y 1.5 se elaboraron de la misma manera a partir de los correspondientes compuestos iniciales.

Ejemplo 3. Método de elaboración del compuesto 2.0.

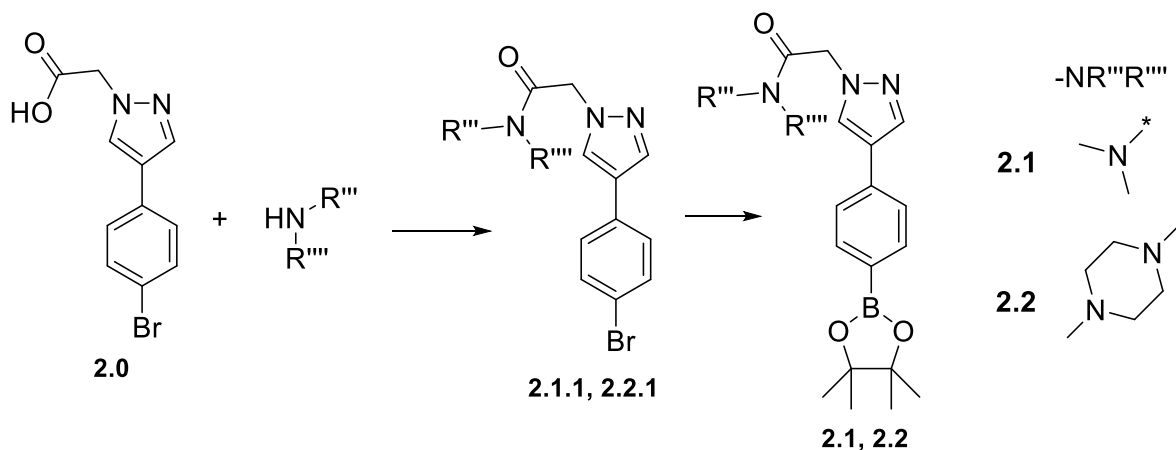


Paso 1. 4-(4-bromofenil)pirazol (500 mg; 2,23 mmol) y metil 2-bromoacetato (340 mg; 2,23 mmol) se mezclaron en acetona seca y se desgasificaron. A continuación, K₂CO₃ anhidro triturado se agregó a la mezcla de reacción; se hizo hervir la mezcla mientras se agitaba durante 8 horas. La masa de reacción se filtró, se la hizo atravesar por gel de sílice, se la concentró al vacío y se la recrystalizó a partir de la mezcla de hexano-diclorometano (1:1). Se obtuvo el producto 2.0.1 en forma de un polvo de color amarillo.

Rendimiento: 480 mg (73%).

Paso 2. Se agitaron el éter 2.0.1 (1,07 g; 3,63 mmol) y LiOH×H₂O (225 mg; 5,37 mmol) en una mezcla de THF-agua a temperatura ambiente durante 1 hora. Seguidamente, la mezcla de reacción se trató con éter de metil ter-butilo; la capa acuosa se acidificó a pH = 1,5; el precipitado blanco del producto 2.0 se filtró y se secó al aire. Rendimiento: 720 mg (80%).

Ejemplo 4. Método de elaboración de los compuestos 2.1 y 2.2.



Paso 1. Una mezcla de ácido 2.0 (720 mg; 2,56 mmol), clorhidrato de dimetilamina (250 mg; 3,07 mmol), EDC×HCl (589 mg; 3,07 mmol), DMAP (78 mg; 0,64 mmol) y trietilamina (357 µl; 2,56 mmol) en diclorometano en una atmósfera de nitrógeno se agitó durante 2 horas. Luego, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el producto 2.1.1 en forma de un polvo blanco se aisló mediante cromatografía en columna con el empleo de la mezcla de diclorometano-metanol (9:1) como eluyente. Rendimiento: 420 mg (53%).

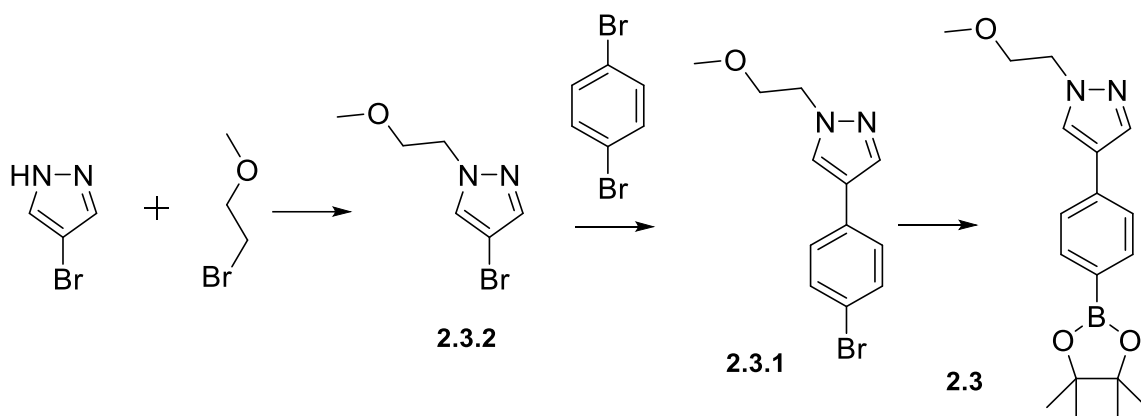
El compuesto 2.2.1 se elaboró de la misma manera a partir de los correspondientes compuestos iniciales.

