

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 677**

51 Int. Cl.:
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08760162 .1**
96 Fecha de presentación: **28.05.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2170891**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.04.2010**

54 Título: **INHIDOR DE PIRAZOLOPIRIMIDINONA QUINASA.**

30 Prioridad:
29.05.2007 US 932155 P
26.07.2007 EP 07113226

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
21.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
21.12.2011

73 Titular/es:
AGENNIX AG
IM NEUENHEIMER FELD 515
69120 HEIDELBERG, DE

72 Inventor/es:
KLUGE, Arthur F.

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 370 677 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidor de pirazolopirimidinona quinasa

Campo de la invención

5 La presente invención proporciona una nueva pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona, específicamente un derivado de 1-(pyridin-4-il)-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona. Este compuesto es un inhibidor de quinasa que muestra una actividad antiproliferativa inesperada contra células, incluidas células tumorales, y una actividad antitumoral en modelos tumorales de xenoinjerto. El compuesto o sal o profármaco adecuados del mismo es útil para el tratamiento de individuos que sufren un cáncer u otra enfermedad o trastorno proliferativo.

Antecedentes de la invención

10 Las quinasas son importantes enzimas celulares que realizan funciones celulares esenciales, tales como regulación de la división y la proliferación celular, y que parecen desempeñar un papel decisivo en muchos estados de enfermedad, como en estados de enfermedad que se caracterizan por una proliferación y diferenciación incontrolada del as células. Estos estados de enfermedad abarcan varios tipos celulares y enfermedades tales como cáncer ,aterosclerosis, reestenosis y otros trastornos proliferativos.

15 Uno de los procedimientos más importantes y fundamentales en biología es la división de las células mediada por el ciclo celular. Este procedimiento asegura la producción controlada de generaciones sucesivas de células con función biológica definida. Es un fenómeno altamente regulado y responde a un grupo complejo de señales celulares tanto dentro de la célula como procedentes de fuentes externas. Una compleja red de productos genéticos de es simulación y supresión de tumores son componentes clave de este proceso de señalización celular. La sobreexpresión de los componentes que estimulan los tumores o la posterior pérdida de los productos que suprimen los tumores conducirán a una proliferación celular no regulada y a la generación de tumores (Pardee, Science 246: 603-608, 1989). Las quinasas dependientes de ciclina (CDK) desempeñan un papel clave en la regulación de la maquinaria del ciclo celular. Estos complejos consiste en dos componentes: una subunidad catalítica (la quinasa) y una subunidad reguladora (la ciclina). Hasta la fecha se han identificado trece subunidades de quinasa (quinasas dependientes de ciclina (CDK) 1-13) en seres humanos junto con varias subunidades reguladoras, incluidas las ciclinas (Cyc) A-H, K, L, N, y T, y CDK5, p35, y otras proteínas. Cada subunidad de quinasa puede formar par(es) con uno o varios compañeros de subunidad reguladora y, en cada caso, dicho par compone el fragmento catalítico activo. Cada transición del ciclo celular está regulada por un complejo de quinasa dependiente de ciclina concreto: G1/SCDK2/CycE, CDK4/CycD y CDK6/CycD; S/G2 por CDK2/CycA y CDK1/CycA; G2/M por CDK1/CycB (para una revisión véase Shapiro, J. Clin. Oncol. 24: 170ff, 2006). La actividad coordinada de estos complejos de quinasas guía a las células individuales a través del proceso de replicación y asegura la vitalidad de cada generación posterior (Sherr, Cell 73:1059-1065, 1993; Draetta, Trends Biochem. Sci. 15:378-382, 1990).

35 Aunque los experimentos en los que se alterna los genes que codifican las tres ciclinas de tipo D, las dos ciclinas de tipo E, la CDK4 y CDL6 dependiente de ciclina D o la CDK2 dependiente de ciclina E en la línea germinal de ratón mostraron que ninguno de estos genes es estrictamente esencial para la progresión del ciclo celular (revisado en Sherr y Roberts, Genes & Development 18: 2699-2711, 2004), un volumen cada vez mayor de datos ha mostrado una conexión entre el desarrollo del tumor y malfunciones relacionadas con la quinasa dependiente de ciclina. La sobreexpresión de las proteínas reguladoras de ciclina y la consiguiente hiperactividad de quinasa se han asociado a varios tipos de cáncer (Sherr C. J., Science 274:1672-1677, 1996; Jiang, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:9026-9030, 1993; Wang, Nature 343:555-557, 1990). De hecho, el desarrollo de tumores humanos se suele asociar con alteraciones en las propias proteínas CDK o en sus reguladores (Cordon-Cardo C., Am. J. Pathol. 147:545-560, 1995; Karp J.

40 E. y Broder S., Nat. Med. 1: 309-320, 1995; Hall M. y col., Adv. Cancer Res. 68:67-108, 1996). Se ha descubierto que inhibidores proteicos endógenos y altamente específicos de quinasas dependientes de ciclina tenían un efecto fundamental en la proliferación celular (Kamb A., Curr. Top. Microbiol. Immunol. 227:139-148, 1998; Kamb y col., Science 264:436-440, 1994; Beach, Nature 336: 701-704, 1993). Estos inhibidores incluyen p16INK4 (un inhibidor de CDK4/CycD), p21CIP1 (un inhibidor general de CDK) y p27KIP1 (un inhibidor específico de CDK2/CycE). Una estructura cristalina de p27 ligado a CDK2/CycA reveló el modo en que estas proteínas inhiben de forma eficaz la actividad quinasa a través de múltiples interacciones con el complejo de quinasa dependiente de ciclina (Pavletich, Nature 382:325-331, 1996). Estas proteínas ayudan a regular el ciclo celular a través de interacciones específicas con sus correspondientes complejos de quinasa dependiente de ciclina. Las células deficientes en estos inhibidores son propensas a un crecimiento no regulado y a la formación de tumores.

55 Además de las CDK implicadas principalmente en el proceso central de la progresión del ciclo celular (CDK 1, 2, 4 y 6), otras CDK son responsables de la regulación de los procesos de expresión génica durante el curso de la progresión del ciclo celular. Específicamente, CDK7 y CDK9 fosforilan el dominio en C-terminal de la ARN polimerasa II y, de ese modo, dirigen la expresión de proteínas anti-apoptóticas, ciclocinas de tipo D y factores de pro-angiogénesis (como VEGF inducido por hipoxia). Por tanto, asimismo, estas denominadas CDK reguladoras son atractivas dianas para intervención terapéutica (véase Shapiro, J. Clin. Oncol. 24:1770ff, 2006).

Debido a la clara relación entre la inhibición farmacológica de las CDK y la regulación del ciclo celular, pronto se identificó el posible uso de inhibidores de CDK en oncología y se identificaron muchos inhibidores de molécula pequeña de diferentes clases estructurales (p. ej., estauroporinas, flavonas (p. ej., flavopiridol (véase Shapiro, J. Clin. Oncol. 24:170ff, 2006)), purinas (p. ej., purvalanol; roscovitina (véase Bach y col., J. Biol. Chem. 280: 31208ff, 1995)), pirido[2,3-d]pirimidinonas, oxindoles, paulonas, indenopirazoles, anilinoquinazolina, aminotiazoles o diarilureas, y las primeras moléculas están siendo sometidas ahora a evaluación clínica (para revisiones, véase: Sausville, Trends Mol. Med. 8: S32-S37, 2002; Huwe y col., Angew Chem Int Ed Engl. 42: 2122-38, 2003; Fischer, Cell Cycle 3: 742-6, 2004; Fischer y Gianella-Borradori, Expert Opin Investig Drugs 14: 457-77, 2005).

En base a los conocimientos actuales de las funciones bioquímicas de las CDK 1, 2, 4 y 6, se puede esperar que se detenga el crecimiento en células tratadas con inhibidores de estas enzimas. La inhibición directa de CDK4/CycD y/o CDK6/CycD debería detener las células en G1 (Baughn y col., Cancer Res. 66: 7661-7, 2006). Además, la inhibición indirecta de CDK1 y CDK4 mediante la regulación por disminución de los correspondientes compañeros de ciclina a través de la inhibición de las quinasas activadoras de CDK CDK7 y/o CDK9, debería detener las células en G1 (Whittaker y col., Cancer Res. 2004, 64, 262-72; Mateyak y col., Mol Cell Biol. 1999, 19, 4672-83). En principio, la inhibición de la actividad de CDK2 debería tener como resultado la detención de las células en G1, no obstante, se ha mostrado que, genéticamente, en células de cáncer de colon la actividad de CDK podría saltar este bloqueo (Tetsu & McCormick, Cancer Cell 3: 233-45, 2003). La inhibición de CDK1/CycB debería bloquear la salida de la mitosis mediante la inhibición de la fosforilación de componentes del complejo de estimulación de la anafase (Golan y col., J Biol Chem. 277: 15552-7, 2002; Listovsky y col., Exp Cell Res. 255: 184-91, 2000), y también podría resultar en apoptosis mediante la inhibición de la fosforilación de survivina (O'Connor y col., Proc Natl Acad Sci U S A. 97: 13103-7, 2000).

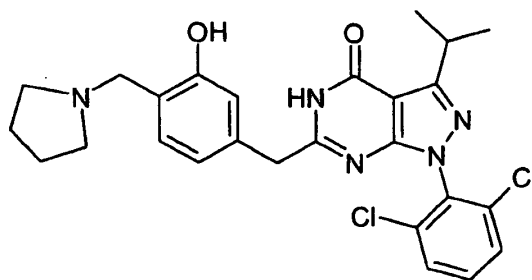
A la luz de las consideraciones anteriores, cabría esperar que una molécula con actividades de inhibición de CDK potentes y equilibradas, particularmente contra CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, CDK7 y CDK9 fuera un prometedor candidato para el desarrollo de un fármaco citostático/citotóxico en la terapia del cáncer o de otras enfermedades proliferativas (DePinto et al., Mol. y col. Cancer Ther. 5: 2644-58, 2006; Joshi y col., Mol. Cancer Ther. 6: 918-25, 2007).

No obstante, aunque las actividades de inhibición de CDK, por ejemplo como se determina en ensayos bioquímicos de inhibición de quinasa in vitro, son parámetros muy importantes para la identificación mediante cribado sistemático en investigación, un desarrollo satisfactorio de un fármaco para aplicaciones terapéuticas dependerá de muchos factores adicionales, tales como el perfil ADMET in vitro (incluida la solubilidad y la permeabilidad), estudios de biología celular (incluida la inhibición celular de las líneas celulares relacionadas con la enfermedad), estudios farmacocinéticos (incluida la biodisponibilidad) y farmacodinámicos (incluida, principalmente, la actividad en modelos animales relacionada con la enfermedad) y el perfil toxicológico.

Se sabe que ciertas pirazolo[3,4-d]pirimidinas, sustituidas de un modo específico, tienen propiedades farmacológicamente útiles. En particular, se sabe que ciertos derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-onas poseen actividad antiproliferativa (véase Rossi y col., Comput. Aided Mol. Des. 19: 111-22, 2005; Markwalder y col., J. Med. Chem. 47: 5894-911, 2004).

Las publicaciones PCT WO 00/021926 y WO 02/067654 divulgan extensamente clases de pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-onas, incluidas estructuras genéricas que representan ciertas 1-fenil- y 1-piridil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-onas. No obstante, no se divulgan compuestos específicos sustituidos con 1-piridilo ni se describe su síntesis y no se presentan datos para indicar si dichos compuestos exhibirán propiedades inhibitoras en, por ejemplo, ensayos enzimáticos de CDK. Por tanto, no hay enseñanzas concretas para seleccionar sustituyentes piridina para producir compuestos farmacéuticamente útiles y, de hecho, ninguna demostración de que las formas 1-piridilo serían tan eficaces como los compuestos realmente sintetizados o eficaces en todos los usos divulgados. En particular, no hay enseñanzas del compuesto específico 1-(3,5-dicloropiridin-4-il)-6-(3-hidroxi-4-pirrolidinometil-fenil)metil-3-isopropil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona (Compuesto I) que se divulga más adelante.

La publicación PCT WO 03/033499 divulga específicamente ciertas 1-fenil-3-isopropil-6-arilmetil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-onas que se ha mostrado que inhiben quinasas dependientes de ciclina y que tienen cierta actividad en modelos de tumores (véase también los documentos WO 2004/092139; WO 2005/063765; véase también Caligiuri y col., Chem Biol. 12: 1103-15, 2005). No obstante, cabe destacar que estas solicitudes no divulgan especialmente, reivindican genéricamente o sugieren una utilidad para cualquier correspondiente 1-piridil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-onas. Los documentos WO 2004/092139 y WO 2005/063765 divulgan ambos 1-(2,6-dicloropiridin-4-il)-6-(3-hidroxi-4-pirrolidinometil-fenil)metil-3-isopropil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona (P).



que se puede demostrar que tienen actividades inhibitoras de CDK equilibradas en ensayos bioquímicos de inhibición de quinasa *in vitro* contra CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, CDK7 y CDK9. No obstante, dicho compuesto no tenía propiedades satisfactorias en términos de solubilidad, permeabilidad y, particularmente, en modelos de tumor de xenoinjerto en ratones atímicos, de modo que razonablemente no haría cabido esperar posteriores desarrollos preclínicos o clínicos para el tratamiento del cáncer.

Por tanto, a pesar del progreso realizado, continua la búsqueda de compuestos inhibidores de quinasa de bajo peso molecular con actividades inhibitoras de CDK equilibradas en ensayos bioquímicos de inhibición de quinasa *in vitro* contra CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, CDK7 y CDK9, que muestren una potente actividad en un modelo de tumor de xenoinjerto y que sean útiles para tratar el cáncer. Dichos compuestos pueden además ser útiles para tratar una amplia variedad de enfermedades, incluidas cáncer, tumores y otros trastornos o enfermedades proliferativas, incluidas reestenosis, angiogénesis, retinopatía diabética, psoriasis, adherencias quirúrgicas, degeneración macular y aterosclerosis. Por tanto, existe una gran necesidad para proporcionar composiciones, productos farmacéuticos y/o medicamentos con actividad de inhibición de quinasa o actividad antiproliferativa contra células, tales como células tumorales. Dichas composiciones, productos farmacéuticos y/o medicamentos pueden poseer no sólo dichas actividades sino también pueden ejercer efectos secundarios tolerables, aceptables o disminuidos en comparación con otros inhibidores de quinasa o agentes antiproliferativos. Además, el espectro de tipos tumorales u otras enfermedades respondedoras al tratamiento con dichas composiciones, productos farmacéuticos y/o medicamentos puede ser amplio. Los ingredientes activos de dichas composiciones, productos farmacéuticos y/o medicamentos pueden ser adecuados para usar en el tratamiento de las indicaciones mencionadas como un solo agente y/o en terapia de combinación, estar relacionados con otros agentes terapéuticos, con radiación, con procedimientos operativos/quirúrgicos, terapia térmica o cualquier otro tratamiento conocido en las indicaciones mencionadas.

Resumen de la invención

Los inventores hemos inventado una nueva pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-onas, específicamente un derivado de 1-(piridin-4-il)-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona que tiene actividades inhibitoras de CDK potentes y equilibradas, particularmente contra CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, CDK7 y CDK9, actividad antiproliferativa contra células tumorales, buenas propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, incluida solubilidad, permeabilidad y biodisponibilidad oral altas, y que exhibe, sorprendentemente, potente actividad antiproliferativa en modelos de xenoinjerto de tumor en ratones atímicos, incluidos en modelos usando células tumorales A2780. Este compuesto es prometedor como terapéutica eficaz para enfermedades asociadas con la alteración de la regulación de CDK o la proliferación celular, tal como cáncer, u otras enfermedades o trastornos proliferativos, en base a los análisis contra líneas celulares de cáncer establecidas y modelos de cáncer en xenoinjerto.

En base al análisis comparativo detallado más adelante, el compuesto de la presente invención es adecuado para el tratamiento de individuos que sufren una o más formas de cáncer o para el tratamiento de individuos que sufren una o más de una variedad de otros trastornos y enfermedades proliferativas.

Los diversos aspectos de la invención se refieren al compuesto objeto 1-(3,5-dicloropiridin-4-il)-6-(3-hidroxi-4-pirrolidinometil-fenil)metil-3-isopropil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona, que tiene la estructura representada por la fórmula (I) presentada más adelante o la estructura de cualquier forma tautomérica del mismo. El compuesto objeto puede formarse opcionalmente o usarse en forma de sal, incluida una sal farmacéuticamente aceptable. El compuesto objeto es útil como inhibidor de CDK que muestra una actividad antiproliferativa contra células, incluidas células tumorales, y una actividad antitumoral en modelos tumoral de xenoinjerto, y/o es útil para el tratamiento de individuos que sufren cáncer u otro trastorno o enfermedad proliferativa.

En un aspecto, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas, incluido un diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable, y una cantidad, tal como una cantidad terapéuticamente eficaz, de dicho compuesto objeto, por ejemplo que mejora los efectos del cáncer o de otros trastornos o enfermedades proliferativas.

Otro aspecto de la invención se refiere a un producto farmacéutico envasado, incluida una composición farmacéutica que incluye el compuesto objeto tal como se ha descrito anteriormente, y las instrucciones que indican que dicha

composición farmacéutica puede usarse para la administración a un paciente que sufre cáncer u otro trastorno o enfermedad proliferativa.

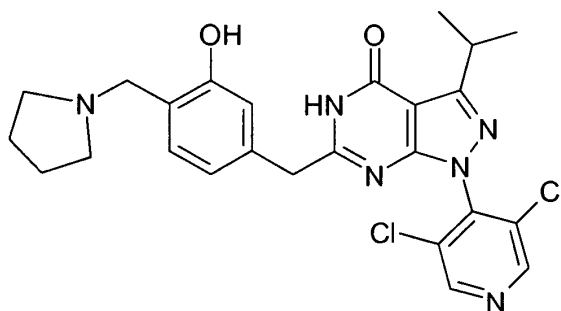
Otro aspecto de la invención se refiere a procedimientos que implican administrar o poner en contacto un individuo, una célula, un tejido, un órgano o un organismo con una cantidad, incluida una cantidad terapéuticamente eficaz, del compuesto objeto de una composición farmacéutica divulgada en el presente documento. Estos procedimientos incluyen, entre otros: matar o inhibir la proliferación o el crecimiento de una célula (incluida una célula tumoral), el tratamiento de un individuo que sufre un trastorno asociado con la actividad de una o más quinasas dependientes de ciclina divulgadas en el presente documento; el tratamiento de un individuo que sufre cáncer o el tratamiento de un individuo que sufre otro trastorno o enfermedad proliferativa.

En otro aspecto, la invención se refiere a usos del compuesto objeto para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un individuo que sufre cancer u otro trastorno o enfermedad proliferativa.

Otro aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de síntesis de 1-(3,5-dicloropiridin-4-il)-6-(3-hidroxi-4-pirrolidinometil-fenil)metil-3-isopropil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona.

De acuerdo con esto, la presente invención proporciona un compuesto objeto que es (i) el compuesto de fórmula (I),

15



(I)

(ii) un tautómero del compuesto de (i)

La invención proporciona además cualquier forma de sal del compuesto objeto, incluidos cualquier sal o cualquier solvato farmacéuticamente aceptables del compuesto objeto, incluido cualquier hidrato.

La invención proporciona además todas las formas profármaco del compuesto objeto.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y a partir de las reivindicaciones.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Efectos de la administración oral dos veces al día del Compuesto I o Compuesto P (y los controles vehículo y Cytoxan) sobre: (a) el crecimiento tumoral en xenoinjerto de ovario A2780; y (b) el peso corporal de los ratones. Los valores medios para cada grupo de ratones se representan en cada punto de tiempo.

Figura 2: Valores ajustados según regresión lineal en datos representados de forma log-lineal para varios grupos de ratones en los que se inocularon células A2780 y se administró el Compuesto P, el Compuesto I, el Vehículo o Cytoxan.

Figura 3: Efectos de la administración oral diaria del Compuesto I o Compuesto P (y los controles vehículo y R547) sobre: (a) el crecimiento tumoral en xenoinjerto de ovario A2780; y (b) el peso corporal de los ratones. Los valores medios para cada grupo de ratones se representan en cada punto de tiempo.

Figura 4: Efectos de la administración oral diaria del Compuesto I o Compuesto P (y los controles vehículo y R547) sobre: (a) el crecimiento tumoral en xenoinjerto de pulmón H460; y (b) el peso corporal de los ratones. Los valores medios para cada grupo de ratones se representan en cada punto de tiempo.

Figura 5: Efectos de la administración oral diaria del Compuesto I o Compuesto P (y los controles vehículo y R547)

sobre: (a) el crecimiento tumoral en xenoinjerto de colon HCT116; y (b) el peso corporal de los ratones. Los valores medios para cada grupo de ratones se representan en cada punto de tiempo.