Paso 2. Una mezcla del compuesto 2.1.1 (680 mg; 2,19 mmol), bis-pinacol-diborano (690 mg; 2,64 mmol) y acetato de potasio anhidro (650 mg; 6.59 mmol) en 10 ml de 1,4-dioxano se desgasificó con nitrógeno durante 15 minutos. A continuación, a la mezcla se agregó PddppfCl₂×DCM (90 mg; 0,01 mmol), se hizo hervir la mezcla mientras se agitaba en una atmósfera de nitrógeno durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtro en celita y se concentró al vacío. La mezcla se lavó con agua, la extracción se realizó con cloruro de

metileno. El producto 2.1 se aisló mediante cromatografía en columna con el empleo de una mezcla de acetato de etilo-metanol (9:1). Rendimiento: 350 mg (45%).

El compuesto 2.2 se elaboró de la misma manera a partir de los correspondientes compuestos iniciales.

Ejemplo 5. Método de elaboración del compuesto 2.3.



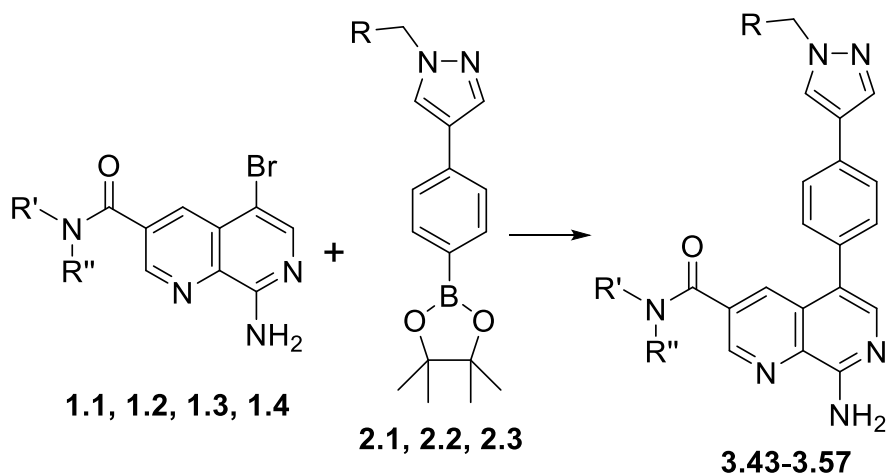
Paso 1. 3-Bromo-1H-pirazol (5 g; 33,7 mmol) se disolvió en 25 ml de etanol, y se agregaron 1-bromo-2-metoxietano (4,71 ml; 50,5 mmol) y KOH (2,86 g; 50,5 mmol). La mezcla de reacción se hizo hervir mientras se agitaba durante 6 horas. La mezcla de reacción -luego- se concentró al vacío, se trató con agua, y el producto 2.3.2 en forma de un aceite amarillo se aisló por extracción. El rendimiento fue de 6,23 g (90%).

Paso 2. Se hizo atravesar nitrógeno durante 15 minutos a través de una mezcla de bromopirazol 2.3.2 (6,19 g; 29,9 mmol), bis-pinacoldiborano (9,11 g; 35,8 mmol) y acetato de potasio anhidro (8,80 g; 89,7 mmol) en 50 ml de 1,4-dioxano. Luego, a la mezcla se agregó PddppfCl₂×DCM (1,26 mg; 1,49 mmol) y se hizo hervir la mezcla mientras se agitaba en una atmósfera de nitrógeno durante 5 horas. Seguidamente, se agregaron 1,4-dibromobenceno (14,1 g; 59,8 mmol), una solución de Cs₂CO₃ (19,5 g; 59,8 mmol) en 50 ml de agua, y la mezcla de reacción se desgasificó con nitrógeno durante 15 minutos. Pd(PPh₃)₄ (1.73 g; 15.9 mmol) se agregó a la masa de reacción; la masa se hizo hervir mientras se agitaba en una atmósfera de nitrógeno durante 4 horas. La mezcla de reacción se filtró en celita, se concentró a presión reducida, se trató con agua, se extrajo con acetato de etilo, y el bromofenilpirazol 2.3.1 se aisló mediante cromatografía en columna con el empleo de hexano-acetato de etilo (1:1) como eluyente. Rendimiento: 3,11 g (38%).