Figura 6: Inhibición de la fosforilación RNAPII dependiente de CDK9 en células HCT116 por el compuesto I. También se muestran las proteínas totales RNAPII y la proteína tubulina como controles. Las células y los lisados se procesaron tal como se ha descrito en el Ejemplo D.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

El término "tautómero" está reconocido en la técnica y describe un isómero de un compuesto dado que es el resultado de la migración formal de un átomo de hidrógeno o protón, acompañado de un cambio de un enlace sencillo y enlace doble adyacente. Como se usa en el presente documento, el término tautómero incluye cualquier posible forma tautomérica del compuesto de la presente invención de fórmula (I). Además se entiende que diferentes formas tautoméricas de un compuesto pueden coexistir en solución o en estado sólido, por ejemplo en un estado de equilibrio, y que una forma tautomérica puede convertirse en una forma tautomérica diferente con el tiempo. Por tanto, se debe entender que una referencia al compuesto de fórmula (I) se refiere a (i) el compuesto que tiene la estructura representada por la fórmula (I), (ii) cualquier tautómero del compuesto de (i) o (iii) cualquier mezcla del compuesto de (i) y cualquier tautómero(s) de los mismos.

El término "isómero" se refiere a un conjunto de compuestos que tienen fórmulas moleculares idénticas pero que difieren en la naturaleza o secuencia de los enlaces de sus átomos o en la organización de sus átomos en el espacio.

Se pretende que la presente invención incluya todos los isótopos de los átomos que aparecen en el presente compuesto. Los isótopos son átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números másicos. Como ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen ^1H , ^2H (deuterio) y ^3H (tritio). Los isótopos de carbono incluyen ^{12}C y ^{14}C .

La expresión "ingrediente activo", como se usa en el presente documento, se refiere a un agente que se incluye en una composición farmacéutica y que es un agente activo *per se*, o que tiene como resultado la formación de un agente activo, tal como, a modo de ejemplos no limitantes, siendo un ingrediente activo un profármaco, o un ingrediente activo que conduce a la formación de un metabolito que es el agente activo.

La expresión "agente activo" se refiere a un agente que es responsable de la actividad deseada, o que esencialmente contribuye a ella, tal como una actividad terapéutica, de un procedimiento, tal como un procedimiento terapéutico, usando dicho agente, por ejemplo el tratamiento de un individuo tras la administración de una composición farmacéutica que comprende un ingrediente activo. Un agente activo puede ejercer su actividad solo o en combinación con uno o más agentes activos adicionales. El agente activo puede ser conocido o no, por ejemplo puede no saberse si un ingrediente activo actúa directamente o indirectamente, tal como una acción mediada por un metabolito del ingrediente activo. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se cree que el compuesto de la presente invención es un agente activo como tal.

El término "agente", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier sustancia que ejerce, o se supone que ejerce, una determinada actividad en el contexto descrito en el contexto en el que se usa el término "agente", bien directa o indirectamente.

El término "metabolito", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier sustancia producida por el metabolismo o mediante un proceso metabólico. Metabolismo, como se usa en el presente documento, se refiere a las diversas reacciones físicas/químicas/bioquímicas/farmacológicas (siendo cada uno un "proceso metabólico") implicadas en la transformación de una molécula o compuesto químico que se produce en la célula, tejido, sistema o individuo, incluido un ser humano, que se pone en contacto con dicha molécula o compuesto químico.

El término " CI_{50} ", como se usa en el presente documento, se refiere a concentraciones a las que se inhibe en un 50 % la actividad medible, el fenotipo o respuesta, por ejemplo el crecimiento o la proliferación de células, tales como células tumorales. Los valores de CI_{50} se pueden estimar a partir de una curva dosis-respuesta adecuada, por ejemplo a ojo o usando un ajuste de curva adecuada o un software estadístico. Con mayor precisión, los valores de CI_{50} se pueden determinar usando análisis de regresión no lineal.

Como se usa en el presente documento, un "individuo" significa un organismo multicelular, por ejemplo un animal tal como un mamífero, incluido un primate. Además de los primates, tales como seres humanos, se puede tratar a diversos otros mamíferos pueden estar comprendidos dentro del término individuo. Por ejemplo, se pueden usar otros mamíferos, incluidos, entre otros, vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, cobayas, conejos, ratas, ratones u otras especies bovinas, ovinas, équidas, caninas, felinas o de roedores.

Como se usa en el presente documento, un "trastorno proliferativo" o una "enfermedad proliferativa" incluye un trastorno o enfermedad que se caracteriza por la proliferación de células en un individuo más allá o por encima de

los niveles normales, es decir por encima del nivel de proliferación de las células observado en células normales no enfermas del mismo tipo. Un trastorno o enfermedad proliferativa puede producirse o verse afectada por los cambios en los procesos de crecimiento, diferenciación o proliferación celular, incluidos el crecimiento, proliferación, diferenciación celular reguladas de forma aberrante o la migración de las células. Los trastornos o enfermedades proliferativos incluyen trastornos o enfermedades tumorigénicos. Ejemplos de trastornos de crecimiento o proliferación celular incluyen, entre otros, tumores, cáncer, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades virales, enfermedades fúngicas, trastornos neurodegenerativos y enfermedades cardiovasculares. En general, se entenderá que las células incluidas, comprendidas o derivadas de un tumor o cáncer son células en proliferación, normalmente células hiperproliferantes y, en otras circunstancias, una célula tumoral puede ser displásica o pueden haber proliferado.

Como se usa en el presente documento, "procesos de crecimiento, diferenciación o proliferación celular" son procesos mediante los cuales las células aumentan de número, tamaño o contenido, mediante los cuales una célula desarrolla un conjunto especializado de características que difieren de las de otras células, o mediante los cuales una célula se acerca o se aleja de una localización o estímulo concreto, incluido el transporte y degradación de aminoácidos y otros procesos metabólicos de una célula.

Como se usa en el presente documento, un "trastorno o enfermedad tumorigénica" incluye un trastorno o enfermedad que se caracteriza por una regulación aberrante del crecimiento, proliferación, diferenciación, adhesión o migración celular que puede tener como resultado la producción de tumores o la tendencia a producir tumores. Como se usa en el presente documento, un "tumor" incluye una masa benigna o maligna de tejido, por ejemplo formada por la proliferación anormal de células.

Como se usa en el presente documento, un "agente anticanceroso" se refiere a un agente activo que tiene la capacidad de matar células cancerosas in vivo o in vitro, de inducir apoptosis en células cancerosas, de inhibir (es decir, prevenir, detener, retrasar, ralentizar o demorar) las metástasis o, de otro modo, de exhibir actividades anticancerosas. La expresión "agente antiproliferativo" se refiere a un agente activo que tiene la capacidad de inhibir la proliferación de las células en crecimiento in vivo o in vitro o de reducir la tasa de división celular en células en proliferación o hiperproliferantes. Se conocen muchos agentes que son agentes anticancerosos y/o agentes antiproliferativos y dichos agentes conocidos incluyen, entre otros, altretamina, busulfan, clorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, mecloretamina, melfalan, tiotepa, cladribina, fluorouracilo, floxuridina, gemcitabina, tioguanina, pentostatina, metotrexato, 6-mercaptopurina, citarabina, carmustina, lomustina, estreptoizotocina, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, picoplatino, LA-12, iproplatino, tetraplatino, lobaplatino, JM216, JM335, satraplatina, fludarabina, aminoglutetimida, flutamida, goserelina, leuprolida, acetato de megestrol, acetato de ciproterona, tamoxifen, anastrozol, bicalutamida, dexametasona, dietilestilbestrol, prednisona, bleomicina, dactinomicina, daunorubicina, doxirubicina, idarubicina, mitoxantrona, losoxantrona, mitomicina-c, plicamicina, paclitaxel, docetaxel, topotecan, irinotecan, 9-aminocamptotecan, 9-nitrocamptotecan, GS-211, JM 118, etopósido, tenipósido, vinblastina, vincristina, vinorelbina, procarbazona, asparaginasa, pegaspargasa, octeotida, estramustina, e hidroxiaurea. Dichos términos también incluyen, entre otros, agentes terapéuticas de molécula no pequeña, tales como anticuerpos, por ejemplo 1D09C3 y otros anticuerpos anti-HLA-DR tal como se describe en los documentos WO 01/87337 y WO 01/97338, Rituxan tal como se describe en las patentes de EE.UU. 5.736.137, 5.776.456, 5.843.437, 4D5, Mab225, C225, Daclizumab (Zenapax), Antegren, CDP 870, CMB-401, MDX-33, MDX-220, MDX-477, CEA-CIDE, AHM, Vitaxin, 3622W94, Therex, 5G1.1, IDEC-131, HU-901, Mylotarg, ZamyI (SMART M195), MDX-210, Humicade, LymphoCIDE, ABX-EGF, 17-1A, Trastuzumab (Herceptin®, rhuMAB), Epratuzumab, Cetuximab (Erbix®), Pertuzumab (Omnitarg®, 2C4), R3, CDP860, Bevacizumab (Avastin®), tositumomab (Bexxar®, Ibritumomab tiuxetan (Zevalin®), M 195, 1D10, Hu1D10 (Remitogen®, apolizumab), Danton/DN1924, un anticuerpo "HD" tal como HD4 o HD8, CAMPATH-1 y CAMPATH-1H u otras variantes, fragmentos, conjugados, derivados y modificaciones de los mismos, u otras composiciones equivalentes con propiedades mejoradas u optimizadas y proteínas o péptidos, por ejemplo los descritos en Trends in Biotechnology 21(12): 556-562, 2003.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se reconoce en la técnica y se entiende que hace referencia a una propiedad de un compuesto, material, composición, forma de dosificación etc., propiedad que hace que dicho compuesto, material, composición, forma de dosificación etc., sea, dentro del alcance del juicio del médico competente, adecuado para su administración o uso en el tratamiento farmacéutico de un individuo proporcionando una relación beneficios/riesgo médicamente aceptable. Dicho juicio del médico competente debería excluir, por ejemplo, que al poner en contacto dicho compuesto, material, composición, forma de dosificación etc. con los tejidos de los seres humanos o animales exista una excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otros problemas o complicaciones no acorde con los beneficios proporcionados. Por tanto, "farmacéuticamente aceptable" se usa para hacer referencia a compuestos, materiales, composiciones, formas de dosificación etc. que, en el contexto de utilidad para el que se emplean (p. ej., en el tratamiento del cáncer u otros trastornos proliferativos) no son biológicamente, químicamente o de cualquier otro modo incompatibles con la bioquímica y la fisiología del organismo, y, también que no disminuyen de forma inaceptable las propiedades o la potencia de dichos compuestos, materiales, composiciones, formas de dosificación etc.

Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se reconoce en la técnica y se entiende que hace referencia a los derivados de un compuesto parental en el que dicho compuesto parental se

modifica preparando sales de ácido o base del mismo y en el que dicha sal es farmacéuticamente aceptable. Normalmente, una sal farmacéuticamente aceptable mantendrá, o incluso mejorará, el equilibrio entre la actividad biológica deseada de un ingrediente activo y sus efectos no deseados o toxicológicos.

5 Las sales de ácido incluyen sales de la reacción de ácidos minerales u orgánicos con residuos básicos en el compuesto parental, tales como aminas. Ejemplos no limitantes de sales de ácido adecuadas incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos, tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido sulfámico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido bicarbónico, ácido carbónico; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido esteárico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido masónico, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido glutámico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido palmoico, ácido alginico, ácido fenilacético, ácido poliglutamico, ácido salicílico, ácido sulfanílico, ácido 2-acetoxibenzoico, ácido fumárico, ácido toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido etano disulfónico, ácido isetiónico, ácido naftalenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido α -cetilglutámico, ácido β -glicerofosfórico y ácido poligalacturónico.

15 En realizaciones concretas de los diversos aspectos de la invención, la forma de sal del compuesto objeto es un clorhidrato. En realizaciones alternativas de dichos aspectos, la forma de sal del compuesto objeto es un maleato, incluida la realización concreta de dicha sal que comprende el compuesto objeto y ácido maleico en una proporción de 1:1.

20 Las sales de base incluyen sales de la reacción de bases de metales alcalinos o de metales alcalino térreos con residuos ácidos en el compuesto parental, tales como ácidos carboxílicos, residuos fenólicos y similares. Bases de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos adecuadas incluyen hidróxido de litio, de potasio y de sodio o hidróxido de calcio y de magnesio. Otras bases adecuadas incluyen las derivadas de metales tales como cinc, bismuto, bario o aluminio, y además incluyen amoniaco y aminas orgánicas, tales como N,N-dibenciletilen-diamina, D-glucosamina o etilendiamina. Además, las sales adecuadas incluyen las derivadas de una combinación de ácidos y bases, tales como, por ejemplo una sal de tannato de cinc.

30 Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden sintetizar a partir del compuesto parental que contiene un resto básico o ácido por procedimientos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales se pueden preparar mediante la reacción del ácido libre o las formas básicas de estos compuestos con una cantidad estequiométrica o un ligero exceso de la base o el ácido adecuados en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; en general, se prefieren medios no acuosos como éter, EtOH, etanol, isopropanol o acetoniitrilo. En Remington's Pharmaceutical Sciences, 18 ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, **1990**, pág. 1445 se presentan listas de sales adecuadas.

35 Ácidos y bases no farmacéuticamente aceptables que encuentran utilidad en, por ejemplo, la síntesis y/o purificación de un compuesto de interés también se contemplan en el presente documento. Por tanto, todas las "sales" del compuesto de fórmula (I) también entran dentro del alcance de la presente invención.

40 El término "profármaco", como se usa en el presente documento, se refiere a un ingrediente activo que se convierte en un agente activo en una o más etapas tras la administración de una composición farmacéutica que incluya el profármaco. En términos generales, los profármacos son derivados de los propios fármacos que, tras la administración a un individuo o a las células obtenidas de un individuo, sufren conversión o metabolismo en la especie fisiológicamente activa, es decir el agente activo. La conversión puede ser espontánea, tal como hidrólisis en el ambiente fisiológico, o puede estar catalizada por enzimas. Los profármacos incluyen compuestos que se pueden oxidar, reducir, aminor, desaminar, hidroxilar, deshioxilar, hidrolizar, esterificar, alquilar, desalquilar, acilar, desafililar, fosforilar y/o desfosforilar para dar como resultado, por último, el agente activo. Un profármaco puede también ser cualquier vehículo unido covalentemente que libera un agente activo *in vivo* cuando dicho vehículo se administra como ingrediente activo a un individuo. Los profármacos pueden potenciar numerosas calidades deseables de productos farmacéuticos (p. ej., solubilidad, biodisponibilidad, fabricación, transporte, farmacodinamia etc.). Por ejemplo, los profármacos pueden estar biodisponibles mediante administración oral, incluso cuando el fármaco parental no lo está, se pueden preparar profármacos modificando un grupo funcional presente en el compuesto parental de manera que las modificaciones sean reversibles, por ejemplo durante la administración del profármaco o *in vivo*, para dar lugar al compuesto parental.

55 De entre la abundante literatura científica dedicada a los profármacos en general, se citan los ejemplos siguientes: Gangwar y col., "Prodrug, molecular structure and percutaneous delivery", Des. Biopharm. Prop. Prodrugs Analogs, [Symp.] Meeting Date 1976, 409-21, (1977); Nathwani y Wood, "Penicillins: a current review of their clinical pharmacology and therapeutic use", Drugs 45(6): 866-94, 1993; Sinhababu y Thakker, "Prodrugs of anticancer agents", Adv. Drug Delivery Rev. 19(2): 241-273, 1996; Stella y col., "Prodrugs. Do they have advantages in clinical practice?", Drugs 29(5): 455-73, 1985; Tan y col. "Development and optimization of anti-HIV nucleoside analogs and prodrugs: A review of their cellular pharmacology, structure-activity relationships and pharmacokinetics", Adv. Drug Delivery Rev. 39(1-3): 117-151, 1999; Design of Prodrugs (Bundgaard H. ed.), Elsevier Science Publishers B. V. (Biomedical Division) 1985, Capítulo 1: Design of Prodrugs: Bioreversible derivatives for various functional groups and chemical entities (Hans Bundgaard); Bundgaard y col., Int. J. of Pharmaceutics (Elsevier) 22: 45 -56, 1984;

Bundgaard y col., Int. J. of Pharmaceutics (Elsevier) 29: 19 -28, 1986; Bundgaard y col., J. Med. Chem. 32: 2503-2507, 1989; Chem. Resúmenes 93: 137935y (Bundgaard y col.); Chem. Resúmenes 95: 138493f (Bundgaard y col.); Chem. Resúmenes 95: 138592n (Bundgaard y col.); Chem. Resúmenes 110: 57664p (Alminger y col.); Chem. Resúmenes 115: 64029s (Buur y col.); Chem. Resúmenes 115: 189582y (Hansen y col.); Chem. Resúmenes 117: 14347q (Bundgaard y col.); Chem. Resúmenes 117: 55790x (Jensen y col.); and Chem. Resúmenes 123: 17593b (Thomsen y col.).

Los términos “administrado”, “administración” o “que administra” un compuesto se reconocen en la técnica y se entiende que significan proporcionar un compuesto a un individuo, incluido un ser humano, poniendo a dicho individuo en contacto con dicho compuesto, o, de otro modo, exponiendo a dicho individuo a dicho compuesto, de un modo tal que dicho compuesto tenga la oportunidad de ejercer su actividad, tal como una actividad terapéutica para el beneficio de un individuo que sufre una enfermedad o trastorno, o que necesite dicho tratamiento.

El término “*in vitro*” se refiere a una entidad biológica, un proceso biológico o una reacción biológica fuera del cuerpo en condiciones artificiales. Por ejemplo, se entiende que una célula cultivada *in vitro* es una célula cultivada en un ambiente fuera del cuerpo, por ejemplo en un tubo de ensayo o una bandeja de cultivos o una placa de microtitulación.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz” se reconoce en la técnica y se entiende que significa la cantidad del compuesto sujeto que provocará la respuesta biológica, fisiológica, farmacológica, terapéutica o médica de una célula, tejido, sistema o individuo, que incluye un ser humano buscada por el encargado de administrar dicha cantidad. En contextos médicos, dichos resultados deseados pueden incluir, por ejemplo, disminución de los efectos/síntomas de un trastorno o enfermedad, tal como un trastorno o enfermedad proliferativo, por ejemplo un cáncer o tumor, o matar o inhibir el crecimiento de una célula en proliferación, tal como una célula tumoral. La cantidad terapéuticamente eficaz se puede determinar mediante procedimientos estándar, incluidos los que se describen más adelante en la sección “Dosificaciones” del presente documento.

El término “tratamiento” se reconoce en la técnica y deberá incluir una cualquiera o más formas de intervención terapéutica de una afección, tal como cualquier trastorno o enfermedad, de células o de un individuo, incluida una intervención terapéutica en un síntoma o trastorno asociado de dicha afección y además incluye terapia adyuvante que se proporciona después de que una porción sustancial de la manifestación detectable o accesible de la afección, trastorno o enfermedad ha sufrido intervención terapéutica previa, por ejemplo mediante cirugía. Se entiende que un tratamiento beneficioso puede prevenir el inicio de una enfermedad o un síntoma de ella, puede aliviar una enfermedad o uno o más síntomas o manifestaciones de ella, puede retrasar o inhibir el desarrollo o extensión de una enfermedad o uno o más síntomas o manifestaciones de ella, puede producir regresión de una enfermedad o uno o más síntomas o manifestaciones de ella o puede curar una enfermedad o eliminar uno o más síntomas o manifestaciones de una enfermedad. “Tratamiento” no es sinónimo de “curación”.

El término “tratado adicionalmente”, “administrar adicionalmente” o “administrado adicionalmente” significa que diferentes ingredientes activos, agentes terapéuticos o compuestos se pueden administrar junto con, secuencialmente, alternativamente o de forma intermitente. Dicha administración adicional puede estar separada en el tiempo o en el espacio, por ejemplo a tiempos diferentes, en días diferentes o mediante diferentes modos o vías de administración.

Compuesto de la presente invención

En ciertas realizaciones, se aísla el compuesto de la invención, una forma de sal del mismo (incluida una sal farmacéuticamente aceptable) o una forma solvato del mismo (incluido un hidrato). En ciertas realizaciones, el compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se purifica para, por ejemplo, obtener una pureza seleccionada de: al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 97%, al menos 98% y, en ciertas realizaciones, al menos 99%. La pureza, como se usa en el presente documento, puede hacer referencia a pureza absoluta o relativa. Pureza absoluta se refiere a la cantidad de compuesto de interés en relación con la cantidad total de una composición que incluye dicho compuesto. Pureza relativa se refiere a la cantidad de un compuesto de interés en una composición respecto a la cantidad de una o más de otras sustancias incluidas en dicha composición, por ejemplo una o más impurezas, tales como subproductos, productos de degradación (p. ej., metabolitos, productos de oxidación o de hidrólisis etc.) y/o compuestos que se degradan para formar el compuesto de la invención (p. ej., precursores o profármacos). Dicha(s) otra(s) sustancia(s) puede(n), por ejemplo, estar presentes en el producto de un esquema químico de síntesis para dicho compuesto de interés- Por tanto, pureza absoluta se refiere a la cantidad del compuesto de interés en relación con todos los demás componentes de una composición que incluye dicho compuesto, mientras que pureza relativa principalmente se usa para describir pureza con respecto a sustancias estrechamente relacionadas y, por tanto, no se ve afectada por la adición de compuestos no relacionados, tales como excipientes, estabilizantes u otros medicamentos para administración conjunta. La pureza se puede evaluar en base al peso, volumen o proporciones molares de un compuesto respecto a otros. La pureza se puede medir mediante diversas técnicas analíticas, incluida abundancia elemental, espectrometría UV-visible, HPLC, CG-EM, RMN, espectrometría de masas y cromatografía en capa fina. Los procedimientos preferidos para determinar la pureza de los compuestos de acuerdo con la invención son HPLC, CG-EM o RMN.

En ciertas realizaciones, el compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se produce por vía sintética. La expresión "producido por vía sintética" se refiere a la generación de un compuesto usando técnicas de síntesis bien conocidas para el experto en la técnica con el objetivo de obtener dicho compuesto.

5 En ciertas realizaciones, el compuesto de la invención, una forma de sal del mismo, incluida una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato del mismo, incluido un hidrato, esté en forma amorfa.

En ciertas realizaciones, el compuesto de la invención, una forma de sal del mismo, incluida una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato del mismo, incluido un hidrato, esté en forma cristalina

10 Otro aspecto más de la invención se refiere a profármacos del compuesto objeto o una forma de sal del mismo. Dichos profármacos incluyen compuestos en los que el grupo hidroxilo en los sustituyentes fenilo o cualquier átomo de nitrógeno en el grupo pirrolidino, el sustituyente piridina o el sistema de anillo de pirazolopirimidona del compuesto de la presente invención está unido a cualquier grupo que, cuando dicho profármaco se administra a células, tejido o a un individuo, incluido un ser humano, se escinde para formar el grupo hidroxilo libre o átomo de nitrógeno, respectivamente. Ejemplos de dichos profármacos incluyen, entre otros, derivados acetato, formiato y benzoato del grupo hidroxifenólico en el compuesto de la presente invención, o un derivado N-aciloxialquilopiridinio del compuesto de la presente invención (Davidsen y col., J Med Chem 1994; 37:4423-9).

Formulaciones, Dosificaciones y Aplicaciones

20 La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que incluye un ingrediente activo seleccionado de: El compuesto objeto, una forma de sal, tal como una sal farmacéuticamente aceptable, del compuesto objeto y un profármaco del mismo; junto con un diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable, incluidas composiciones farmacéuticas que incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho ingrediente activo.

Formulaciones

25 Las composiciones de la presente invención se pueden formular y administrar para tratar células, o un individuo, tal como un ser humano, incluido un individuo que necesite tratamiento, tal como un individuo que sufre un trastorno como un cáncer. Dicha formulación y administración puede realizarse por cualquier medio adecuado que produce contacto del agente activo con el sitio de acción del agente activo, tal como una célula en el cuerpo de dicho individuo, por ejemplo una célula incluida en un tumor o cáncer presente en dicho individuo. Se pueden administrar por cualquier medio convencional disponible para usar junto con productos farmacéuticos, bien como ingredientes terapéuticamente activos individuales o en una combinación de ingredientes terapéuticamente activos. Se pueden administrar solos, pero, en general, se administran con un diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable seleccionado en base a la vía de administración escogida y a la práctica farmacéutica convencional.

30 Las composiciones farmacéuticas para usar de acuerdo con la presente invención se pueden formular de un modo convencional usando uno o más diluyentes, excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden formular para diversas vías de administración, incluidas la administración sistémica y tópica o localizada. En general, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Meade Publishing Co., Easton, PA. se pueden encontrar técnicas y formulaciones. Como se describe con detalle más adelante, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular especialmente para administración en forma sólida o líquida, incluidas las adaptadas para: (1) administración oral, por ejemplo, empapadores (Soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, cápsulas, bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicar en la lengua; (2) administración parenteral mediante, por ejemplo, inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril; (3) aplicación tópica, por ejemplo como una crema, pomada o aerosol aplicada a la piel; o (4) por vía intravaginal o intrarrectal como, por ejemplo, un pesario, crema o espuma. En ciertas realizaciones, las preparaciones farmacéuticas pueden ser no pirógenas, es decir no elevan sustancialmente la temperatura corporal de un paciente.

45 En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se formulan para administración oral.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se formulan para administración intravenosa.

50 Agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como laurilsulfato sódico y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en las composiciones.

55 Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes hidrosolubles, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfito sódico, sulfito sódico y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tal como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Las formulaciones de la presente invención incluyen las adecuadas para administración oral, nasal, tópica (incluidas bucal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones pueden presentarse cómodamente en una forma de monodosis y pueden prepararse mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de farmacia. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con el material transportador para producir una única forma de dosificación variará en función del individuo tratado, así como el modo de administración concreto. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con el material transportador para producir una única forma de dosificación generalmente será la cantidad de ingrediente activo que produzca un efecto terapéutico. En general, de un cien por cien, esta cantidad variará de aproximadamente 1 por ciento a aproximadamente noventa y nueve por ciento en peso del ingrediente activo, en ciertas realizaciones de aproximadamente 5 por ciento a aproximadamente 70 por ciento en peso y, en ciertas de dichas realizaciones de aproximadamente 10 por ciento a aproximadamente 30 por ciento en peso.

Los procedimientos de preparación de estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de poner en contacto el compuesto de la presente invención, o un profármaco de dicho compuesto, con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan poniendo en contacto de forma uniforme y estrecha el compuesto de la presente invención, o un profármaco de dicho compuesto, con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o con ambos y, después, en caso necesario, dando forma al producto.

Para la administración sistémica se prefiere la inyección, incluidas intramuscular, intravenosa, intraperitoneal y subcutánea (i.m., i.v., i.p., y s.c., respectivamente). Las frases "administración sistémica" o "administrado por vía sistémica", "administración periférica" y "administrado por vía periférica", como se usa en el presente documento, significan la administración de un compuesto, fármaco u otro material de forma distinta a directamente en el sistema nervioso central, de modo que entra en el sistema circulatorio del paciente y, por tanto, está sujeto al metabolismo y a otros procesos similares.

Para inyección, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden formular en soluciones líquidas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles, tales como solución de Hank o solución de Ringer. Además, las composiciones farmacéuticas se pueden formular en forma sólida y redissolver o suspender inmediatamente antes de usar. También se incluyen las formas liofilizadas.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden formular de modo que sea adecuada para administración oral y pueden tomar la forma de cápsulas, obleas, sobres, píldoras, comprimidos, pastillas (usando una base aromatizada, tal como sacarosa o goma arábiga o de tragacanto), polvos, gránulos o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga) y/o como colutorios y similares, en las que cada uno contiene una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención, o un profármaco de dicho compuesto, como ingrediente activo. El compuesto de la presente invención, o un profármaco de dicho compuesto, también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

En la formulación de las composiciones farmacéuticas de la invención en formas de dosificación sólidas para administración oral (p.o.) (cápsulas, comprimidos, píldoras, pastillas, polvos, gránulos y similares), el compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco de dicho compuesto, como ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato sódico o fosfato dicálcico y/o cualquiera de los siguientes o combinaciones de los mismos: (1) cargas o expansores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato sódico; (5) agentes retardantes de la solución, tal como parafina; (6) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico, y mezclas de los mismo; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas pueden también comprender agentes tampón. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden usar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas duras y blandas, usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares.

Las cápsulas de gelatina pueden contener el compuesto de la presente invención, o un profármaco de dicho compuesto, como ingrediente activo y vehículos en polvo, tales como lactosa, almidón, derivados de celulosa, estearato de magnesio, ácido esteárico y similares. Se pueden usar vehículos similares para formar pastillas comprimidas. Tanto los comprimidos como las cápsulas se pueden fabricar en forma de productos de liberación sostenida, para proporcionar la liberación continua de medicación durante un periodo de horas. Las pastillas comprimidas pueden estar recubiertas con azúcar o recubiertas con película para enmascarar el gusto y proteger el comprimido de la atmósfera, o con recubrimiento entérico para la disgregación selectiva en el tracto gastrointestinal. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se usan como cargas en cápsulas de gelatina rellenas duras y blandas, materiales preferidos a este respecto también incluyen lactosa o azúcar de leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular. Un ejemplo concreto de dicha formulación es una solución o suspensión en un aceite, Por

ejemplo aceite de oliva, Miglyol o Capmul, contenido dentro de una cápsula de gelatina blanda. Se pueden añadir antioxidantes para prevenir la degradación a largo plazo según sea adecuado.

5 Un comprimido puede fabricarse mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes auxiliares. Las pastillas comprimidas se pueden preparar usando un aglutinante (p. ej., gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (p. ej., glicolato almidón sódico o carboximetilcelulosa sódica), agentes de superficie activa o dispersantes. Los comprimidos moldeados se pueden fabricar mediante moldeo en una máquina adecuada de una mezcla de la composición en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

10 Los comprimidos y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como pastillas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden, opcionalmente, rasurarse o prepararse con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. También pueden ser formulaciones de modo que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo en su interior usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas.
15 Se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro de retención de bacterias o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de usar. Estas composiciones pueden también contener, opcionalmente, agentes opacificantes y pueden ser de una composición que liberen el(los) ingrediente(s) activo(s) solo o, en ciertas realizaciones, en una porción determinada del tracto gastrointestinal, opcionalmente de un modo retardado. Ejemplos de incluir composiciones que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también pueden estar en forma microencapsulada, si es adecuado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

25 La formas de dosificación líquidas para administración oral de las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyente inerte de uso habitual en la técnica, tal como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular aceites de algodón, aceite de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol de tetrahidrofurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano, y mezclas de los mismos.
30

Además de los diluyentes inertes, las composiciones farmacéuticas para administración oral también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y conservantes.

35 Las suspensiones, además de la composición farmacéutica de la presente invención puede contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes de isoestearilo etoxilado, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y goma de tragacanto, y mezclas de los mismos.

Para la administración bucal, las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de comprimidos o pastillas formulados de forma convencional.

40 Para la administración mediante inhalación, las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención se liberan de forma conveniente en forma de presentación en pulverizador en aerosol a partir de envases o un nebulizador presurizados con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula la cual administra una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina, para usar en un inhalador o insuflador de modo que contengan una mezcla en polvo de los agentes terapéuticos y una base en polvo adecuada, tal como lactosa o almidón.
45

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para administración parenteral mediante inyección en, por ejemplo, inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en monodosis en, por ejemplo, ampollas o envases con múltiples dosis, con un conservante añadido. Las composiciones farmacéuticas pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Como alternativa, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para reconstituir con un vehículo adecuado, por ejemplo agua apirógena estéril, antes de usar.
50

55 Las frases "administración parenteral" y "administrado por vía parenteral", como se usan en el presente documento, significan modos de administración distintos a la administración enteral y tópica, normalmente mediante inyección, e incluye, sin limitaciones, la inyección intravenosa, intramuscular, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal y la infusión.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para administración parenteral comprenden el compuesto de la invención, un sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco de dicho compuesto, en combinación con una o más soluciones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, dispersiones, suspensiones o emulsiones, o polvos estériles que se pueden reconstituir en soluciones inyectables estériles o dispersiones justo antes de usar, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos, que convierten a la formulación en isotónica con la sangre del receptor al que está destinada o agentes de suspensión o espesantes.

Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que se pueden usar en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones farmacéuticas pueden también contener adyuvantes, tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos se puede asegurar mediante la inclusión de varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo parabenes, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro sódico y similares, en las composiciones farmacéuticas. Además, una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede efectuar mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y/o gelatina.

Además de las formulaciones descritas anteriormente, las composiciones farmacéuticas pueden también formularse como una preparación depot. Dichas formulaciones de acción prolongada pueden administrarse mediante implantación (por ejemplo subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Por tanto, por ejemplo, las composiciones farmacéuticas se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo en forma de una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o en forma de derivados escasamente solubles, por ejemplo en forma de una sal escasamente soluble.

La administración sistémica también puede ser por vía transmucosa o transdérmica. Para la administración transmucosa o transdérmica, en la formulación se usan penetrantes adecuados para atravesar la barrera. Normalmente dichos penetrantes se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosa, sales biliares y derivados de ácido fusídico. Además, se pueden usar detergentes para facilitar la permeación. La administración transmucosa se puede realizar mediante nebulizadores nasales o usando supositorios. Para administración tópica, las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan en pomadas, salvas, geles o cremas, como en general se conoce en la técnica.

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto terapéutico del compuesto de la invención, es deseable ralentizar la absorción del compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco de dicho compuesto, de inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede conseguir mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene mala solubilidad en agua. La tasa de absorción del compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco de dicho compuesto, depende de su tasa de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de un inhibidor administrado por vía parenteral se consigue disolviendo o suspendiendo el compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco de dicho compuesto, en un vehículo oleoso.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden formular para administración rectal o vaginal como supositorio, que se puede preparar mezclando el compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco de dicho compuesto, con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato, y que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a temperatura corporal y, por tanto, se fundirá en el recto o la cavidad vaginal y libera el ingrediente activo.

Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la presente invención que son adecuadas para administración vaginal incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen dichos vehículos como los conocidos en la técnica que son adecuados.

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica del compuesto de la presente invención, o un profármaco de dicho compuesto, incluyen polvos, pulverizadores, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhaladores. Dicho compuesto puede mezclarse en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante, tampón u otro adyuvante que se requiera.

Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además del compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco de dicho compuesto, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, grasas, aceites, ceras, parafinas, almidón, goma de tragacanto, derivados de celulosa,

polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.

Los polvos pueden contener, además del compuesto de la presente invención, un profármaco de dicho compuesto, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias.

5 Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar liberación controlada de un compuesto de la presente invención en el cuerpo. Dichas formas de dosificación se pueden preparar disolviendo o dispersando un inhibidor de la presente invención en el medio adecuado. Los potenciadores de la absorción también se pueden usar para incrementar el flujo del fármaco en la piel. La velocidad de dicho flujo se puede controlar proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto de la presente invención en una matriz o gel polimérico.

10 Las formulaciones oftálmicas, pomadas oculares, polvos, soluciones y similares también se contemplan para usar en la presente invención.

15 Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse, si se desea, en un envase o dispositivo dispensador que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contiene el ingrediente activo. El envase puede comprender, por ejemplo, papel de aluminio de metal o plástico, tal como un envase de tipo blíster. El envase o dispositivo dispensador puede estar acompañado de instrucciones para administración. En otras realizaciones, el envase o dispensador puede empaquetarse adicionalmente en una caja exterior.

20 Una composición farmacéutica de la presente invención también se puede formular como formulación de liberación sostenida y/o prolongada. Dichas formulaciones de liberación sostenida y/o prolongada se pueden preparar por medios de liberación sostenida o dispositivos de liberación que son bien conocidos para los expertos en la técnica, como los descritos en las patentes de EE.UU. Nº 3.845.770; 3.916.899; 3.536.809; 3.598.123; 4.008.719; 4.710.384; 5.674.533; 5.059.595; 5.591.767; 5.120.548; 5.073.543; 5.639.476; 5.354.556; y 5.733.566. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar para proporcionar liberación lenta o sostenida de uno o más de los ingredientes activos usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, otras matrices poliméricas, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos recubrimientos de múltiples capas, micropartículas liposomas, microesferas o similares, o una combinación de los mismos para proporcionar el perfil de liberación deseado en proporciones variables. Las formulaciones de liberación sostenida adecuadas conocidas para los expertos en la técnica, incluidas las descritas en el presente documento, se pueden seleccionar fácilmente para usar con las composiciones farmacéuticas de la invención. Por tanto, las formas de dosificación monodosis para administración oral, tales como, entre otros, comprimidos, cápsulas, cápsulas blandas, comprimidos oblongos, polvos y similares, que están adaptados para liberación sostenida entran dentro de la presente invención.

35 Las formas depot inyectables se pueden preparar formando matrices microencapsuladas del compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco de dicho compuesto, en polímeros biodegradables tales como poli-lactida-poliglicólido. Dependiendo de la proporción entre el fármaco y el polímero, y la naturaleza del polímero concreto empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones depot inyectables también se pueden preparar incluyendo el compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco de dicho compuesto, en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

40 Dosificaciones

La dosis que se va a administrar que será una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto suficiente, o razonablemente prevista por un profesional sanitario, tal como un médico, un veterinario, un farmacéutico o una enfermera, para dar como resultado alivio de los síntomas de, por ejemplo, el cáncer o tumor, variará, por supuesto, dependiendo de factores conocidos, tales como las características farmacodinámicas del ingrediente activo concreto y su modo y vía de administración; la edad, el sexo, la salud y el peso del receptor; la naturaleza y extensión de los síntomas; el tipo de tratamiento concurrente; la frecuencia de tratamiento; y el efecto deseado.

45 También se puede usar una dosificación que comprende una dosis menor del compuesto de la invención, o de una sal o profármaco del mismo, de lo que sería terapéuticamente eficaz si se administra solo, de modo que cuando se usa el compuesto objeto en combinación con otro agente terapéuticamente eficaz, tal como un agente anticanceroso, siempre que dicha combinación sea terapéuticamente eficaz.

50 La eficacia terapéutica y la toxicidad de las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, para determinar la DL₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población analizada) y la DE₅₀ (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La relación de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación DE₅₀/DL₅₀. Las composiciones farmacéuticas que exhiben índices terapéuticos favorables son útiles para muchas circunstancias. En ciertas circunstancias, incluso se pueden usar las composiciones farmacéuticas que parecen exhibir efectos secundarios debilitantes o tóxicos, incluidas las

circunstancias en las que se toman precauciones para diseñar un sistema de liberación dirigido al agente activo de dichas composiciones farmacéuticas en el sitio de tejido afectado con el fin de minimizar los posibles daños en las células no afectadas y, de este modo, reducir o localizar los efectos secundarios.

5 Los datos obtenidos de los ensayos de cultivos celulares y estudios animales se pueden usar en la formulación de un intervalo de dosificación para uso humano. En ciertas realizaciones, la dosificación está dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la DE_{50} con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración usada. Para el compuesto de la invención, cualquier sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o cualquier profármaco de dicho compuesto, que se usa en un procedimiento de la invención, la dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Una dosis se puede formular en modelos animales para alcanzar un intervalo de concentración en plasma circulante que incluye la CI_{50} (es decir, la concentración del ingrediente activo de prueba que consigue una inhibición semimáxima de los síntomas o inhibición de la actividad bioquímica, según se determina en cultivo celular. Tal información se puede usar después para determinar con mayor precisión las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma se pueden medir mediante, por ejemplo, cromatografía de líquidos de alto rendimiento.

20 Se entiende que la dosificación adecuada de un ingrediente activo depende de una serie de factores conocidos para los expertos en la técnica, por ejemplo un médico. La(s) dosis del ingrediente activo variarán en función de, por ejemplo, la identidad, el tamaño y la afección del individuo o la muestra que se estén tratando, dependiendo además de la vía por la cual se va a administrar la composición, si procede, y el efecto que el médico desea que el agente terapéutico tenga sobre la diana terapéutica de dianas tales como, células, ácido nucleico o polipéptidos, a través de las que están mediadas las causas, síntomas o efectos de la enfermedad.

25 Dosis de ejemplo incluyen cantidades en miligramo o microgramo del compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco de dicho compuesto, por kilogramo de sujeto o peso de la muestra, por ejemplo de 1 microgramo por kilogramo a 500 miligramos por kilogramo, de 100 microgramos por kilogramo a 50 miligramos por kilogramo o de 1 miligramo por kilogramo a 5 miligramos por kilogramo-

30 Un experto en la técnica apreciará que las dosis también se pueden calcular en base a la superficie corporal. Una persona de 70 kg tiene un área de superficie corporal aproximada de 1,8 metros cuadrados y las dosis se pueden expresar en cantidades en miligramo o microgramo del compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco de dicho compuesto, por área de superficie corporal del sujeto o la muestra, por ejemplo de 50 microgramos por metro cuadrado a 15 gramos por metro cuadrado, de 5 miligramos por metro cuadrado a 1,5 gramos por metro cuadrado o de 50 miligramos por metro cuadrado a 150 miligramos por metro cuadrado.

Aplicaciones

35 La presente invención también proporciona el compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco de dicho compuesto para usar en terapia.

En ciertas realizaciones, dicha terapia es el tratamiento de un individuo que sufre cáncer u otro trastorno o enfermedad proliferativa. En ciertas realizaciones, dicho tratamiento es el tratamiento de un individuo que sufre un trastorno o enfermedad, tal como un cáncer, asociado con la actividad de una o más quinasas dependientes de ciclina, tal como mediante inhibición de la actividad de CDK1, CDK2, CDK4, CDK7, y/o CDK9.

40 Por tanto, la presente invención proporciona adicionalmente un procedimiento para tratar a un individuo, tal como un mamífero, incluido un ser humano, que tiene o sufre cáncer u otra enfermedad o trastorno proliferativo, que comprende administrar a dicho individuo una cantidad, tal como una cantidad terapéuticamente eficaz, del compuesto objeto, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco del mismo, o administrar una composición farmacéutica de la invención como se ha descrito anteriormente. En ciertas realizaciones, dicho individuo es un ser humano. En ciertas realizaciones, dicho tratamiento es el tratamiento de un cáncer que se puede tratar mediante la inhibición de la actividad de una o más quinasas dependientes de ciclina, tal como la inhibición de la actividad de CDK1, CDK2, CDK4, CDK7, y/o CDK9.