Paso 3. El compuesto 2.3 se elaboró de manera similar al compuesto 2.1 (ejemplo

4, paso 2).

Ejemplo 5. Método de elaboración de los compuestos 3.43, 3.44, 3.45, 3.46, 3.47, 3.48, 3.49, 3.50, 3.51, 3.52, 3.53, 3.54, 3.55, 3.56, 3.57.



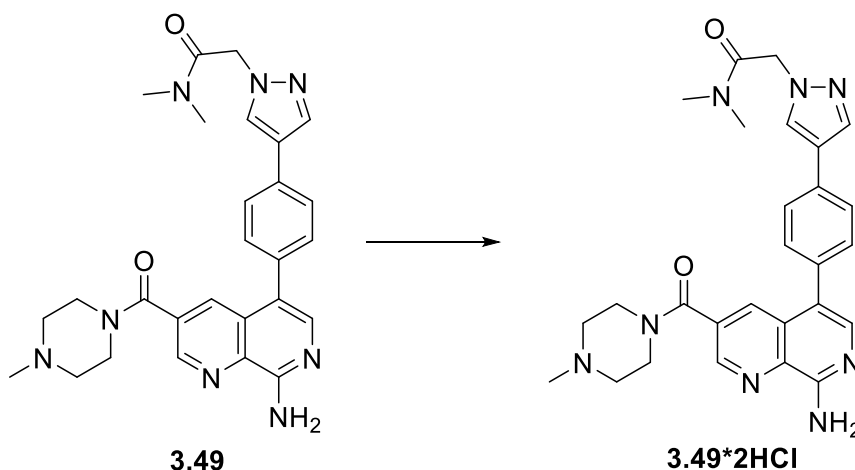
-NR'R'' R			
	3.43	3.44	3.45
	3.46	3.47	3.48
	3.49	3.50	3.51
	3.52	3.53	3.54
	3.55	3.56	3.57

Una solución del compuesto 1.1 (200 mg; 0,623 mmol), compuesto 2.1 (355 mg; 0,747 mmol) y NaHCO₃ (157 mg; 1,87 mmol) en una mezcla de 10 ml de 1,4-dioxano y 5 ml de agua se desgasificó con una corriente de nitrógeno y -seguidamente- se agregó Pd(PPh₃)₄ (72 mg; 0,1 equivalentes). La masa de reacción se calentó a una temperatura de

90 °C durante 5 horas, tras lo cual, los componentes volátiles se evaporaron a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua y se concentró al vacío. El producto se aisló mediante cromatografía en columna en gel de sílice con el empleo de diclorometano-acetato de etilo-metanol (4:6:1) como eluyente. El compuesto 3.43 se volvió a purificar mediante cromatografía preparativa. Rendimiento: 150 mg (51%).

Los compuestos 3.44, 3.45, 3.46, 3.47, 3.48, 3.49, 3.50, 3.51, 3.52, 3.53, 3.54, 3.55, 3.56 y 3.57 se elaboraron de manera similar.

Ejemplo 6. Método de elaboración del compuesto 3.49×2HCl.



Una solución de HCl en éter de dietilo [0,4 M] (188 µl; 0,075 mmol; 2,5 equivalentes) se agregó por goteo en una corriente de nitrógeno a una solución del compuesto 3.49 (15 mg; 0,030 mmol) en la mezcla de diclorometano-metanol (10:1). Los componentes volátiles se destilaron a presión reducida; el residuo sólido resultante se trituroó con éter de dietilo. El precipitado amarillo se filtró, se lavó dos veces con éter y se secó al vacío. Rendimiento: 16 mg (100%).

Ejemplo 7. Análisis de los compuestos elaborados.

La pureza y la estructura de los compuestos elaborados se confirmaron mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS) y espectroscopia de ¹H NMR (tabla 1).

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los candidatos.