50 En otro aspecto, la invención proporciona procedimientos para tratar a un individuo que sufre una enfermedad, tal como un mamífero, incluido un mamífero doméstico, un roedor y un ser humano, que comprende la etapa de exponer o poner en contacto a dicho individuo con una cantidad, incluida una cantidad terapéuticamente eficaz, del compuesto objeto, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco del mismo. En ciertas realizaciones, la enfermedad es un cáncer u otro trastorno o enfermedad proliferativa. En ciertas realizaciones, dicho individuo es un ser humano. En otra realización más, las células asociadas con dicho cáncer, o dicho trastorno o enfermedad proliferativa, incluidas las células tumorales incluidas en un tumor o un cáncer. (p. ej., células tumorales que son células malignas en un individuo) están expuestas al compuesto objeto, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco del mismo. En ciertas realizaciones, dicho compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco del mismo, se administra a dicho individuo en el que dichas células están presentes. En ciertas realizaciones, dicho tratamiento es el tratamiento de un cáncer que se

puede tratar mediante la inhibición de la actividad de una o más quinasas dependientes de ciclina, tal como la inhibición de la actividad de CDK1, CDK2, CDK4, CDK7, y/o CDK9.

5 En un aspecto adicional, la invención proporciona un procedimiento de matar o inhibir la proliferación o crecimiento de las células, que comprende poner en contacto las células con el compuesto de la invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco del mismo. En una realización, las células se ponen en contacto con tal agente *in vitro*, mientras que en una realización alternativa las células están presentes en un individuo. En una realización concreta, las células son células cancerosas, por ejemplo células de una línea de células tumorales o células incluidas en un tumor o cáncer, incluidas células cancerosas de un tumor que se pueden tratar mediante la inhibición de la actividad de una o más quinasas dependientes de ciclina, tal como la inhibición de la actividad de CDK1, CDK2, CDK4, CDK7, y/o CDK9.

10 Otro aspecto más de la invención se refiere al uso del compuesto tal como se ha descrito anteriormente, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco del mismo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de un cáncer o de otro trastorno o enfermedad proliferativa, incluido un cáncer, que se pueden tratar mediante la inhibición de la actividad de una o más quinasas dependientes de ciclina, tal como la inhibición de la actividad de CDK1, CDK2, CDK4, CDK7, y/o CDK9. Adicionalmente, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un ingrediente activo seleccionado de: el compuesto tal como se ha descrito anteriormente, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un profármaco del mismo, junto con un diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicha composición farmacéutica es para administración a un individuo que sufre un trastorno o enfermedad, tal como un cáncer, o de otro trastorno o enfermedad proliferativo, incluido un cáncer, que se pueden tratar mediante la inhibición de la actividad de una o más quinasas dependientes de ciclina, tal como la inhibición de la actividad de CDK1, CDK2, CDK4, CDK7, y/o CDK9.

15 En otro aspecto más, la invención se refiere a procedimientos que implican poner en contacto una célula, incluida una célula tumoral, con una cantidad, tal como una cantidad terapéuticamente eficaz, del compuesto objeto. Estos procedimientos incluyen la inhibición de la actividad de una o más quinasas dependientes de ciclina divulgadas en el presente documento, tal como una quinasa seleccionada de: CDK1, CDK2, CDK4, CDK7 y/o CDK9. En realizaciones concretas de dicho aspecto, la quinasa inhibida es CDK9. En ciertas realizaciones, la célula se pone en contacto con el compuesto objeto *in vitro*, mientras que en una realización alternativa la célula está incluida en un tumor o un cáncer presente dentro de un individuo, tal como un mamífero, incluido un ser humano. Dicho individuo puede sufrir un trastorno o enfermedad proliferativo, incluido un cáncer o un trastorno que se puede tratar mediante la inhibición de la actividad de una o más quinasas dependientes de ciclina, tal como la inhibición de la actividad de CDK1, CDK2, CDK4, CDK7, y/o CDK9.

20 En realizaciones concretas de los procedimientos a los que se hace referencia en esta sección, tal trastorno o enfermedad está asociada con la actividad de CDK9. En otras realizaciones, dicho trastorno o enfermedad se asocia con la actividad de CDK1, CDK2 y/o CDK4. En ciertas realizaciones, dicho tratamiento conduce a la inhibición de la fosforilación de un sustrato de CDK seleccionado de: RNAPII, Rb y Eg-5; en células. En ciertas realizaciones, dicha inhibición de la fosforilación RNAPII es más pronunciada que dicha inhibición de la fosforilación de Rb y/o Eg-5 por un factor seleccionado de: aproximadamente 2 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente 10 veces, aproximadamente 50 veces y más de 100 veces.

25 En ciertos procedimientos de tratamiento de la invención contemplados en el presente documento, los tumores pueden ser tumores sólidos, que son cánceres de tejidos corporales distintos a la sangre, la médula ósea o el sistema linfático. En otras realizaciones, los tumores pueden ser tumores hematológicos, tales como leucemia y linfomas. La leucemia es un término colectivo para enfermedades malignas que se caracteriza por una proliferación de glóbulos blancos con cambios malignos. Las enfermedades del tejido linfático se denominan linfomas.

30 Los tumores sólidos se pueden seleccionar de: cáncer hepático, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de piel, cáncer renal, cáncer óseo, cáncer de tiroides, cáncer de piel, incluido carcinoma de células escamosas, cáncer de esófago, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de vesícula biliar, cáncer cervical, cáncer de ovarios, cáncer de pulmón (incluido cáncer de pulmón de células macrocíticas, bronquial), cáncer gástrico y cáncer de cabeza y cuello.

35 Los tumores hematológicos pueden ser leucemia, tal como leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia linfocítica aguda, leucemia aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia granulocítica crónica (LGC), leucemia crónica, leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia mielomonocítica crónica, leucemia linfoblástica aguda de tipo común, leucemia eosinófila, eritroleucemia, linfoma extranodal, linfoma folicular, leucemia de células peludas, leucemia monolítica, leucemia prolinfocítica.

40 Los tumores hematológicos también pueden ser linfoma, tal como linfomas de células B, linfoma de Burkitt, linfoma cutáneo de células T, linfoma de alto grado, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma de grado bajo, linfoma linfoblástico, linfoma de células del manto, linfoma de la zona marginal, linfomas del tejido linfoide asociado a la mucosa (MALT), linfomas de células T, linfoma de células T periféricas, mieloma múltiple, trombocitemia esencial, linfoma de células peludas, mieloma extramedular, sarcoma granulocítico.

Los tumores hematológicos también pueden ser tumores de linaje mielóide, incluidas leucemias mielógenas aguda y crónica, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica.

5 Los tumores también pueden ser de origen mesenquimatoso, tal como fibrosarcoma y rhabdomiosarcoma. Además, los tumores pueden ser tumores del sistema nervioso central y periférico, tales como astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; y los tumores pueden ser otros tumores, tales como melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xenoderma pigmentoso, queratocantoma, cáncer folicular tiroide y sarcoma de Kaposi.

10 Lis tumores que son resistentes o refractarios al tratamiento con otros agentes anticancerosos o antiproliferativos también pueden beneficiarse del tratamiento con los procedimientos y composiciones farmacéuticas de la presente invención.

El compuesto divulgado en el presente documento también puede ser útil en la inhibición de la angiogénesis y metástasis tumoral.

15 El compuesto de la presente invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo, también pueden ser útiles en combinación (administrados en conjunto o secuencialmente) con tratamientos anticancerosos conocidos, tales como radioterapia o con otros agentes anticancerosos, antiproliferativos, citostáticos o citotóxicos. Otros agentes anticancerosos y antiproliferativos que se pueden usar en combinación con el compuesto de la presente invención incluyen los descritos en el presente documento. En el tratamiento de combinación, el compuesto de la presente invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo, pueden además administrarse con cualquier otro agente anticanceroso y antiproliferativo
20 divulgado en el presente documento.

25 Si se formulan en forma de una dosis fija, dichos productos de combinación emplean el compuesto de la presente invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo, dentro del intervalo de dosificación descrito en el presente documento y el otro agente farmacéuticamente activo o tratamiento dentro de su intervalo de dosificación aprobado. Los efectos sinérgicos de las combinaciones de fármacos y los efectos sobre la actividad dependiendo del orden de administración son conocidos en este campo (véase, por ejemplo, J. Cell Sci., 108: 2897, 1995; Cancer Res. 57: 3375, 1997), y la optimización de la dosificación y el orden de liberación estará dentro de la experiencia del responsable en la técnica usando el compuesto de la presente invención. El compuesto descrito en el presente documento, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo, también pueden administrarse secuencialmente con otros agentes anticancerosos o antiproliferativos cuando una
30 formulación de combinación es inadecuada. En ausencia de indicaciones al contrario, la invención no se limita a la secuencia de administración, el compuesto descrito en el presente documento, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo, pueden administrarse antes, de forma simultánea o tras la administración de otro agente anticanceroso o antiproliferativo. Por ejemplo, se sabe que la actividad citotóxica del inhibidor de quinasa dependiente de ciclina flavopiridol se ve afectada por la secuencia de administración con agentes anticancerosos
35 (Cancer Research, 57, 3375, 1997).

Aspectos adicionales de la invención

40 Otro aspecto de la invención proporciona un envase farmacéutico, en el que dicho envase incluye el compuesto de la presente invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo, o cualquier composición farmacéutica que incluye dicho compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable o un profármaco. En ciertas realizaciones, el envase comprende instrucciones que indican que dicha composición farmacéutica se puede usar para administrar a un individuo que lo necesite, incluido un ser humano, tal como un individuo que sufre un cáncer u otro trastorno o enfermedad proliferativa. En otras ciertas realizaciones, el envase farmacéutico incluye el compuesto de la presente invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo, formulados junto con otro ingrediente farmacéutico tal como un agente anticanceroso y antiproliferativo. En este
45 caso, el compuesto de la presente invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo y el otro ingrediente farmacéutico se pueden formular juntos o por separado y en cantidades de dosificación individual.

50 Otros ingredientes farmacéuticos que se pueden formular juntos o por separado con el compuesto de la presente invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo, incluyen, entre otros, otros agentes anticancerosos y antiproliferativos, tal como se ha descrito anteriormente. En otras ciertas realizaciones adicionales, el envase farmacéutico comprende instrucciones para administrar dicho ingrediente activo a un individuo que lo necesite. En otro aspecto más, la invención proporciona un envase farmacéutico para la administración de una composición farmacéutica a un individuo que sufre un cáncer u otro trastorno o enfermedad proliferativo, en el que dicho envase incluye al menos el compuesto de la presente invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo. En otras ciertas realizaciones adicionales, el envase farmacéutico comprende instrucciones para administrar dicha composición farmacéutica a un individuo que sufre un cáncer u otro trastorno o enfermedad proliferativo.
55

Como se usa en el presente documento, las expresiones "paquete farmacéutico" y "envase farmacéutico" se refieren

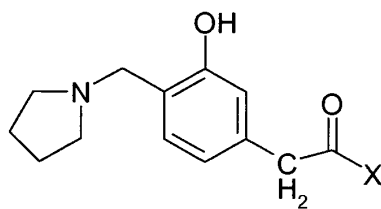
a cualquier sistema de empaquetamiento para almacenar y dispensar dosis individuales de medicación para el tratamiento de un individuo. Preferentemente, el paquete farmacéutico contiene suficientes unidades de dosificación diarias adecuadas para el periodo de tratamiento o en cantidades que facilitan el cumplimiento del individuo del régimen. En ciertas realizaciones, el envase farmacéutico comprende uno o más vasos que incluyen el ingrediente activo, por ejemplo el compuesto de la presente invención. Dichos vasos pueden ser un contenedor, tal como un frasco, vial, jeringuilla o cápsula, o pueden ser una forma de dosificación unitaria tal como una píldora. El ingrediente activo puede proporcionarse en el vaso en una forma farmacéuticamente aceptable o puede proporcionarse, por ejemplo, en forma de un polvo liofilizado. En realizaciones adicionales, el envase farmacéutico puede incluir además un disolvente para preparar la composición farmacéutica que incluye dicho ingrediente activo para administración.

En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica que incluye dicho ingrediente activo ya puede proporcionarse en un dispositivo de liberación, tal como una jeringuilla, o se puede incluir en el envase un dispositivo de liberación adecuado. El paquete farmacéutico puede comprender píldoras, líquidos, geles, comprimidos, pastillas o la preparación farmacéutica en cualquier otra forma adecuada. El paquete puede contener cualquier número de unidades de dosificación farmacéutica diaria. El paquete puede tener cualquier forma y las formas de dosificación unitaria se pueden disponer en cualquier patrón, tal como circular, triangular, trapezoidal, hexagonal u otros patrones. Pueden indicarse una o más de las dosis o subunidades para, por ejemplo, ayudar al médico, farmacéutico o paciente, identificando dichas dosis o subunidades, tal como empleando códigos de color, etiquetas, impresiones, estampados en relieve, rasurados o patrones. El paquete farmacéutico puede también comprender instrucciones para el individuo al que se le va a administrar, el médico, el farmacéutico o cualquier otra persona relacionada con el acto de administrar la composición farmacéutica a dicho individuo.

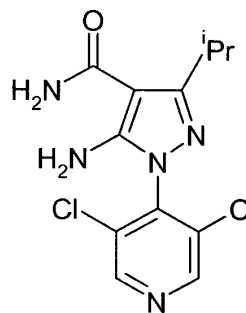
Algunas realizaciones comprenden la administración de más de un ingrediente activo, incluido el compuesto tal como se ha divulgado en el presente documento. Dicha administración se puede realizar de forma concurrente o secuencial. Los ingredientes activos se pueden formular juntos de modo que una administración libera todos los componentes. Como alternativa, los ingredientes activos se pueden formular por separado. El paquete farmacéutico puede comprender el compuesto de la presente invención y el otro ingrediente farmacéutico en una única formulación, es decir se formulan juntos, o el compuesto de la presente invención y el otro ingrediente farmacéutico en formulaciones individuales, es decir se formulan por separado. Cada formulación puede comprender el compuesto de la presente invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo y el(los) otro(s) ingrediente(s) farmacéutico(s) en cantidades de dosificación individual (en cantidades aproximadamente iguales o diferentes). La administración del compuesto de la presente invención, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un profármaco del mismo y el(los) otro(s) ingrediente(s) farmacéutico(s) normalmente es tal que resulta una concentración que es una cantidad terapéuticamente eficaz cuando está en dicha combinación.

Como se usa en el presente documento, el término "instrucciones" significa una ficha técnica, prospecto y/o documentos u otra información que describe materiales relevantes o metodologías que atañen al montaje, preparación o uso de un kit o producto farmacéutico envasado. Estos materiales pueden incluir cualquier combinación de lo siguiente: Información de fondo, etapas o procedimientos a seguir para almacenamiento, preparación o administración, listados de componentes, indicaciones de uso, dosificaciones propuestas, advertencias sobre posibles efectos secundarios, instrucciones para administrar el(los) ingrediente(s) activo(s), instrucciones en el caso de sobredosis o ineficacia, soporte técnico y cualquier otro documento relacionado. Las instrucciones se pueden suministrar en forma impresa, como en una ficha técnica o un prospecto. Las instrucciones para un producto farmacéutico envasado o una composición farmacéutica se pueden insertar en una caja o paquete terminado, por ejemplo en forma de un prospecto, y el texto del mismo puede requerir la aprobación por parte de una autoridad reguladora competente, tal como la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos. Como alternativa o de forma complementaria, las instrucciones también se pueden almacenar en forma electrónica, por ejemplo en un medio de almacenamiento legible en ordenador, tal como un dispositivo de memoria de soporte informático, una base de datos centralizada, medios magnéticos, tales como discos duros, disquetes y cintas magnéticas; medios ópticos, tales como discos compactos, CD-ROM y dispositivos holográficos; medios magneto-ópticos tales como discos ópticos; y dispositivos de hardware especialmente configurados para almacenar y ejecutar el código del programa, tal como circuitos integrados específicos de la aplicación (ASIC), dispositivos lógicos programables (PLD) y dispositivos ROM (memoria de solo lectura) y RAM (memoria de acceso aleatorio) Las instrucciones pueden comprender una dirección web de un sitio web de Internet desde el que se pueden descargar instrucciones detalladas o una presentación grabada. Las instrucciones pueden contener uno o múltiples documentos o actualizaciones futuras.

La invención además se refiere a un procedimiento de sintetizar un compuesto de la reivindicación 1 u, opcionalmente, una sal del mismo, que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto que tiene una estructura representada por la fórmula (II) con el compuesto que tiene la estructura representada por la fórmula (III),



(II)



(III)

en la que X se selecciona de O-alquilo, -O-alqueno, -O-alquino, -O-acilo, y halógeno, y, opcionalmente, hacer reaccionar el compuesto resultante con un ácido para fabricar una sal de ácido.

- 5 En una realización concreta, X es -OEt.

La invención se refiere además a un procedimiento de sintetizar una sal farmacéuticamente aceptable de la presente invención, que comprende la etapa de hacer reaccionar el compuesto de la presente invención con un ácido. En una realización concreta, el ácido es ácido clorhídrico. En otra realización concreta, el ácido es ácido maleico.

Ejemplos

- 10 El compuesto objeto se inventó tal como se describe en el Ejemplo A y se puede sintetizar como se muestra en los Ejemplos B.1 a B.8. Las sorprendentes actividades antiproliferativas del compuesto de acuerdo de la presente invención en modelos de tumor en xenoinjerto se demuestran en los Ejemplos C.1 a C.5. El ejemplo D muestra la potente inhibición de la fosforilación RNAPII en la célula por el compuesto objeto.

Ejemplo A. Identificación del compuesto de la presente invención

- 15 Los documentos WO 03/033499, WO 2004/092139 y WO 2005/063765 divulgan una serie de 1-fenil-3-isopropil-6-arilmetil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-onas, incluidas, entre otros compuestos, 1-(2,6-diclorofenil)-6-(3-hidroxi-4-pirrolidinometil-fenil)metil-3-isopropil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona (Compuesto P, véase anteriormente).

Los inventores establecieron un programa de investigación del inhibidor de CDK para encontrar un compuesto con propiedades adecuadas para un desarrollo adicional. En dicho programa, se sintetizó y analizó un número significativo de nuevos derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-onas, basado en modificaciones del patrón de sustitución como se muestra en la Tabla 1:

- 20

Tabla 1: Estrategia de derivación

Posición del sustituyente	Número de sustituyentes diferentes analizados	Ejemplos
R ₁	~ 8	2,6-diclorofenilo; 2,4,6-triclorofenilo; 3,5-dicloro-piridin-4-ilo
R ₂	~ 18	Isopropilo; etilo; ciclopropilo
M	~ 5	-CH ₂ -
R ₃	~ 95	3-hidroxi-4-pirrolidinometilfenilo; 4-pirrolidinometilfenilo

En total, se analizaron más de 170 compuestos diferentes. No obstante, en todos los casos excepto en uno, el compuesto resultante no mostró el parámetro deseado, o la combinación de parámetros, y falló con respecto a una o más de las propiedades como se muestra en la Tabla 2, de modo que se detuvo la investigación sobre dichos compuestos en el programa de investigación de inhibidor de CDK.

5

Tabla 2: Resultados de la derivación

Propiedad	Tasa de fracaso	Comentarios sobre el fracaso
Perfil de inhibición de CDK <i>in vitro</i>	> 25%	Valores CI_{50} para la inhibición de CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, CDK7 y/o CDK9 menos potentes que aproximadamente 250 nM
Perfil de inhibición celular	> 30%	Valores CI_{50} para la inhibición de un conjunto de líneas celulares modelo menos potentes que aproximadamente 2 nM para una o más líneas celulares
Perfil ADMET	> 30%	P. ej., falta de: estabilidad metabólica, biodisponibilidad, solubilidad y/o permeabilidad
Modelo de xenoinjerto in vivo	> 20%	> 5% tóxico; > 15% inactivo
Otros	~ 9%	~ 7% decisión tomada por analogía con otros compuestos estructuralmente estrechamente relacionados que habían fallado, por ejemplo observando toxicidad que parecía relacionada con una subclase estructural ~ 2% inestabilidad química

Sorprendentemente, no obstante, el compuesto objeto, Compuesto **I**, mostró parámetros significativamente mejorados para ciertas propiedades críticas e incluso mantuvo los parámetros deseados para otras propiedades importantes, cuando se comparó con el compuesto de la técnica anterior más estrechamente estructuralmente relacionado, Compuesto **P**, del siguiente modo:

10

- Sorprendentemente, el Compuesto **I** mostró una actividad significativamente más potente en diferentes modelos de tumor en xenoinjerto, incluido un modelo de xenoinjerto A2780 usando dos regímenes de dosificación diferentes comparado con el Compuesto **P** (véase el Ejemplo C);
- Parámetro ADMET de permeabilidad mejorado farmacológicamente relevante (permeabilidad de aproximadamente 70 % en un ensayo PAMPA a pH= 7,4 para el Compuesto **I** comparado con aproximadamente el 57 % para el Compuesto **P**);
- Parámetro ADMET de solubilidad mejorado farmacológicamente relevante (aproximadamente 390 mM a pH= 7,4 para el Compuesto **I** comparado con aproximadamente 210 mM para el Compuesto **P**);
- Inhibición significativa y mejorada de la proliferación en un conjunto de líneas celulares modelo de cáncer, incluidas las líneas celulares A2780, HCT-116, HT-29, HepG2, NCI/ADR-RES, OVCAR3, H460, IMR-90, T98G, A549, entre otras, con valores de CI_{50} para el Compuesto **I** que varían desde aproximadamente 800 nM a aproximadamente 10 nM (comparado con los valores de CI_{50} para el Compuesto **P** que varía entre aproximadamente 1,6 μ M a aproximadamente 16 μ M);
- Actividades inhibitoras de CDK significativas y equilibradas en ensayos bioquímicos de inhibición de quinasa *in vitro* contra CDK1, CDK2, CDK4, CDK6, CDK7 y CDK9, así como contra CDK3 y CDK5, con valores de CI_{50} para el Compuesto **I** que varían de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 2 nM que eran comparables a los del Compuesto **P** (o incluso más potentes para ciertos CDK);
- especificidad alta para CDK con actividad inhibitora baja contra un panel de quinasas no CDK;

15

20

25

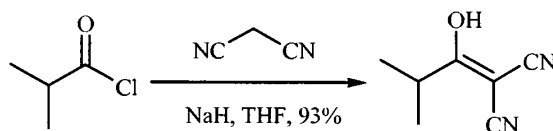
30

35

Los ensayos usados para determinar las propiedades de los inhibidores de quinasas se realizaron de acuerdo con procedimientos convencionales bien conocidos para los expertos en la técnica. Por ejemplo, los ensayos para determinar la actividad inhibitora de las CDK o en ensayos celulares se describen en los documentos WO 00/218962, WO 2005/026129, y WO 2005/063765. Los ensayos de solubilidad a pH 7,4 se realizaron esencialmente tal como han descrito Avdeef, A. in Pharmacokinetic Optimization in Drug Research; Testa, B.; van de Waterbeemd, H.; Folkers, G.; Guy, R. Eds.; Wiley-VHC: Zurich, 2001; pág. 305-326. Los ensayos de permeabilidad PAMPA a pH 7,4 se realizaron esencialmente tal como se ha descrito en Kansy y col., J. Med. Chem. 41: 1007-10, 1998.

Ejemplo B. síntesis de 6-(3-Hidroxi-4-(pirrolidinometil)fenilmetil)-3-isopropil-1-(3,5-dicloropiridin-4-il)-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona (Ejemplos B.1-B.7).

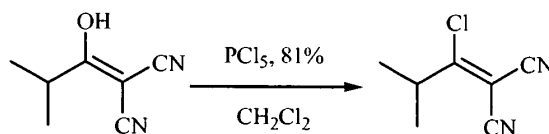
Los Ejemplos B.1-B.8 muestran con detalle las etapas para la síntesis de 1-(3,5-dicloropiridin-4-il)-6-(3-hidroxi-4-pirrolidinometil-fenil)metil-3-isopropil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona (Compuesto I) y de sales del mismo. Un experto en la técnica apreciará que también se pueden usar otras vías de síntesis. En particular, de hecho pueden aplicarse otras vías de síntesis a ciertos aspectos de la presente invención. El experto en la técnica se remite a libros de texto generales, tales como March's Advanced Organic Chemistry (Michael B. Smith & Jerry March, Wiley-Interscience, 2000), The Practice of Medicinal Chemistry (Camile G. Wermuth, Academia Press, 2003) and Protective Groups in Organic Synthesis (Theosora W. Greene & Peter G.M. Wuts; John Wiley & Sons Inc., 1999).

5 Ejemplo B.1**Síntesis de (1-Hidroxi-2-metilpropiliden)metano-1,1-dicarbonitrilo:**

15 Una solución de malonitrilo (19,8 g, 300 mmol) en THF (150 ml) se añadió, gota a gota, a una suspensión de NaH (60%, dispersión en aceite, 24 g, 600 mmol) en THF (375 ml) a 0°C. Después, la reacción se calentó hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. Después, la suspensión se enfrió hasta 0 °C y se trató gota a gota con una solución de cloruro de isobutirilo (31,4 ml, 299,7 mmol) en THF (125 ml). La adición se controló de modo que la temperatura interna no se elevara por encima de 10 °C. Tras la finalización de la adición, la reacción se calentó hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 24 horas. A continuación, la reacción se inactivó con H₂O (50ml) y se concentró a presión reducida. Después, el residuo se repartió entre EtOA (500 ml) y 5 % de HCl acuoso (300 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (250 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 ml), se secaron, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se repartió entre agua y acetonitrilo (300 ml) y hexanos (100 ml). La capa de acetonitrilo se lavó con hexanos (100 ml) y se evaporó para dar el producto deseado (38 g, rendimiento 93 %).

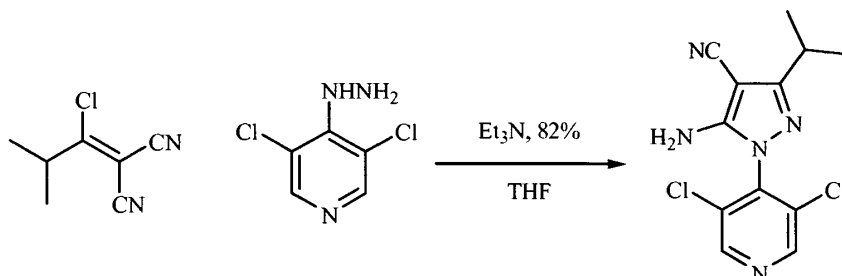
20

25

Ejemplo B.2**Síntesis de (1-cloro-2-metilpropiliden)metano-1,1-dicarbonitrilo:**

30 A una solución de (1-hidroxi-2-metilpropiliden)metano-1,1-dicarbonitrilo (38 g, 279 mmol) en CH₂Cl₂ (600 ml) se añadió pentacloruro de fósforo (63g, 302 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Después, la reacción se vertió en hielo (500 g) y se repartió entre CH₂Cl₂ (750 ml) y H₂O (500 ml). La capa acuosa se extrajo de nuevo con CH₂Cl₂ (500 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua NaHCO₃ acuoso saturado (750 ml) y salmuera (750 ml). Después, la capa orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a presión reducida, para dar el cloruro deseado (35,6 g, rendimiento 81 %).

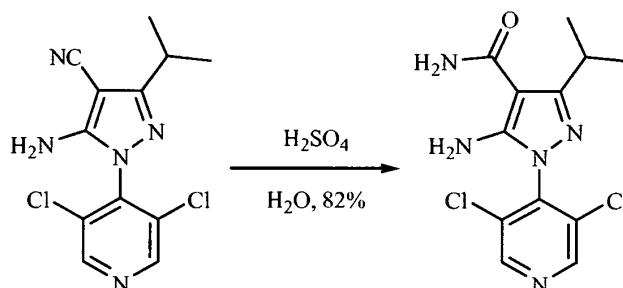
35

Ejemplo B.3**Síntesis de 5-Amino-1-(3,5-dicloropiridil)-3-isopropil-1H-pirazol-4-carbonitrilo**

5

Una solución de (1-cloro-2-metilpropiliden)metano-1,1-dicarbonitrilo (35,6 g, 230 mmol) en THF (875 ml) se trató con 3,5-dicloropiridilhidrazina (40,9 g, 230 mmol), seguido de trietilamina (23 g, 230 mmol). A continuación, la reacción se calentó hasta reflujo durante 18 horas. Después, la reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se repartió entre EtOAc (1l) y NaOH acuoso 1M (500 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 500 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua 10 % de ácido cítrico (500 ml), NaHCO_3 acuoso saturado (750 ml). La capa orgánica se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró a presión reducida, para dar el producto deseado (56 g, rendimiento 82 %).

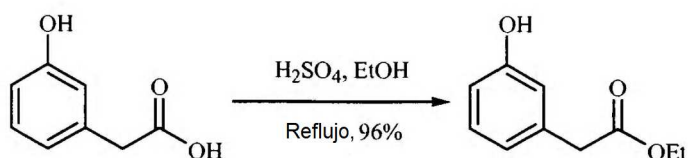
10

Ejemplo B.4**Síntesis de la amida de ácido 5-amino-1-(3,5-dicloropiridil)-3-isopropil-1H-pirazol-4-carboxílico**

15

El 5-amino-1-(3,5-dicloropiridil)-3-isopropil-1H-pirazol-4-carbonitrilo (56 g, 189 mmol) se suspendió en H_2SO_4 concentrado (160 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Después, la reacción se vertió sobre NaOH acuoso 3M (2 l) a 0°C . El sólido resultante se filtró después y se lavó con H_2O (1 l). A continuación, el producto se secó al vacío, para dar la amida deseada (49 g, rendimiento 82 %).

20

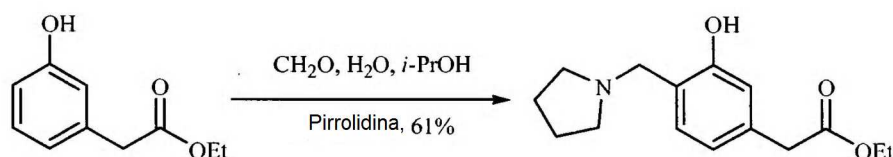
Ejemplo B.5**Síntesis del éster etílico de ácido 3-hidroxifenilacético**

25

5 A una suspensión de ácido 3-hidroxifenilacético (25,9 g, 170 mmol) en EtOH (340 ml) se añadió H₂SO₄ concentrado (2ml, 36 mmol). La mezcla de la reacción se calentó a reflujo durante 4 horas, después se enfrió hasta la temperatura ambiente. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se suspendió en EtOAc (300 ml). La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ (1 x 150 ml) acuoso saturado, salmuera (1 x 150 ml), se secó (MgSO₄ anhidro) y se concentró a presión reducida, para dar el éster en forma de un aceite incoloro (29,3 g, rendimiento 96%).

Ejemplo B.6

Síntesis del éster etílico de ácido 3-hidroxi-4-(pirrolidinometil)fenilacético



10

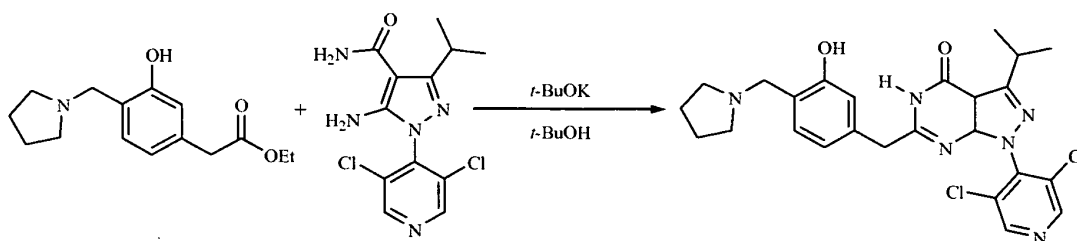
15 A una solución de éster (4,5 g, 25 mmol) y pirrolidina (3,56 g, 50 mmol) en i-PrOH (50ml) se añadió una solución acuosa de formaldehído (37 % en peso, 2,47 g, 28 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante la noche. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, los volátiles se eliminaron al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH (3-5 %) que contiene 0,25 % de NH₄OH, para dar la amina de bencilo como un aceite incoloro (5,5 g, rendimiento 84%).

15

Ejemplo B.7

Síntesis de 6-(3-Hidroxi-4-(pirrolidinometil)fenilmetil)-3-isopropil-1-(3,5-dicloropiridin-4-il)-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona (sal HCl).

20



25 A una mezcla del éster (16,0 g, 60,0mmol) y el pirazol (6,28 g, 20,0 mmol) se añadieron 120 ml de una solución 1M de terc-butóxido potásico (120,0 mmol) en alcohol terc-butílico. La mezcla resultante se agitó a 80°C durante dos horas y se monitorizó mediante HPLC. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y el alcohol terc-butílico se eliminó a presión reducida.

30 A una mezcla del éster (17,66 g, 66,2 mmol) y el pirazol (6,93 g, 22,05 mmol) se añadieron 132,4 ml de una solución 1M de terc-butóxido potásico (132,4 mmol) en alcohol terc-butílico. La mezcla resultante se agitó a 80°C durante dos horas y se monitorizó mediante HPLC. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y el alcohol terc-butílico se eliminó a presión reducida.

35 Las dos reacciones se combinaron y diluyeron con 500 ml de acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con una solución de cloruro amónico acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró a presión reducida, para dar el producto bruto. El material bruto se purificó mediante cromatografía de columna ultrarrápida eluyendo con 1,0-2,5% de MeOH/CHCl₃/NH₃·H₂O (0,1%) (el gradiente aumenta en 0,1 %), para dar el producto limpio. Se añadieron 100 ml de una solución de HCl 1M en éter. Se eliminó el disolvente y se secó al vacío, para dar 8,7 g del producto (como la sal HCl) (rendimiento 38 %).

Ejemplo B.8**Síntesis de 6-(3-Hidroxi-4-(pirrolidinometil)fenilmetil)-3-isopropil-1-(3,5-dicloropiridin-4-il)-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona (sal de ácido maleico).**

5 La 6-(3-Hidroxi-4-(pirrolidinometil)fenilmetil)-3-isopropil-1-(3,5-dicloropiridin-4-il)-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona (como la base libre, véase el Ejemplo B.7) se disolvió en alcohol isopropílico a 70 °C y se añadió una solución de ácido maleico. (1,05 equiv.) en alcohol isopropílico. La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 20 minutos, después se enfrió hasta la TA durante la noche y se filtró. El sólido resultante se añadió a H₂O, la suspensión se agitó durante 24 horas a TA y se filtró. Punto de fusión = 209 °C (mediante calorimetría diferencial de barrido); solubilidad: 2,5 µg/ml.

10 Ejemplo C: Actividad de compuestos en modelos de tumor de xenoinjerto

El compuesto objeto (Compuesto I) muestra, sorprendentemente, una significativa actividad antitumoral en una serie de modelos in vivo de cánceres humanos y, sorprendentemente, es superior en comparación con el compuesto de la técnica anterior (Compuesto P). Esta sorprendente actividad se demostró tras la administración oral de los compuestos en una serie de experimentos de xenoinjerto murino controlados realizados como se describe más adelante.

Metodología:

15 Modelos de tumor en xenoinjerto: 100 ratones hembra atímicos nu/nu (6-8 semanas de edad) de CRL se dejaron aclimatar durante 4 días. Las células para cada respectivo tipo de tumor (células de tumor de ovarios A2780 humano (ATCC), células de carcinoma de colon HCT116 (ATCC) y NSCLC H460 (ATCC), según sea adecuado) se cultivaron en medio RPMI 1640 (Gibco) suministrado con 15 mg/ml de insulina, 10 % de FCS y 1 % de Pen/Estrept. Para estos experimentos se usó el 3^{er} pase de las células con aproximadamente un 90 % de confluencia. Brevemente, el día 0 se inoculó a los ratones 0,1 ml (total 5x10⁶ células) del respectivo tipo celular como una suspensión celular (50x10⁶ células/ml) mediante inyección subcutánea en el área de la almohadilla grasa cerca de la glándula mamaria con anestesia suave. Cuando el peso medio del tumor en todos los ratones alcanzó más de 100 mg (día 10) se seleccionaron 80 animales con un tamaño medio del tumor de 130 mg y se dividieron aleatoriamente en 8 grupos.

Para el tratamiento oral se usó una aguja de 20 G. La formulación de cada compuesto fue como se ha descrito en los resultados. El volumen de administración fue 0,2 ml por 20 g de peso corporal, excepto por el grupo de Cytosan (ciclofosfamida) (control positivo) a los que se administraron dosis *i.p.* como 0,1 ml por 20 g de peso corporal.

20 El crecimiento del tumor y el peso corporal se monitorizaron y registraron tres veces a la semana. Los tumores se midieron determinando la longitud y anchura del tumor con un compás digital. El peso del tumor se estimó usando la fórmula siguiente: Peso del tumor (mg) = (w² x l) x 0,52, en la que w = anchura y l = longitud en mm del tumor. El % de Inhibición del crecimiento tumoral (ICT) se calcula del siguiente modo: % ICT = 100(1-T/C), en la que T es el tamaño medio del tumor de un grupo tratado con el compuesto un día determinado y C es el tamaño medio del tumor del grupo control con vehículo el mismo día.

35 El tratamiento experimental puede causar regresión parcial (RP) o regresión completa (RC) de tumores. La RP se define cuando el tamaño del tumor es del 50 % o menor que el tamaño inicial (día 1) pero superior a 0,0 mg para tres mediciones consecutivas durante el curso del estudio. La RC se produce cuando no hay masa tumoral mensurable para tres mediciones consecutivas. Las curaciones se definen cuando la RC se mantiene hasta la finalización del experimento.

40 Se sacrificó a los ratones cuando sus tumores alcanzaron el volumen final de 1000 mm³. La eficacia del tratamiento se determinó como el Log Cell Kill (LCK). El LCK es un cálculo que determina el porcentaje de células tumorales que probablemente hayan muerto tras el inicio del tratamiento y se pueden usar como medida cuantitativa de la eficacia: $LCK = (T-C) / (3,32)(T_d)$ en la que T = el tiempo estimado requerido para que el grupo de tratamiento de ratones alcance un tamaño del tumor de 1000 mg, C = tiempo estimado requerido para que los tumores del grupo control alcancen un tamaño de 1000 mg, T_d = tiempo de duplicación del tumor estimado de los tumores del grupo control durante el crecimiento exponencial y 3,32 = el número de duplicaciones requerido para que una población aumente 1-log₁₀ unidad. Cada unidad de LCK representa -log₁₀ unidad de muerte celular (p. ej., 1 LCK = 90% muertes, 2 LCK = 99% muertes, etc.)

50 Las muertes tóxicas se definen como las muertes causadas por el tratamiento con el compuesto y no por el avanzado estado de la enfermedad. Una muerte se considera tóxica si el animal muere en las 2 semanas posteriores al último tratamiento con el compuesto y el tamaño del tumor no ha alcanzado los 1000 mg. Transcurrido este punto se registraron muertes no relacionadas con tumores, pero no se consideran muertes tóxicas.

55 Análisis de datos: Las estimaciones y los intervalos de confianza del 95 % para LCK se determinaron usando un procedimiento de remuestreo. Brevemente, las distribuciones empíricas de T y T_d derivaron de B = 1000 realizaciones de selección aleatoria de n animales individuales con sustitución del grupo i = 1, ..., n del grupo

5 adecuado de ratones que contiene n animales evaluables, estimando un tamaño medio del tumor para dicha selección de animales para cada punto de tiempo y análisis de regresión lineal de un gráfico semi-log de dichos medios frente al tiempo. Los ratones muertos y los ratones sin tamaño de tumor medible se trataron como datos perdidos y se ignoraron a la hora de calcular la media. Se determinaron la media y la desviación estándar de las distribuciones empíricas de las 1000 realizaciones, de las que se determinaron una estimación de LCK y los intervalos de confianza del 95 % para dicha estimación.

10 Se usó una prueba de permutaciones no paramétrica con ciertas comparaciones pareadas de grupos de tratamiento (o tratamiento del control) con el fin de realizar una prueba más precisa de la significación de cualquier diferencia observada entre dos grupos k e l. Brevemente, el valor de $|T_k - T_l|$ se compara con la distribución de los valores $|T_k^{(b)} - T_l^{(b)}|$ que se obtienen si los animales se permutan de forma aleatoria entre los dos grupos muchas veces. T_k es el tiempo estimado para el grupo k de ratones que alcanzan un tamaño de tumor de 1000 mg. Si $|T_k - T_l|$ es más grande que el percentil 90 de $(|T_k^{(b)} - T_l^{(b)}|; b= 1...B)$, la hipótesis nula de que $T_k = T_l$ se puede rechazar a un intervalo de confianza del 10 %.