Nº de compuesto	ESI-MS. [M+H] ⁺	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆), δ, MD
3.43	470.2	9.19 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.99 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 8.55 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.73 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.49 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.16 (s, 2H), 5.16 (s, 2H), 3.18 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.07 (s, 3H), 2.89 (s, 3H), 1.12–0.96 (m, 1H), 0.49–0.38 (m, 2H), 0.31–0.14 (m, 2H).
3.44	263.2 [M+2H] ²⁺ /2, 525.3	9.19 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 9.08–8.94 (m, 1H), 8.55 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.96 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.49 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.16 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 3.56–3.42 (m, 4H), 3.18 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 2.43–2.26 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 1.11–1.00 (m, 1H), 0.50–0.38 (m, 2H), 0.29–0.17 (m, 2H).
3.45	443.2	9.19 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.99 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.54 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.73 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.48 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.15 (s, 2H), 4.31 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.75 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.27 (s, 3H), 3.18 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 1.12–0.97 (m, 1H), 0.48–0.40 (m, 2H), 0.29–0.17 (m, 2H).
3.46	456.2	9.14 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.87 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 8.52 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.21–8.07 (m, 1H), 7.96 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.48 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.16 (s, 2H), 5.16 (s, 2H), 3.07 (s, 3H), 2.94–2.83 (m, 4H), 0.77–0.68 (m, 2H), 0.63–0.54 (m, 2H).
3.47	256.2 [M+2H] ²⁺ /2, 511.2	9.14 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.88 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 8.52 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.73 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.48 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.15 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 3.55–3.47 (m, 4H), 2.90–2.84 (m, 1H), 2.39–2.27 (m, 4H), 2.21 (s, 3H), 0.75–0.69 (m, 2H), 0.62–0.56 (m, 2H).
3.48	429.2	9.14 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.87 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 8.51 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.72 (d, J = 8.2

		Hz, 2H), 7.47 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.15 (s, 2H), 4.31 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.75 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.88–2.85 (m, 1H), 0.76–0.68 (m, 2H), 0.65–0.56 (m, 2H).
3.49	250.2 [M+2H] ²⁺ /2, 499.3	8.83 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.09 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.46 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.15 (s, 2H), 5.15 (s, 2H), 3.74–3.51 (m, 2H), 3.51–3.30 (m, 2H), 3.07 (s, 3H), 2.88 (s, 3H), 2.41–2.20 (m, 4H), 2.19 (s, 3H).
3.49×2HCl	250.2 [M+2H] ²⁺ /2, 499.3	11.42 (br s, 1H), 9.10 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.27 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.79 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.51 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 5.17 (s, 2H), 4.61–4.45 (m, 1H), 3.82–3.22 (m, 8H), 3.20–2.99 (m, 2H), 3.07 (s, 3H), 2.88 (s, 3H), 2.74 (s, 3H).
3.50	185.5 [M+3H] ³⁺ /3, 277.8 [M+2H] ²⁺ /2, 554.3	8.83 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.08 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.96 (s, 2H), 7.72 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.46 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.14 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 3.70–3.35 (m, 8H), 2.41–2.24 (m, 8H), 2.21 (s, 3H), 2.19 (s, 3H).
3.51	236.6 [M+2H] ²⁺ /2, 472.1	8.83 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.08 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.95 (s, 2H), 7.72 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.46 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.15 (s, 2H), 4.30 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.71–3.58 (m, 2H), 3.46–3.30 (m, 2H), 3.26 (s, 3H), 2.42–2.30 (m, 2H), 2.30–2.18 (m, 2H), 2.19 (s, 3H).
3.52	456.2	9.00 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.28 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.96 (s, 2H), 7.74 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.47 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.23 (s, 2H), 5.16 (s, 2H), 4.32 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 4.08 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.07 (s, 3H), 2.89 (s, 3H), 2.35–2.25 (m, 2H).
3.53	256.2 [M+2H] ²⁺ /2, 511.2	8.99 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.28 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.97 (s, 2H), 7.74 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.47 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.16 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 4.33 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 4.08 (t, J =

		7.6 Hz, 2H), 3.59–3.42 (m, 4H), 2.41–2.25 (m, 6H), 2.22 (s, 3H).
3.54	429.1	8.99 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.28 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.73 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.46 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.23 (s, 1H), 4.37–4.27 (m, 4H), 4.08 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.75 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.33–2.25 (m, 2H).
3.55	488.3	8.87–8.77 (m, 1H), 8.17–8.06 (m, 2H), 7.97–7.91 (m, 2H), 7.72 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.49–7.42 (m, 2H), 7.13 (br s, 2H), 5.15 (s, 2H), 3.68–3.54 (m, 1H), 3.38 (s, 3H), 3.29–3.26 (s, 1H), 3.07 (s, 3H), 3.07–3.03 (m, 2H), 2.99 (s, 3H), 2.88 (s, 3H).
3.56	272.3 [M+2H] ²⁺ /2, 543.3	8.85–8.76 (m, 1H), 8.20–8.08 (m, 2H), 7.95 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.72 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.48–7.41 (m, 2H), 7.14 (br s, 2H), 5.17 (s, 2H), 3.67–3.56 (m, 1H), 3.56–3.45 (m, 4H), 3.38 (s, 3H), 3.30–3.24 (m, 1H), 3.10–3.02 (m, 2H), 2.99 (s, 3H), 2.40–2.26 (m, 4H), 2.21 (s, 3H).
3.57	461.3	8.85–8.76 (m, 1H), 8.22 (s, 1H) 8.15–8.06 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.71 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 7.49–7.40 (m, 2H), 7.13 (br s, 2H), 4.30 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.67–3.53 (m, 1H), 3.38 (s, 3H), 3.29–3.26 (m, 1H), 3.26 (s, 3H), 3.09–3.03 (m, 2H), 2.99 (s, 3H).

Ejemplo 8. Determinación de la estabilidad de los compuestos en plasma sanguíneo humano.

Para evaluar la estabilidad del plasma sanguíneo de los compuestos, utilizamos plasma sanguíneo humano combinado tomado de diez donantes sanos. La solución candidata inicial (10 mM en DMSO) se diluyó con plasma sanguíneo combinado en una concentración de 10 µM (solución de prueba). La solución de prueba se incubó en un termostato de bloque seco durante 4 horas a 37 °C. Se empleó HPLC con sistema de

cromatografía líquida Agilent 1200 (Agilent, EE. UU.) para determinar las áreas de pico de los compuestos en las muestras de prueba; dichas áreas de pico correspondían al tiempo de prueba inicial (antes de la incubación) y al tiempo de prueba final (después de la incubación en termostato de bloque seco durante 4 horas a 37 °C); las proteínas se precipitaron preliminarmente con acetonitrilo. El análisis cromatográfico se realizó en un régimen de elución en gradiente con un caudal de 1 ml/min. Se determinó la cantidad de sustancia en % en una muestra después de la termostatización.

Se estimó la estabilidad de los compuestos. Los compuestos que se describen en el presente documento muestran -al menos- un 90% de estabilidad química, es decir, que son químicamente estables en el plasma sanguíneo humano (tabla 2).

Tabla 2. Resultados de la determinación de la estabilidad de los compuestos en plasma sanguíneo humano. Los resultados se presentan como valores promedio de estabilidad de los compuestos (%) obtenidos en varias pruebas.

Nº de compuesto	Estabilidad química en plasma de sangre humana
	4 horas; %
3.43	100,0
3.44	100,0
3.45	91,2
3.46	96,5
3.47	96,5
3.48	98,4
3.49	100,0
3.51	100,0
3.52	100,0
3.53	100,0
3.54	94,6

Ejemplo 9. Determinación de la estabilidad enzimática.

La medición de la estabilidad enzimática de los presentes compuestos permitió estimar su estabilidad frente a la acción de las enzimas de biotransformación en fase I.

La velocidad de descomposición enzimática de un compuesto se detectó incubando la mezcla de reacción en un calentador de bloque seco a 37 °C; la mezcla de reacción contenía 0,5 mg/ml de microsomas hepáticos humanos agrupados (XenoTech, EE. UU., n.º de cat. H6010), 10 µM de un compuesto, 2 mM de dinucleótido de β-nicotinamida y adenina (Carbosynth, Reino Unido, n.º de cat. NN10871) y 4 mM de cloruro de magnesio en 0,1 M de tampón de fosfato de sodio (a pH = 7,4). La reacción se templó con acetonitrilo (100 µl de acetonitrilo/100 µL de la mezcla de reacción). Después del templado, las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 minutos. El fluido sobrenadante se sometió a prueba mediante técnica cromatográfica utilizando Agilent 1200 (Agilent, EE. UU.). El análisis cromatográfico se realizó en un régimen de elución en gradiente con un caudal de 1 ml/min. Se trazó un gráfico del logaritmo del área de pico de la sustancia como una función del tiempo. El factor dependiente de la línea correspondió a la constante de tasa de eliminación K en base a la cual se calcularon la semivida t_{1/2} del fármaco y la velocidad de degradación CL_{int}:

Constante de eliminación (k) = (-gradiente)

$$\text{Semivida (t}_{1/2}\text{) (min)} = \frac{0,693}{k}$$

$$V(\mu\text{L/mg}) = \frac{\text{volumen de incubación } (\mu\text{L})}{\text{proteína en la incubación (mg)}}$$

$$\text{Aclaramiento intrínseco (CL}_{\text{int}}\text{) } (\mu\text{L/min/mg de proteína}) = \frac{V \times 0,693}{t_{1/2}}$$

En base a los datos obtenidos, se determinó la estabilidad enzimática de los candidatos en microsomas hepáticos humanos. Los compuestos de acuerdo con la presente invención mostraron una estabilidad suficiente frente a la acción de las enzimas de biotransformación en fase I y una velocidad de degradación enzimática CL_{int} menor que 47 µL/min/mg. Los resultados se presentan en la tabla 3.