Resultados:

15 **Ejemplo C.1**

Modelo de cáncer de ovarios (línea celular A2870)- administración oral dos veces al día

20 Se diseñó un ensayo comparativo de acuerdo con el protocolo resumido en la tabla siguiente, con la dosis equivalente sin base indicada en corchetes. El Compuesto P (como sal de ácido clorhídrico) se formuló en 30 % de PEG300/70% de agua y el Compuesto I (como sal de ácido clorhídrico) se formuló en 20 % de PEG300/80% de D5W (5% de agua con dextrosa) y se administraron mediante sonda oral dos veces al día durante 10 días (bidx10), mientras que el control Cytoxan, que se administró i.p. en solución salina cada dos días durante un periodo de 10 días (c2dx5):

Grupo	Tratamiento	N	Dosis (mg/kg, po)	Posología
A	Vehículo (30% PEG300/70% agua)	10	----	bidx10
B	Cytoxan	10	100, ip	q2dx5
C	Compuesto P	10	15 [14]	bidx10
D	Compuesto P	10	30 [28]	bidx10
E	Compuesto P	10	50 [47]	bidx10
F	Compuesto I	10	15 [14]	bidx10
G	Compuesto I	10	32 [30]	bidx10
H	Compuesto I	10	48 [45]	bidx10

25 El tiempo de duplicación *in vivo* de las células A2780 en este experimento se estimó en 2,1 días. Datos representativos se muestran en la Figura 1 y un resumen de los resultados se tabula a continuación:

Grupo	Tratamiento	% máx. de pérdida de PC (d)	Mortalidad tóxica	Mortalidad			% ICT máx. (d)	LCK ± IC (95%) (Td: 2,1d)
				RP	RC	Curación		
B	Cytoxan	5,9 (10)	0	5	5	0	98 (13)	3,56 ± 0,43
C	P-15 mg	0(6)	0				34 (10)	0,20 ± 0,16
D	P-30 mg	0,1(10)	0				54 (10)	0,44 ± 0,19
E	P-50 mg	4,7(15)	0				81 (13)	1,06 ± 0,48
F	I-15 mg	0 (6)	0				47 (10)	0,29 ± 0,23
G	I-32 mg	4,8(15)	0				81 (13)	1,72 ± 0,89
H	I-48 mg	15,9 (15)	0	5	1	3	97 (13)	3,38 ± 0,81

30 El sorprendente incremento de la actividad antitumoral del Compuesto I se muestra por una LCK para un grupo de tratamiento que es, en cada caso, mayor que la del grupo tratado con una dosis correspondiente del Compuesto P. En la Figura 2 se muestra un gráfico log-lineal de los valores ajustados tras la regresión lineal, que demuestra adicionalmente el sorprendente incremento de la eficacia del Compuesto I con respecto al Compuesto P. En términos de los ratones individuales, al la dosis más elevada del Compuesto I, no sólo se observaron respuestas parciales y completas del crecimiento del tumor, sino que también una serie de ratones individuales se curaron totalmente. Es decir, el compuesto objeto (al contrario que el compuesto de la técnica anterior o incluso que el control positivo) era capaz de reducir el tamaño del tumor por debajo de un nivel detectable para toda la duración del

experimento.

De hecho, el análisis pareado de ciertos grupos de ratones mediante la prueba de permutación, para analizar si se podía rechazar la hipótesis nula de no haber diferencia en la actividad entre dos grupos, es decir de haber una diferencia significativa en los grupos LCK teniendo en cuenta la variabilidad realmente observada en el experimento (véase más adelante), mostró que el Compuesto I mostraba un incremento muy significativo de la actividad frente al Compuesto P (a excepción de la menor dosis para la que no se observó una diferencia significativa, aunque incluso a esta dosis baja, el Compuesto I fue significativamente activo comparado con el grupo control A). Incluso más sorprendente fue que a la dosis más alta (grupo H), el Compuesto I fue muy activo de forma equivalente al control positivo Cytoxan (grupo), y que la dosis más alta del Compuesto P (grupo E) tenía menor LCK que la de la dosis media del Compuesto I (grupo G), aunque la sensibilidad del análisis no fue capaz de rechazar la hipótesis nula a este nivel de significación.

Grupos	Comparación	Estimaciones LCK	Prueba de permutación Valor p	P<0,10
C-F	P-15 vs I-15	0,20vs 0,29	0,418	-
D-G	P-30 vs I-32	0,44 vs 1,72	0,008	rechazada
E-H	P-50 vs I-48	1,06 vs 3,38	0,035	rechazada
A-F	Vehículo vs I-15	0,0 vs 0,29	0,003	rechazada
B-H	Cytoxan vs I-50	3,56 vs 3,38	0,550	-
E-G	P-50 vs I-32	1,06 vs 1,72	0,180	

Ejemplo C.2

Modelo de cáncer de ovarios (línea celular A2870)- administración oral diaria

Se diseñó un ensayo comparativo de acuerdo con el protocolo resumido en la tabla siguiente, con la dosis equivalente sin base indicada en corchetes. El Compuesto I y el Compuesto P se formularon como se ha indicado antes y se administraron p.o. todos los días durante 10 días (cdx10). A los ratones del grupo B se administró un compuesto conocido como R547 (DePinto y col., Mol. Cancer Ther. 5: 2644-2658, 2006) formulado en 20% de DMA/30% de PEG 300/50% agua.

Grupos	Tratamiento	N	Dosis (mg/kg, po)	Posología
A	Vehículo (20% de DMA/30% de PEG 300/50% de agua)	10	---	cdx10
B	R547	10	100	cdx1*
C	Compuesto P	10	40 [37]	cdx10
D	Compuesto P	10	70 [65]	cdx10
E	Compuesto P	10	100 [93]	Cdx9*
F	Compuesto I	10	32 [30]	cdx10
G	Compuesto I	10	63 [59]	cdx10
H	Compuesto I	10	95 [89]	cdx7***

Notas: * la posología inicial era cdx10, pero 5/10 ratones murieron después de la 1ª dosis

** un ratón murió tras la 9ª dosis

** un ratón murió tras la 7ª dosis

20

El tiempo de duplicación *in vivo* de las células A2780 en este experimento se estimó en 1,7 días. Datos representativos se muestran en la Figura 3 y un resumen de los resultados se tabula a continuación:

Grupo	Tratamiento	% máx. de pérdida de PC (d)	Mortalidad tóxica	% ICT máx. (d)	LCK ± IC (95%)(T _d : 1,7d)
B	R547	7,5(9)	5/10	68,5 (11)	1,05 ± 0,56
C	P-40 mg	1,3 (13)	0	46,2 (11)	0,34 ± 0,21
D	P-70 mg	4,1(13)	0	61,1(11)	0,75 ± 0,46
E	P-100 mg	18,6 (13)	1/10	83,9 (11)	1,78 ± 0,56

Grupo	Tratamiento	% máx. de pérdida de PC (d)	Mortalidad tóxica	% ICT máx. (d)	LCK ± IC (95%)(T _d : 1,7d)
F	I-32 mg	3,5 (13)	0	52,2 (11)	0,44 ± 0,24
G	I-63 mg	4,3 (13)	0	67,3 (11)	0,93 ± 0,39
H	I-95 mg	16,3(13)	1/10	86,2(11)	2,16 ± 0,44

5 El Compuesto **I** muestra un incremento general de la actividad antitumoral, estimado mediante el LCK, para cada dosis en comparación con la dosis correspondiente del Compuesto **P**. El análisis pareado de ciertos grupos de ratones mediante en análisis de permutaciones (véase más adelante) mostró que el Compuesto **I** mostraba una actividad significativamente mayor que el Compuesto **P** a la dosis más alta, mientras que la superioridad generalmente observada del Compuesto **I** sobre el Compuesto **P** no pudo concluirse de forma significativa usando esta rigurosa prueba, que no pudo rechazar la hipótesis nula a este nivel de significación para las 2 dosis menores.

Grupos	Comparación	Estimaciones LCK	Prueba de permutación	
			Valor p	P<0,10
C-F	P-40 vs I-32	0,34 vs 0,44	0,322	-
D-G	P-70 vs I-63	0,75 vs 0,93	0,423	-
E-H	P-100 vs I-95	1,78 vs 2,16	0,068	rechazada

Ejemplo C.3

10 Modelo de cáncer de pulmón (línea celular H460)- administración oral diaria

El diseño de estudio se muestra en la tabla siguiente, con la dosis equivalente sin base indicada en corchetes. El Compuesto **I** y el Compuesto **P** se formularon como se ha indicado antes y se administraron p.o. todos los días durante 10 días (cdx10). A los ratones del grupo B se administró R547 (formulado como antes) cada dos días en 10 días (c2dx5).

Grupo	Tratamiento	N	Dosis (mg/kg, po)	Posología
A	Vehículo (30% PEG300/70% agua)	10	----	cdx10
B	R547	10	40	c3dx5
C	Compuesto P	10	40 [37]	cdx10
D	Compuesto P	10	70 [65]	cdx10
E	Compuesto P	10	100 [93]	cdx10
F	Compuesto I	10	32 [30]	cdx10
G	Compuesto I	10	63 [59]	cdx10
H	Compuesto I	10	95 [89]	cdx10

15

El tiempo de duplicación *in vivo* de las células H460 en este experimento se estimó en 2,6 días. Datos representativos se muestran en la Figura 4 y un resumen de los resultados se tabula a continuación:

Grupo	Tratamiento	% máx. de pérdida de PC (d)	Mortalidad tóxica	% ICT máx. (d)	LCK ± IC (95%)(T _d : 2,6d)
B	R547	1,3 (8)	1/10	47,5 (13)	0,48 ± 0,20
C	P-40 mg	1,0 (8)	0	29,6 (13)	0,22 ± 0,12
D	P-70 mg	0	0	33,9 (13)	0,26 ± 0,12
E	P-100 mg	7,4 (13)	0	48,7 (13)	0,54 ± 0,17
F	I-32 mg	0	0	30,7(13)	0,26 ± 0,15
G	I-63 mg	4,7(15)	0	43,1(13)	0,48 ± 0,15
H	I-95 mg	12,5 (15)	2/10	57,1 (13)	0,97 ± 0,25

20 El sorprendente incremento de la actividad antitumoral del Compuesto **I** se muestra por una LCK para un grupo de tratamiento que es, en cada caso, mayor que la del grupo tratado con una dosis correspondiente del Compuesto **P**. De hecho, el análisis pareado de ciertos grupos de ratones mediante en análisis de permutaciones (véase más adelante) mostró que el Compuesto **I** mostraba una actividad significativamente mayor que el Compuesto **P** (a

excepción de la dosis más baja, para la que no se observó una diferencia significativa; aunque incluso a esta dosis baja el compuesto I estaba significativamente activo en comparación con el grupo control A). Incluso más sorprendente fue que a la dosis más alta (grupo H), el Compuesto I fue significativamente más activo que el grupo control positivo (grupo B), y que la dosis más alta del Compuesto P (grupo E) solo tenía una LCK equivalente a la de la dosis media del Compuesto I (grupo G).

5

Grupos	Comparación	Estimaciones LCK	Prueba de permutación	
			Valor p	P<0,10
C-F	P-40 vs I-32	0,22 vs 0,26	0,7	-
D-G	P-70 vs I-63	0,26 vs 0,48	0	rechazada
E-H	P-100 vs I-95	0,48 vs 0,97	0	rechazada
A-F	Vehículo vs I-32	0,00 vs 0,26	0	rechazada
B-H	R547 vs I-95	0,48 vs 0,97	0	rechazada
E-G	P-100 vs I-63	0,54 vs 0,48	0,4	-

Ejemplo C.4

Modelo de cáncer de colon (línea celular HCT116) administración oral diaria

Se diseñó un ensayo comparativo de acuerdo con el protocolo resumido en la tabla siguiente, con la dosis equivalente sin base indicada en corchetes. El Compuesto I y el Compuesto P se formularon como se ha indicado antes y se administraron p.o. todos los días durante 10 días (cdx10). A los ratones del grupo B se administró R547 (formulado como una suspensión en 6 % de Cremophor EL®/40% PEG300/54% Solución salina) p.p cada todos los días durante 10 días,

10

Grupo	Tratamiento	N	Dosis (mg/kg, po)	Posología
A	Vehículo (6% Cremophor EL®/40% PEG300/54% Solución salina)	10	----	cdx10
B	R547	10	100	cdx10
C	Compuesto P	10	40 [37]	cdx10
D	Compuesto P	10	70 [65]	cdx10
E	Compuesto P	10	100 [93]	cdx10
F	Compuesto I	10	31,6 [29,5]	cdx10
G	Compuesto I	10	63,3 [59,1]	cdx10
H	Compuesto I	10	95 [89]	cdx10

El tiempo de duplicación *in vivo* de las células HCT116 en este experimento se estimó en 6,8 días. Datos representativos se muestran en la Figura 5 y un resumen de los resultados se tabula a continuación:

15

Grupo	Tratamiento	% máx. de pérdida de PC (d)	Mortalidad tóxica	% ICT máx. (d)	LCK ± IC (95%)(Td: 6,8d)
B	R547	14,5 (12)	3/10	72,8 (16)	0,70 ± 0,28
C	P-40 mg			36,2 (20)	0,23 ± 0,11
D	P-70 mg			50,2 (32)	0,41 ± 0,22
E	P-100 mg	17,3 (16)	1/10	60,1 (16)	0,38 ± 0,13
F	I-32 mg			32,7 (32)	0,21 ± 0,08
G	I-63 mg	3,2 (16)		58,5 (32)	0,51 ± 0,17
H	I-95 mg	10,2 (16)	1/10	68,4 (20)	0,60 ± 0,17

20

El Compuesto I muestra un incremento general de la actividad antitumoral, estimado mediante el LCK, para cada dosis (aparte de la dosis menor) en comparación con la dosis correspondiente del Compuesto P. El análisis pareado de ciertos grupos de ratones mediante en análisis de permutaciones (véase más adelante) mostró que el Compuesto I mostraba una actividad significativamente mayor que el Compuesto P a la dosis más alta, mientras que la superioridad general del Compuesto I sobre el Compuesto P no pudo concluirse de forma significativa usando esta rigurosa prueba, que no pudo rechazar la hipótesis nula a este nivel de significación para las 2 dosis menores.

Grupos	Comparación	Estimaciones LCK	Prueba de permutación	
			Valor p	P<0,10
C-F	P-40 vs I-32	0,23 vs 0,21	0,721	-
D-G	P-70 vs I-63	0,41 vs 0,51	0,381	-
E-H	P-100 vs I-95	0,38 vs 0,60	0	rechazada

Ejemplo C.5: Actividad del compuesto objeto en modelos in vivo de otros cánceres humanos.

El compuesto objeto (Compuesto I) muestra una sorprendente e inesperada actividad en otros modelos de cáncer humano. Esta sorprendente actividad se demostró tras la administración i.v. o p.o. de los compuestos en experimentos de xenoinjerto murino controlados que se pueden realizar como se ha descrito anteriormente. Los tipos de tumor para analizar incluyen: PC3 (próstata) y A2780 (pulmón). Los experimentos se realizan como se ha descrito anteriormente, a excepción de que se usa la línea celular tumoral adecuada y los compuestos del estudio pueden administrarse, en ciertos experimentos, por vía intravenosa (i.v.) y según se ha formulado adecuadamente.

Ejemplo D: Potente inhibición de la fosforilación RNAPII en la célula por el compuesto objeto

Los inventores han descubierto de forma sorprendente un mecanismo nuevo de acción para la actividad antiproliferativa del compuesto objeto en una serie de líneas de células tumorales humanas. Al contrario de lo que se conoce en la técnica para 1-fenil-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-onas (véanse los documentos WO 00/021926; WO 03/033499; WO 2004/092139; WO 2005/063765; WO 2004/092139; WO 2005/063765; Caligiuri y col., Chem Biol. 12: 1103-15, 2005; Rossi y col., Comput. Aided Mol. Des. 19: 111-22, 2005; Markwalder y col., J. Med. Chem. 47: 5894-911, 2004)., el compuesto objeto I demostró un mecanismo previamente desconocido de la actividad celular, del siguiente modo: El compuesto I mostró una capacidad pronunciada y consistentemente potente para inhibir la fosforilación celular de RNAPII (dirigida por la actividad CDK9) en un panel de modelos de células tumorales de mamífero, mientras que, en contraste con la fosforilación celular de Eg-5 y Rb (dirigida por actividad CDK1 y CDK4/6 respectivamente) fue inhibida con menos fuerza y con mucha más variabilidad. De hecho, la inhibición celular de la fosforilación RNAPII dependiente de CDK9 se correlacionó mejor con la inhibición de la actividad antiproliferativa por el compuesto I que la inhibición celular de la fosforilación del sustrato dependiente de CDK1 o CDK4/6.

Metodología:

La fosforilación dependiente de CDK de los sustratos siguientes se investigó en células de cáncer tras el tratamiento con el compuesto I y R547 (DePinto y col., Mol Cancer Ther. 5: 2644-2658; 2006): (i) Fosforilación de Eg-5 dependiente de CDK1 en la treonina 927 (Blangy y col., 1995, Cell, 83(7): 1159-1169); (ii) Fosforilación de Rb específica de CDK4/6 en la serina 780 (Zarkowska & Mitnacht, J Biol Chem. 272(19): 12738-12746 1997; Connell-Crowley y col., Mol Biol Cell. 8 (2): 287-301 1997; Kitagawa y col., 1996, . EMBO J. (15) 24: 7060-7069; Schmitz y col., 2006, Am J Pathol. 169(3): 1074-1079; Baughn, 2006, Cancer Res. 66: 7661-7667); (iii) Fosforilación de ARN polimerasa II (RNAPII) específica de CDK9 en la serina 2 (Kim y col., 1997, J Cell Biol. 136(1): 19-28). Este conjunto de ensayos representa las CDK implicadas en la progresión del ciclo celular CDK1, 4/6), y la "CDK reguladora" (CDK9) que está implicada en la regulación de la transcripción.

Las siguientes líneas de células cancerosas se investigaron en el curso de estos estudio. A2780 (ovarios), HCT116 (colon), RPMI8226 (mieloma), SKMel28 (melanoma), Colo205 (colorrectal), MDA-MB-435 (melanoma), MDA-MB-453 (mama, carcinoma), MDA-MB-468 (mama, adenocarcinoma), A549 (pulmón), Raji (linfoma, Burkitt). Las líneas celulares se obtuvieron de depósitos públicos. Las células se trataron a varias concentraciones del compuesto I R547 durante 1h (fosforilación de Eg-5 y Rb) o 3 horas (fosforilación de la RNA polimerasa II), el grado de fosforilación del sustrato medida mediante análisis de inmunotransferencia y los valores de CI₅₀ se determinaron tras la cuantificación de las señales tal como se ha descrito más adelante. La figura 6 muestra un ejemplo del nivel dependiente de la dosis de fosforilación de RNAPII en las células HCT166 en tratamiento con el compuesto I detectado usando el procedimiento descrito.

Fosforilación de ARN polimerasa II (RNAPII) específica de CDK9 en la serina 2 (Ser2). Las células asincrónicas se trataron con una concentración adecuada del compuesto de análisis o DMSO como control. Tras una incubación de 3 horas (37 °C/5% CO₂) las células se lisaron con t ampón de lisis CLB-1 (Zeptosense, Suiza), el lisado se aclaró mediante centrifugación (10 minutos, 13000 rpm, TA) y se sometió a SDS-PAGE. La proteína total se pasó a membranas de PVDF y se analizó usando los anticuerpos contra RNAPII S2-fosforilada (H5; Covance) o la RNAPII total (N-20; Santa Cruz) como control de la expresión. La visualizaciones se realizó usando anticuerpos acoplados a Alexa680-o IR800 (Molecular Probes) contra colas Fc frente a ratón o conejo en el Odyssey-system (Licor). Se cuantificaron las bandas específicas y se estimaron los valores CI₅₀ de inhibición de la fosforilación de RNAPII-

Fosforilación de Eg-5 dependiente de CDK1 en la treonina 927 (Thr927phos). La Thr927phos se investigó deteniendo las células durante la noche en la fase G2/M con 25 ng/ml de nocodazol (concentración final optimizada), seguida de tratamiento con DMSO como control o una concentración adecuada del compuesto de análisis durante 1 hora. Tanto

las células desprendidas como las adheridas se recogieron y se lisaron con tampón de lisis CLB-1 ; el lisado se aclaró mediante centrifugación y se sometió a SDS-PAGE. Las proteínas se pasaron a membranas de PVDF y se analizaron después usando los anticuerpos contra Eg-5 total (Becton Dickinson) y Eg-5 Thr927phos (Biolegend). La visualización y la estimación de los valores de CI_{50} se realizaron como antes.

- 5 Fosforilación de Rb on específica de CDK4/6 en la serina 780 (Ser780phos). Las células asíncronas en crecimiento se trataron con una concentración adecuada del compuesto de análisis o DMSO durante 1 hora. Las proteínas se extrajeron usando el kit de proteínas AllPrep RNA/ Proteína según las instrucciones del fabricante (Qiagen, Alemania). Rb se inmunoprecipitó durante la noche usando el anticuerpo Ab05 (Oncogene Inc.). Las proteínas se separaron mediante SDS-PAGE, se pasaron a membranas de PVDF y se analizaron con anticuerpos contra las proteínas Rb fosforiladas en Ser 780 o totales (sc-102; Santa Cruz) (Señalización celular). La visualización y la cuantificación se realizaron como antes.

Resultados:

Las tablas siguientes muestran los valores de CI_{50} para la inhibición de la fosforilación del sustrato para CDK1, CDK4/6 y CDK9 mediante el compuesto I o R547.

Línea celular	Compuesto I		R547
	CI_{50} (uM) –Fosforilación de RNAPII		CI_{50} (uM) –Fosforilación de RNAPII
A2780	~0,1		~0,1
HCT116	~0,1		~0,3
RPMI8226	~0,1		~0,5
Sk-mel-28	~0,1		~0,3
Colo205	~0,1		~0,5
MDA-MB-468	~0,1		~0,3

- 15 En contraste, el compuesto I muestra un grado mayor de variabilidad en su potencia de la fosforilación de Eg-5 dependiente de CDK1 comparado con las CI_{50} relativamente consistentes de los mismos ensayos con R547. Esta consistencia muestra que los ensayos son fiables *per se*. En ensayos bioquímicos, R457 es un inhibidor de CDK1 más potente que el compuesto I (LAS CI_{50} para CDK1 están entre aproximadamente 1 y 10 nM y entre aproximadamente 10 y 50 nM, respectivamente).

Línea celular	Compuesto I		R547
	CI_{50} (uM) –Fosforilación de Eg-5		CI_{50} (uM) –Fosforilación de Eg-5
A2780	~0,5		~0,1
HCT116	~3		~0,1
RPMI8226	>1		~0,05
Colo205	~1		~0,05
MDA-MB-435	~0,5		~0,1
MDA-MB-453	~1		~0,1
A549	> 1		~0,03
Raji	> 1		~0,1

- 25 La variabilidad de la potencia comparada con R547 también se ve en la potencia de la inhibición de la fosforilación de Rb dependiente de CDK4/6. R547 es un inhibidor de CDK4 and CDK6 moderadamente más potente (CI_{50} para CDK4 y CDK6 en ambos casos aproximadamente 10 nM) que el compuesto I (CI_{50} para CDK4 y CDK6 aproximadamente 50 nM y entre 10 y 50 nM respectivamente).

Línea celular	Compuesto I		R547
	CI_{50} (uM) –Fosforilación de Rb-5		CI_{50} (uM) –Fosforilación de Rb-5
A2780	~1		~0,01
HCT116	~5		~0,1
RPMI8226	~5		~0,3
Sk-mel-28	~3		~0,1
Colo205	~1		~0,1
MDA-MB-435	~3		~0,3

Cuando se compararon con las CI_{50} de proliferación celular por el compuesto I (determinado por los procedimientos ya descritos), la correspondiente CI_{50} para inhibición celular de la fosforilación de RNAPII dependiente de CDK9 es aproximadamente similar. Esto contrasta con la CI_{50} mucho más variable y en muchos casos menos potente para la fosforilación del sustrato de CDK1 o CDK4/6.

CI50 (uM) – Compuesto I	Proliferación celular	CDK1 Fosforilación de Eg-5	CDK4/6 Fosforilación de Rb	CDK9 Fosforilación de RNAPII
A2780	~ 0,1	~ 1	~ 0,5	~ 0,1
HCT116	~ 0,1	~ 3	~ 5	~ 0,1
Sk-mel-28	~ 0,3	n.d.	~ 3	~ 0,1
Colo205	~ 0,1	~ 1	~ 0,1	~ 0,1
MDA-MB-468	~ 0,3	n.d.	n.d.	~ 0,1

5

Sin desear quedar ligado a teoría alguna, estos datos sugieren la sorprendente hipótesis de que la actividad citotóxica del compuesto I en modelos de células de mamífero de cáncer humano está mediada por al menos la inhibición de la actividad CDK9 y, en ciertas situaciones con menor inhibición concomitante de la actividad de CDK1, CDK4 o CDK6.

10 **Ejemplo E: Selección y desarrollo de composiciones farmacéuticas**

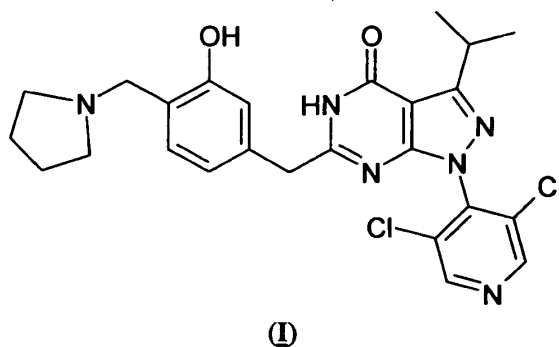
Con el fin de (i) seleccionar la forma de ingrediente activo más adecuada, es decir el compuesto I como tal, una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto I, el profármaco del compuesto I, para entrar en experimentos adicionales y evaluar su idoneidad para uso en una composición terapéutica para el tratamiento de trastornos y enfermedades, tales como cáncer; (ii) seleccionar la composición farmacéutica más adecuada que incluye el ingrediente activo identificada de este modo y (iii) seleccionar la indicación más adecuada para usar dicha composición farmacéutica, se recogen datos adicionales. Dichos datos pueden incluir la inhibición in vitro de la proliferación en un panel de líneas de células tumorales e inhibición de crecimiento tumoral o datos de reducción y datos de supervivencia de modelos de animales in vivo. Además, dichos experimentos también pueden incluir la aclaración y/o determinación del mecanismo de acción del compuesto objeto, la diana o el perfil diana del compuesto objeto y las otras características del compuesto objeto, tal como la afinidad de unión del compuesto por la(s) diana(s) o el sitio de unión del compuesto en la(s) diana(s) y las propiedades farmacocinéticas. Dichos experimentos también pueden incluir modelación molecular de la interacción fármaco-diana y la identificación de los metabolitos formados tras la administración, o identificación, del agente activo.

El ingrediente activo y/o la composición farmacéutica que incluye dicho ingrediente activo que muestra los resultados más adecuados, incluidos los resultados para la inhibición de la proliferación celular, se puede escoger un espectro de varias líneas de células tumorales, inhibición de crecimiento tumoral o datos de reducción del tumor y/o datos de supervivencia de los animales, y/u otras características, incluidas las propiedades ADMET, farmacocinéticas y farmacodinámicas, para entrar en experimentos adicionales. Dichos experimentos pueden incluir, por ejemplo, perfil terapéutico y toxicología en animales, ensayos clínicos de fase I en seres humanos y otros ensayos clínicos.

30

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que es (i) el compuesto de fórmula (I)



5

o (ii) un tautómero del compuesto de (i)

2. Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 1, particularmente una sal clorhidrato o sal maleato de un compuesto de la reivindicación 1.

10 3. Un profármaco de un compuesto de la reivindicación 1, o de la sal farmacéuticamente aceptable de la reivindicación 2, en el que el profármaco es (i) un derivado acetato, formiato o benzoato del grupo fenólico-hidroxi o (ii) un derivado N-aciloxialquilpiridinio.

4. Una composición farmacéutica que incluye (i) un ingrediente activo seleccionado de: un compuesto de la reivindicación 1, una sal farmacéuticamente aceptable de la reivindicación 2 y un profármaco de la reivindicación 3; y (ii) un diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, que se formula (i) para administración oral o (ii) para administración intravenosa.

6. La composición farmacéutica de la reivindicación 4 o 5, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho ingrediente activo.

20 7. La composición farmacéutica de la reivindicación 6, formulada para la administración a un individuo que lo necesite, particularmente en la que dicha administración se realiza en un individuo que sufre un cáncer.

8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en la que dicho individuo es un ser humano.

25 9. Un ingrediente activo (a) seleccionado de: un compuesto de la reivindicación 1, una sal farmacéuticamente aceptable de la reivindicación 2, y un profármaco de la reivindicación 3; o (b) una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, para usar en el tratamiento de un individuo que sufre un cáncer, particularmente en la que dicho individuo es un mamífero seleccionado del grupo que consiste en: mamíferos domésticos, roedores y seres humanos, particularmente en la que dicho individuo es un ser humano.

30 10. Un procedimiento para matar o inhibir la proliferación o crecimiento de una célula tumoral, que comprende poner en contacto dicha célula tumoral con un compuesto de la reivindicación 1 o una sal del mismo, en el que dicha célula tumoral se expone a dicho compuesto o sal del mismo in vitro, particularmente en el que dicha célula tumoral es una célula maligna de un individuo.

11. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que dicho individuo es un mamífero seleccionado del grupo que consiste en: mamíferos domésticos, roedores y seres humanos, particularmente en la que dicho individuo es un ser humano.

35 12. Un ingrediente activo (a) seleccionado de: un compuesto de la reivindicación 1, una sal farmacéuticamente aceptable de la reivindicación 2, y un profármaco de la reivindicación 3; o (b) una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, para usar en el tratamiento de un individuo que sufre un trastorno o enfermedad asociada con la actividad de una o más quinasas dependientes de ciclina seleccionadas de: CDK1, CDK2, CDK4, CDK7 and CDK9, particularmente en el que dicho trastorno o enfermedad es un cáncer.

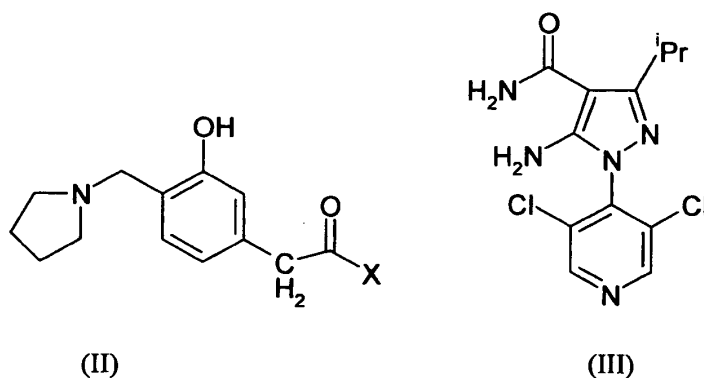
40 13. El ingrediente activo o la composición farmacéutica de la reivindicación 12, en el que dicho trastorno o enfermedad está asociado con la actividad de CDK9.

14. El ingrediente activo o la composición farmacéutica de la reivindicación 12 o 13, en el que dicho individuo es un mamífero seleccionado del grupo que consiste en: mamíferos domésticos, roedores y seres humanos, particularmente en la que dicho individuo es un ser humano.

5 15. Uso de un ingrediente activo (a) seleccionado de: un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de la reivindicación 2, y un profármaco de la reivindicación 3, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un individuo que sufre un cáncer.

16. Un procedimiento de sintetizar un compuesto de la reivindicación 1 u, opcionalmente, una sal del mismo, que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto que tiene una estructura representada por la fórmula (II) con el compuesto que tiene la estructura representada por la fórmula (III),

10



15

en la que X se selecciona de O-alquilo, -O-alquenilo, -O-alquinilo, -O-acilo, y halógeno, particularmente en la que X es -OEt y, opcionalmente, hacer reaccionar el compuesto resultante con un ácido para hacer una sal de ácido.

17. Un procedimiento de síntesis de una sal farmacéuticamente aceptable de la reivindicación 2, que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto de la reivindicación 1 con un ácido, particularmente en el que el ácido es ácido clorhídrico o ácido maleico.

Figura 1 (a):

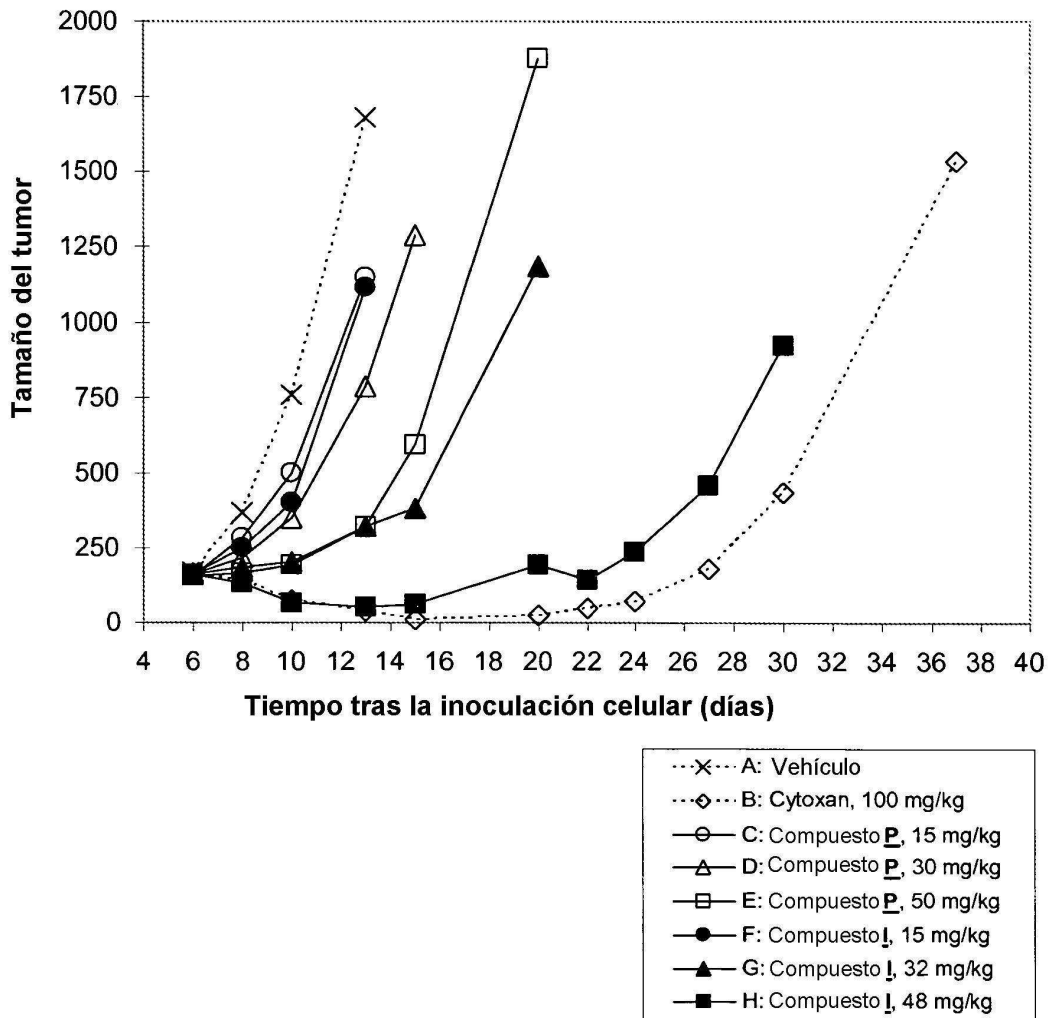
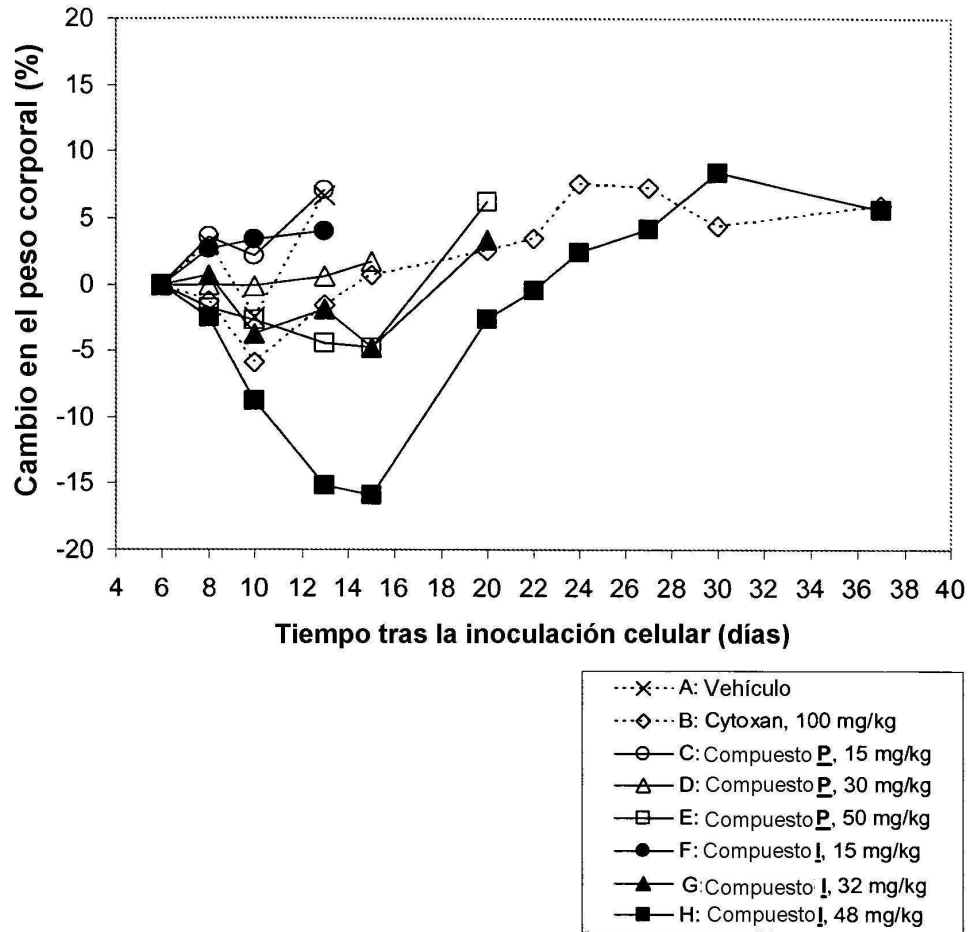


Figura 1 (b):



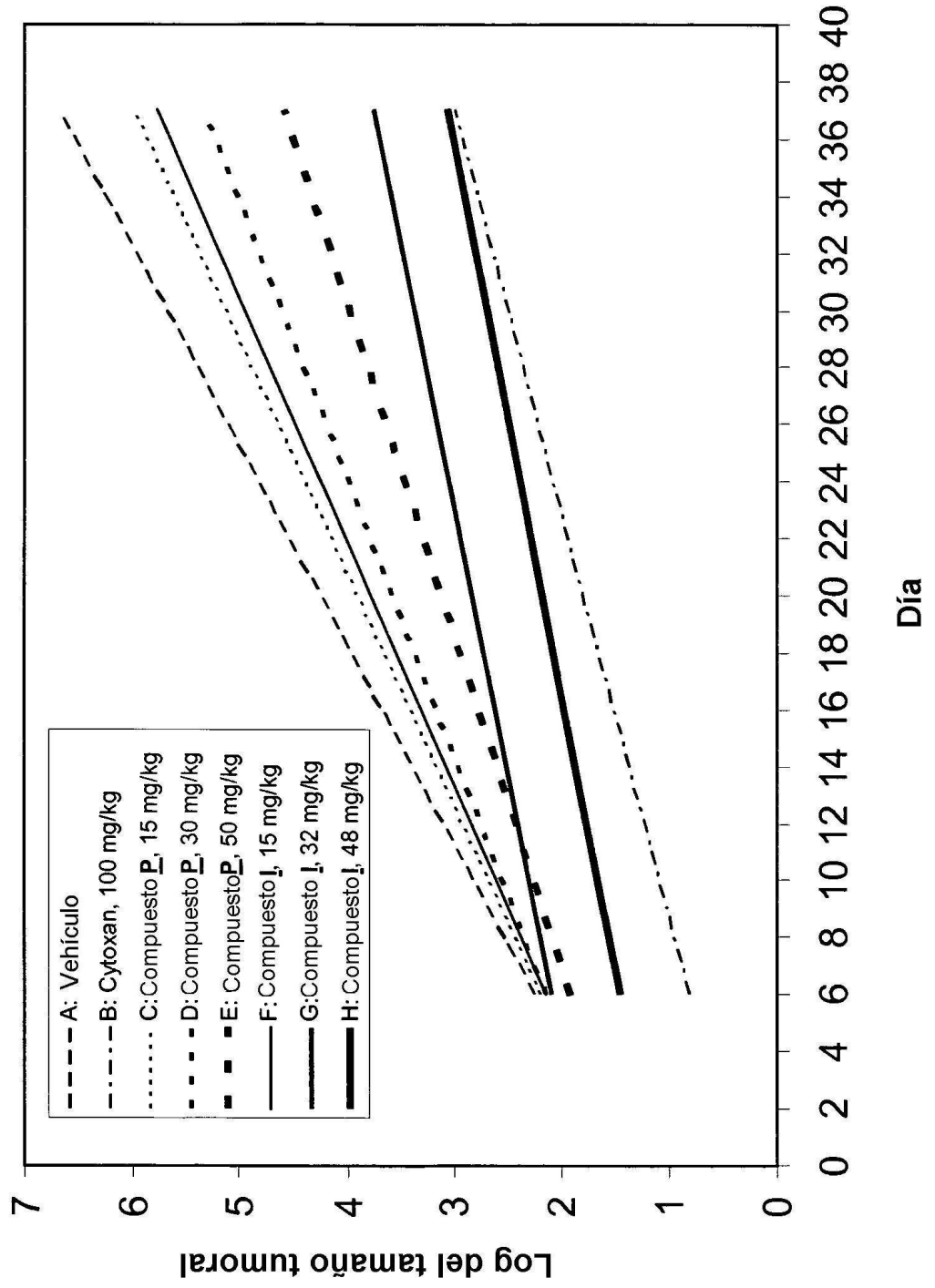


Figura 2:

Figura 3 (a):