La medición de la estabilidad enzimática de los presentes compuestos permitió estimar su estabilidad frente a la acción de las enzimas de biotransformación en fase II.

La velocidad de degradación de la enzima se midió incubando la mezcla de reacción en un termostato de bloque seco a 37 °C; dicha mezcla de reacción comprendía 0,5 mg/ml de fracciones S9 de hígado humano combinadas (XenoTech, EE. UU., n.º de cat. H0610); 10 µM de compuesto; 2 mM de dinucleótido de β-nicotinamida y adenina (Carbosynth,

Reino Unido, cat n.º NN10871) y 4 mM de cloruro de magnesio en 0,1 M de tampón de fosfato de sodio, a pH = 7,4. La reacción se templó con acetonitrilo (100 µl de acetonitrilo/100 µL de la mezcla de reacción). Después del templado, las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 minutos. El fluido sobrenadante se sometió a prueba mediante técnica cromatográfica utilizando Agilent 1200 (Agilent, EE. UU.). El análisis cromatográfico se realizó en un régimen de elución en gradiente con un caudal de 1 ml/min. Se trazó un gráfico del logaritmo del área de pico de la sustancia en función del tiempo. El factor dependiente de la línea correspondió a la velocidad de la constante de eliminación K en función de la cual se calcularon la semivida t_{1/2} del fármaco y la velocidad de degradación CL_{int}:

Constante de eliminación (k) = (-gradiente)

$$\text{Semivida (t}_{1/2}\text{) (min)} = \frac{0,693}{k}$$

$$V(\mu\text{L/mg}) = \frac{\text{volumen de incubación } (\mu\text{L})}{\text{proteína en la incubación (mg)}}$$

$$\text{Aclaramiento intrínseco (CL}_{\text{int}}\text{) } (\mu\text{L/min/mg de proteína}) = \frac{V \times 0,693}{t_{1/2}}$$

Sobre la base de los datos obtenidos, se determinó la estabilidad enzimática de los candidatos en fracciones S9 de hígado humano. Los compuestos demuestran una estabilidad microsomal suficiente y su velocidad de descomposición enzimática CL_{int} es inferior a 24 µL/min/mg. Los resultados se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la medición de la estabilidad enzimática de los compuestos. Los resultados se presentan como valores promedio de estabilidad de los compuestos (CL_{int}, µL/min/mg) obtenidos en varias pruebas.

Nº de compuesto	Estabilidad enzimática	
	Fracción S9 de hígado	Microsomas hepáticos humanos
	CL _{int} , µL/min/mg	
3.45	1,1	39,6
3.46	0,5	2,6
3.47	1,5	5,6
3.48	2,5	18,0
3.49	1,4	7,0

3.52	2,4	7,0
3.53	7,1	7,8

Ejemplo 10. Estimación de la permeabilidad de los compuestos a través de una monocapa de células Caco-2.

La estimación de la permeabilidad a través de una monocapa de células Caco-2 permite evaluar la capacidad de las sustancias para penetrar a través de membranas biológicas mediante el transporte activo y pasivo.

Se cultivaron células epiteliales intestinales Caco-2 en insertos de filtro (tamaño de poro 0,4 μm , BD Falcon con alta densidad) durante 21 días; la integridad de la monocapa se verificó utilizando Lucifer Yellow (Sigma-Aldrich, EE. UU.) de acuerdo con el protocolo estándar. En la transferencia A->B (transferencia «lumen intestinal» - «torrente sanguíneo»), se agregaron soluciones de las sustancias de prueba en tampón, a pH 6,5 (HBSS; 10 mM de HEPES; 15 mM de glucosa) en una concentración de 10 μM en la cámara superior; mientras que la cámara inferior se llenó con tampón, a pH 7,4 (HBSS; 10 mM de HEPES; 15 mM glucosa; 1% de BSA). En la transferencia B->A («torrente sanguíneo» - «lumen intestinal»), la cámara superior se llenó con un tampón, a pH 6,5; mientras que las soluciones de las sustancias de prueba -en un tampón, a pH 7,4, con una concentración de 10 μM - se agregaron en la cámara inferior. Como control, se usó propranolol, dado que es una sustancia de alta permeabilidad.

Después de 2 horas de incubación a 37 °C en una atmósfera que contenía 5% de CO₂, las cantidades de las sustancias de prueba en las cámaras superior e inferior se midieron por HPLC utilizando un sistema Agilent 1200 HPLC (Agilent, EE. UU.); las proteínas se precipitaron preliminarmente con acetonitrilo. El análisis cromatográfico se realizó en un régimen de elución en gradiente con un caudal de 1 ml/min. Las áreas de los picos correspondientes a los compuestos se detectaron en cromatogramas. Sobre la base de las áreas de los picos de un compuesto en los estándares de calibración, se midió la concentración del compuesto en la solución inicial y en las muestras de los pocillos de la cámara superior y los pocillos de la cámara inferior.

El coeficiente de permeabilidad celular Papp se calculó mediante la fórmula:

$$P_{app} = (C_{a(t)} * V_a) / (C_{d(0)} * t * \text{Area}), \text{ donde:}$$

P_{app} es la constante de permeabilidad eficaz, m/s

V es el volumen de la solución (0,8 ml en la prueba A→B; 0.2 ml en la prueba B→A), ml

Area es el área de la superficie de la membrana (0,33 cm²), cm²

t es el tiempo de incubación (7200 seg), seg

$C_{d(0)}$ es la concentración inicial de la solución, μM

$C_{a(t)}$ es la concentración de la solución después de 2 horas (la concentración en la muestra del pocillo de la cámara inferior en la prueba A→B; la concentración en la muestra del pocillo de la cámara superior en la prueba B→A), μM

El coeficiente de eflujo mostró que las células eran capaces de eliminar una sustancia del torrente sanguíneo. El valor se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$efflux = P_{app\ B \rightarrow A} / P_{app\ A \rightarrow B}, \text{ donde:}$$

$P_{app\ A \rightarrow B}$ — valor de permeabilidad de la prueba directa A→B

$P_{app\ B \rightarrow A}$ — valor de permeabilidad de la prueba inversa B→A

Los compuestos de la presente invención exhibieron una alta tasa de transporte directo, mientras que el coeficiente de eflujo no fue mayor que 2. Según el resultado, podemos suponer que el transportador de Pgp no impone restricciones a la biodisponibilidad de la sustancia. Los resultados se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados de la medición de permeabilidad a través de una monocapa de células Caco-2. Los resultados se presentan como valores promedio del transporte directo (A→B, Paap 10⁻⁶ cm/s) y eflujo de los compuestos obtenido en varias pruebas.

Nº de compuesto	A→B	Eflujo
	Coeficiente de permeabilidad aparente (Papp) 10 ⁻⁶ cm/s	
3.43	15,68	1,89
3.45	34,48	0,37
3.48	36,19	0,64
3.51	26,23	1,88
3.52	18,74	1,66

3.54	42,78	0,55
------	-------	------

Ejemplo 11. Afinidad de los compuestos con el complejo recombinante de proteína CDK8-Ciclina C in vitro.

La capacidad de los compuestos de la presente invención para enlazarse a la proteína CDK8 se detectó usando el ensayo LanthaScreen (ThermoFisher). Detectamos señal FRET proporcional a la cantidad de ligando marcado con fluorescencia unido a CDK8 (Tracer 236) que compite con el inhibidor por el sitio de unión a ATP. Realizamos las mediciones en un volumen de reacción de 15 µl utilizando una placa de 384 pocillos (Corning, n.º CLS4513). La enzima CDK8/Ciclina C (ThermoFisher, n.º PR7261B) se mezcló con anticuerpos Anti-His-Tag-Biotina (ThermoFisher, n.º PV6090), Streptavidina-Eu (ThermoFisher, n.º PV6025), la mezcla resultante se agregó a los pocillos de la placa (5 ml)/pocillo). Las concentraciones finales de sustancias fueron las siguientes: CDK8/Ciclina C - 5 nM, estreptavidina-Eu - 3 nM, Anti-His-Tag-Biotina - 3 nM. Se usó estaurosporina (S4400, Sigma) como un inhibidor de referencia, y una solución al 0,1% de dimetilsulfóxido (DMSO) en tampón de reacción se usó como blanco, el tampón de reacción comprendía 250 mM de HEPES (a pH 7,5), 50 mM de MgCl₂, 5 mM de EGTA, y 0,05% de Brij-35.

Los inhibidores y controles en cuestión se agregaron a los pocillos correspondientes (5 µl/pocillo). La placa se incubó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Después de la incubación, se agregaron 5 µl/pocillo de la solución de trazador Alexa Fluor-647 (Kinase Tracer 236, ThermoFisher, n.º PV5592) a los pocillos. La concentración final del marcador fue de 10 nM. El tampón de reacción, en lugar de la solución trazadora, se utilizó como control negativo. La placa se incubó durante 40 minutos a 25 °C, luego, se midió la señal TR-FRET según las indicaciones del fabricante en el lector de placas SPARK20 (Tecan, Suiza), y el valor se convirtió en la cantidad de marcador enlazado a quinasas. Los valores de CI₅₀ se calcularon utilizando el software SparkControl Magellan 1.2 (Tecan, Suiza) que aproxima los puntos experimentales mediante un modelo logístico de cuatro parámetros con la optimización de Levenberg-Marquardt (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados del ensayo bioquímico del enlace de los compuestos a la

proteína CDK8/ciclina C. Los datos se presentan como valores promedio de IC₅₀ obtenidos en varias pruebas.

N.º de Compuesto	CDK8/Ciclina C
	IC ₅₀ , nM
3.43	0.88
3.44	1.40
3.45	1.63
3.46	1.11
3.47	1.10
3.48	1.10
3.49	1.85
3.49×2HCl	1.64
3.50	2.03
3.51	1.44
3.52	0.96
3.53	1.01
3.54	1.27
3.55	1.24
3.56	1.07
3.57	2.27

Ejemplo 12. Actividad antiproliferativa hacia líneas celulares sensibles a CDK8 in vitro.

La actividad antiproliferativa de los inhibidores de CDK8 según la presente invención se midió en una prueba basada en células en cultivos celulares continuos MV4-11 (leucemia mielomonocítica bifenotípica, ATCC® CRL-9591™), KG-1 (leucemia mieloide aguda, ATCC® CCL- 246™) utilizando un pigmento intravital AlamarBlue (ThermoFisher, n.º DAL1100). Las células se cultivaron en medio RPMI-1640 (PanEco, n.º C330p) con agregado de FBS al 10%

(Gibco, n.º 16140-071); se lavaron y resuspendieron en medio de cultivo con FBS al 10% (Gibco, n.º 16140-071) en placas de cultivo de 96 pocillos (Corning, n.º 3599) con $\approx 10 \times 10^3$ células en 100 μm de medio por pocillo. Los compuestos en cuestión se disolvieron en DMSO y se diluyeron en un medio con FBS al 10% (Gibco, n.º 16140-071) hasta una concentración final que oscilaba entre 0 y 100 μM . Luego, se agregaron 50 μM de compuestos diluidos a cada pocillo (la concentración final de DMSO fue inferior al 1%) y se incubaron en una atmósfera de CO_2 al 5% a 37° durante 120 horas. Después de la incubación, se agregaron 15 μl /pocillo de reactivo AlamarBlue (ThermoFisher, n.º DAL1100); los contenidos de las placas se mezclaron en un agitador orbital (Biosan, Letonia) y se incubaron durante otras 3-5 horas a 37 °C en una de atmósfera de CO_2 al 5%. El número de células vivas se estimó utilizando un espectrofotómetro de microplaca (Tecan Infinite M200Pro, Suiza) que midió la señal fluorescente en la longitud de onda de excitación (λ_{Ex}) de 540 nm y la longitud de onda de emisión (λ_{Em}) de 590 nm.

Los valores de CI_{50} se calcularon utilizando el software Magellan 7.2 (Tecan, Suiza) que aproxima los puntos experimentales mediante un modelo logístico de cuatro parámetros con la optimización de Levenberg-Marquardt (Tabla 6).

Los valores de CC_{50} se determinaron en la prueba de citotoxicidad general en células HepG2 (carcinoma hepatocelular, ATCC® HB-8065™). Las células por pocillo se sembraron en placas de 96 pocillos (Corning, n.º 3599) a una concentración $\approx 20 \times 10^3$ células en 100 μL de medio y se incubaron durante 72 horas con compuestos agregados dentro del rango de concentraciones de 200 a 0,78 μM . La viabilidad celular se evaluó utilizando el método anterior. Los resultados se consignan en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados de la evaluación de la actividad específica de los compuestos en la prueba antiproliferativa basada en células usando el panel de la línea celular objetivo (MV-4-11) y los resultados de la evaluación de la toxicidad general usando la línea celular HepG2. Los datos se presentan como valores promedio de IC_{50} obtenidos en varias pruebas.

N.º de Compuesto	MV-4-11	KG-1	HepG2
	IC_{50} , nM	IC_{50} , nM	CC_{50} , μM
3.43	0,5	0,2	68,1
3.44	0,7	0,7	65,3

N.º de Compuesto	MV-4-11	KG-1	HepG2
	IC ₅₀ , nM	IC ₅₀ , nM	CC ₅₀ , µM
3.45	3,4	0,1	17,4
3.46	0,7	1,1	> 100
3.47	1,1	3,3	> 100
3.48	3,9	2,7	31,8
3.49	2,8	12,9	> 100
3.49×2HCl	-	16	> 100
3.50	3,8	26,6	> 100
3.51	16,9	12,9	> 100
3.52	0,9	1,2	> 100
3.53	1,3	2,4	≈ 90
3.54	15,8	12,2	≈ 90
3.55	–	6,5	> 100
3.56	–	13,8	> 100
3.57	–	17,1	≈ 90