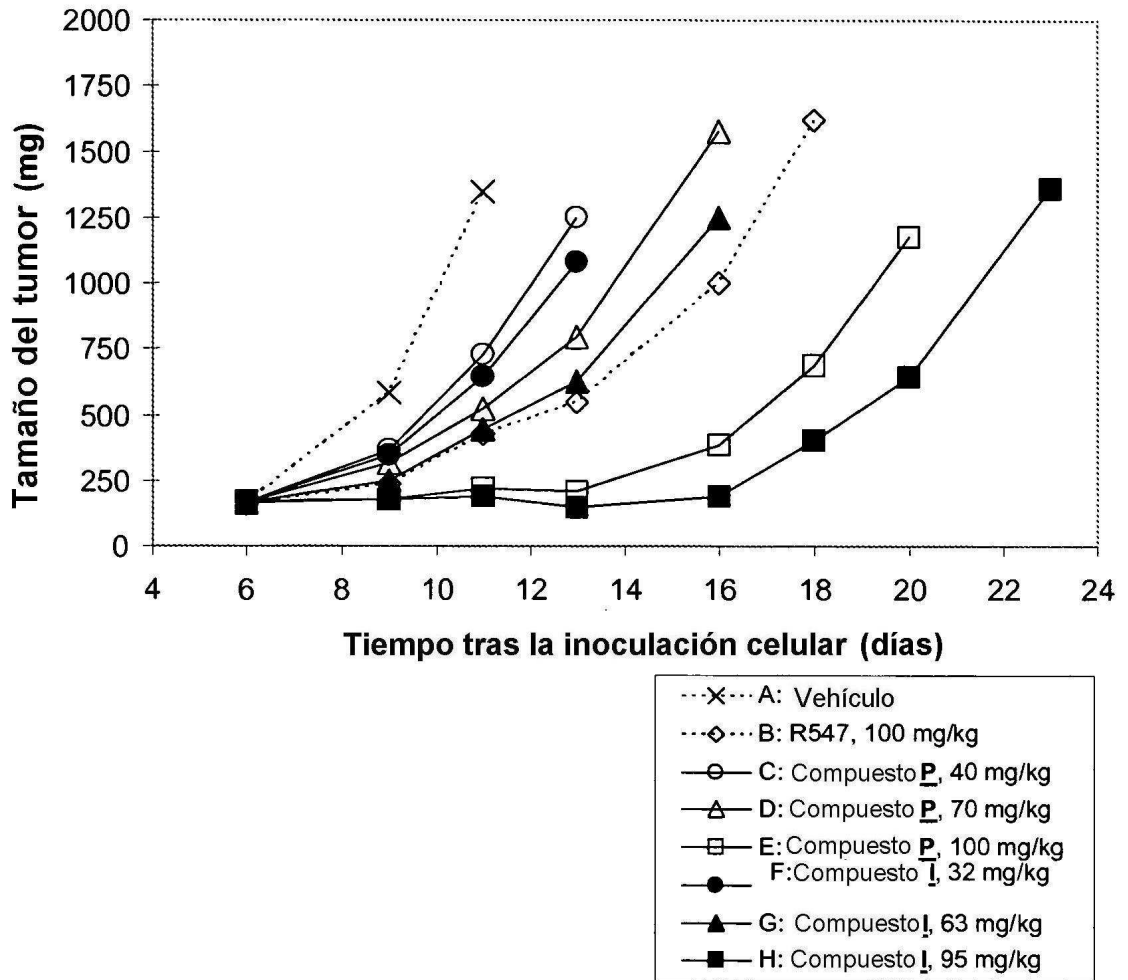


Figura 3 (b):

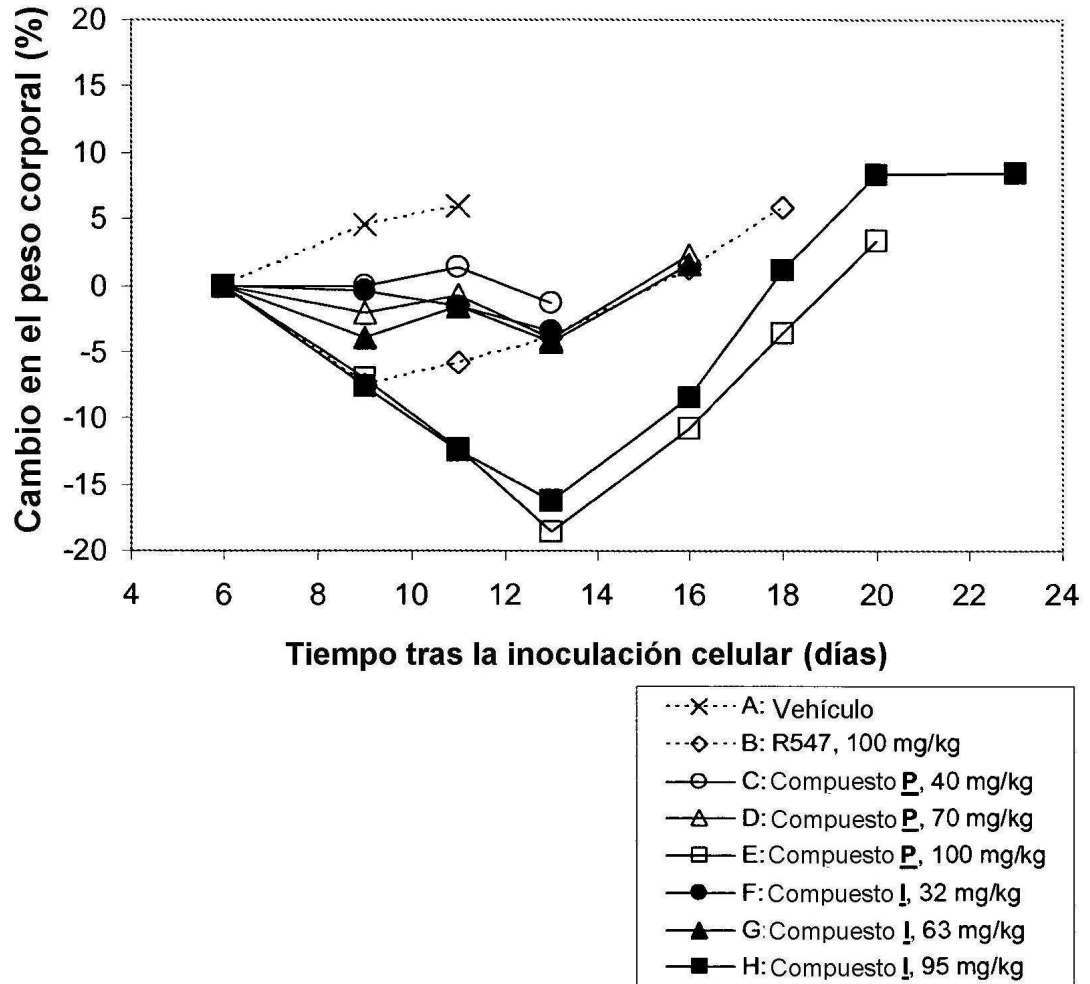


Figura 4 (a):

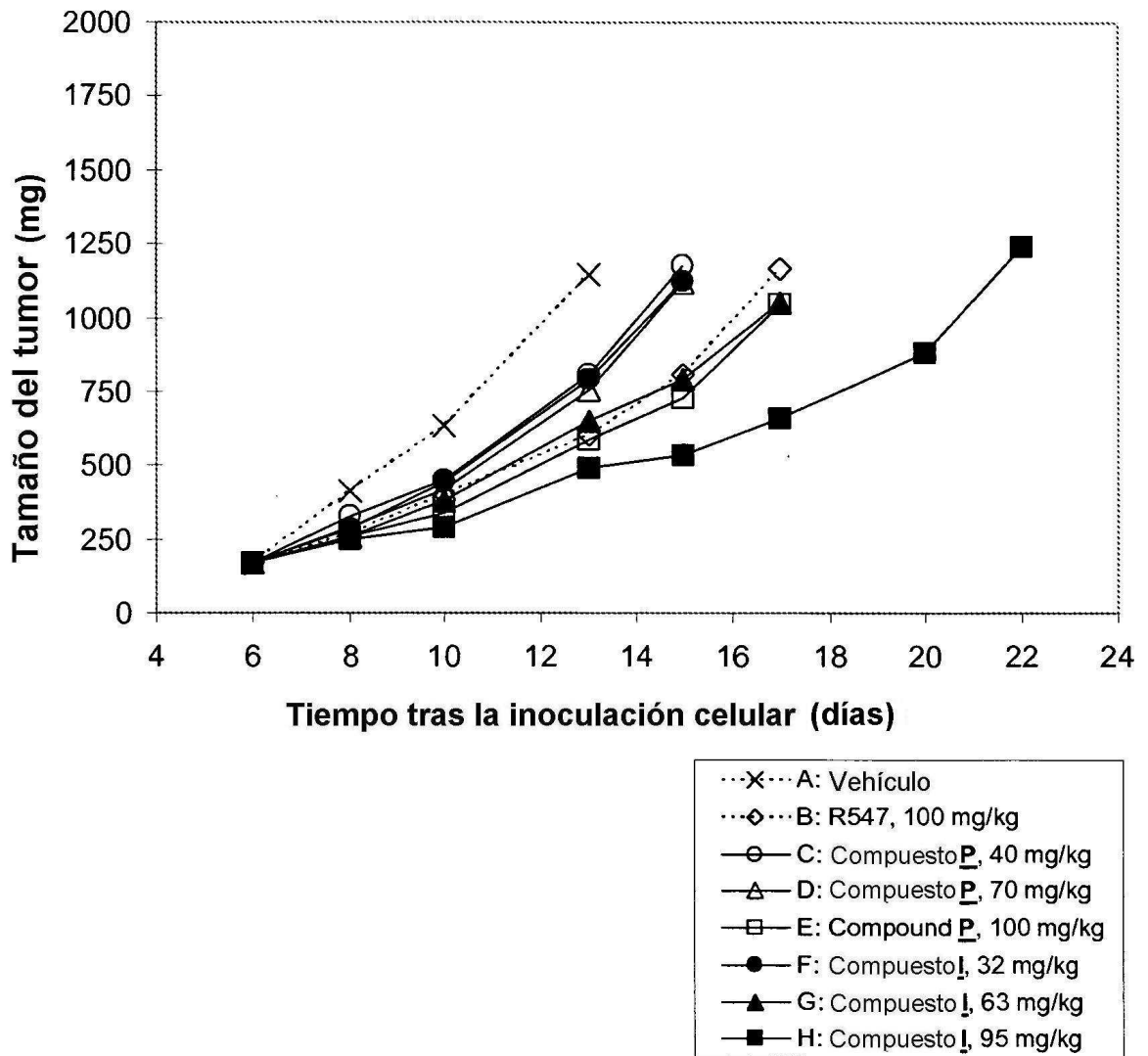


Figura 4 (b):

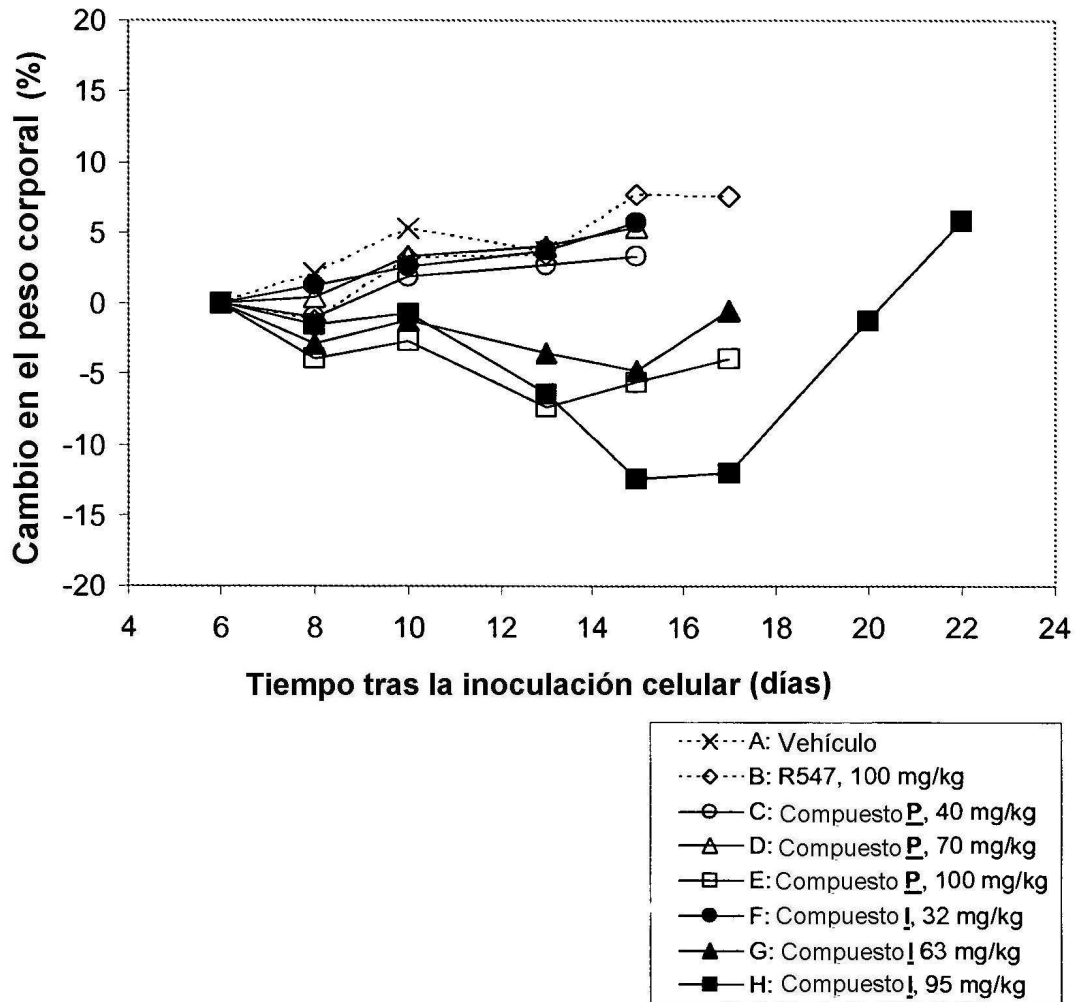


Figura 5 (a):

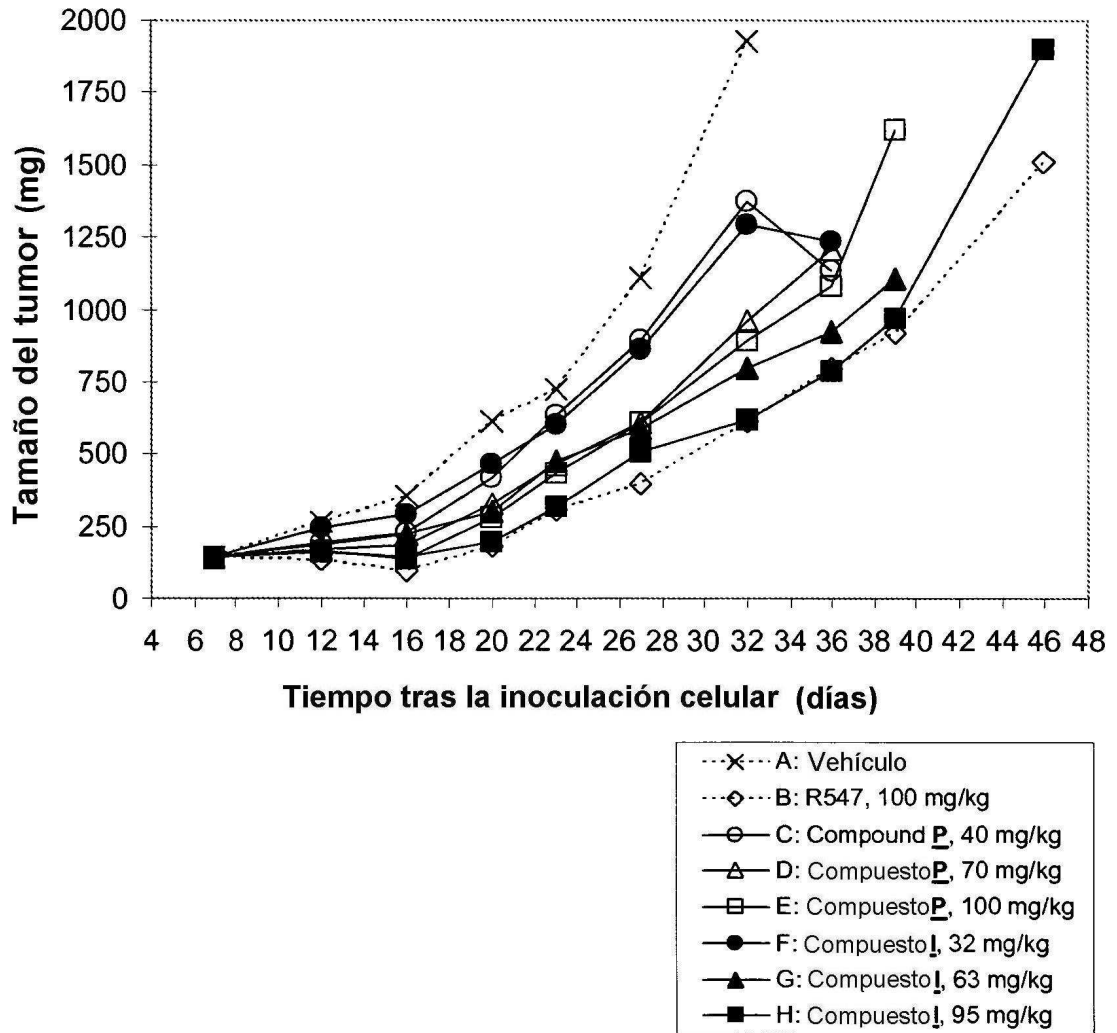


Figura 5 (b):

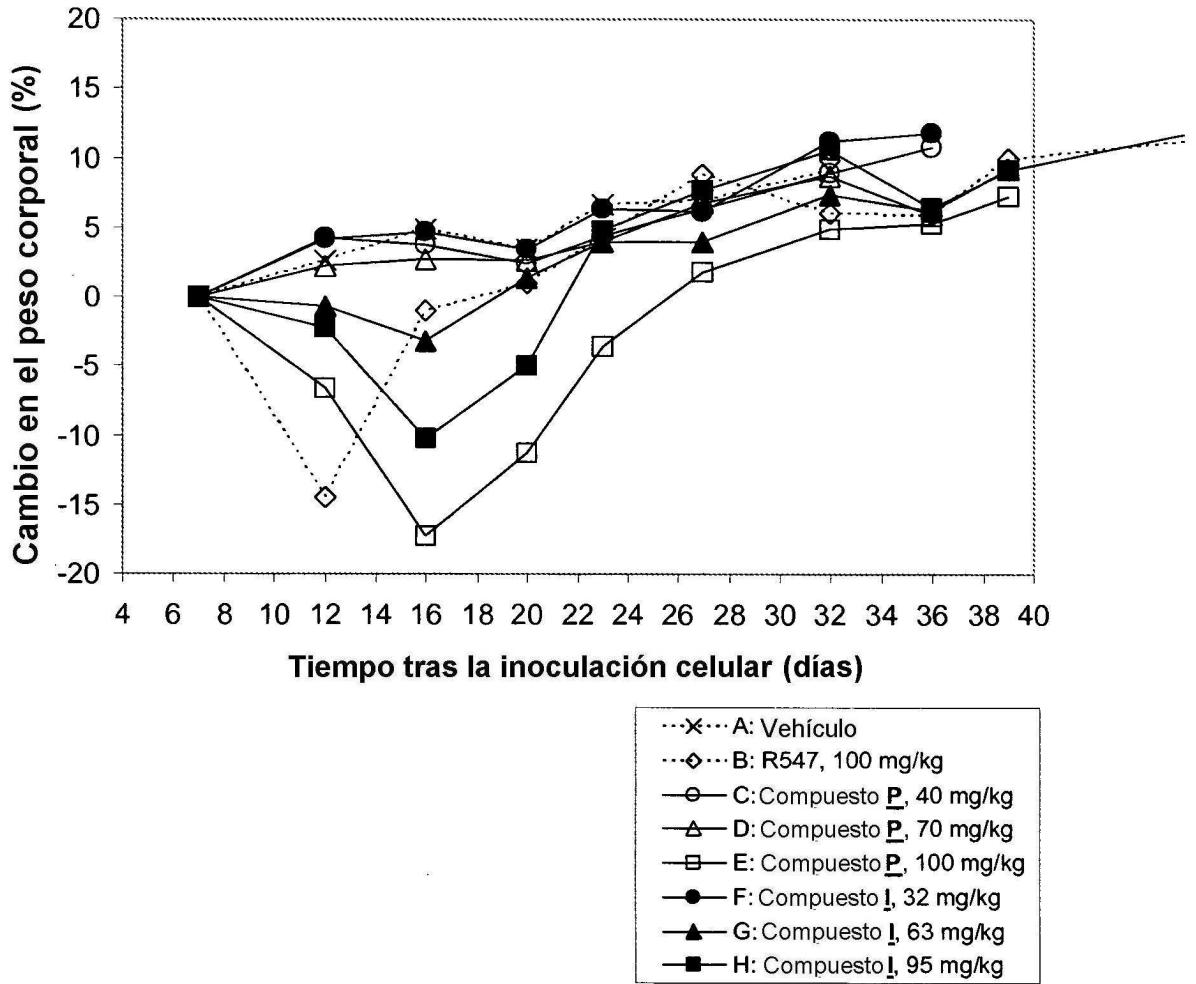


Figura 6:

