

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 644**

51 Int. Cl.:
A61K 38/05 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02755267 .8**
96 Fecha de presentación: **30.08.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **1420809**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.05.2004**

54 Título: **USO DE DERIVADOS DE CICLOPENTA[G]QUINAZOLINA PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER.**

30 Prioridad:
31.08.2001 GB 0121214
31.08.2001 GB 0121151
07.12.2001 GB 0129388
18.12.2001 US 340243 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.02.2012

73 Titular/es:
BTG INTERNATIONAL LIMITED
5 FLEET PLACE
LONDON EC4M 7RD, GB

72 Inventor/es:
BAVETSIAS, Vassilios y
JACKMAN, Ann, Lesley

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 373 644 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

Uso de derivados de ciclopenta[g]quinazolina para el tratamiento del cáncer

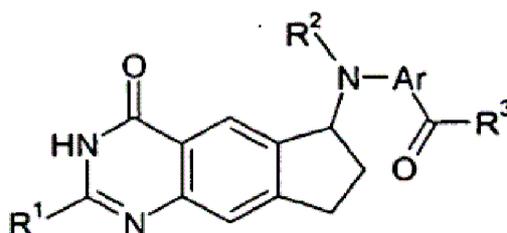
Esta invención se refiere al uso de compuestos como agentes anti-cáncer. Más particularmente se refiere a derivados de ciclopenta[g]quinazolina que tienen actividad antiproliferativa en el tratamiento de los tumores sólidos.

5 Un grupo de agentes anti-cáncer comprende antimetabolitos que tienen actividad antifolato, tal como el inhibidor de la dihidrofolato-reductasa, metotrexato y los inhibidores de la timidilato-sintasa (TS) CB3717, raltitrexed y ZD9331. El CB3717 se describe y se reivindica en el documento EP-B-0031237, el raltitrexed en EP-B-0239362 y el ZD9331 en EP-B-0562734. Todos estos inhibidores de la TS tienen actividad clínica demostrable en el campo de los tumores sólidos (véase Cancer Treatment Reports, 1986, 70, 1335 y Beale *et al.*, "Tomudex: Clinical Development" en Antifolate Drugs in Cancer Therapy (ed. Jackman), Humana Press, Totowa, New Jersey, USA, pp. 177-181, 1999). Los efectos secundarios de raltitrexed y ZD9331 están relacionados predominantemente con la inhibición de la TS en el intestino y en la médula ósea.

15 La TS cataliza la metilación del monofosfato de desoxiuridina para producir el monofosfato de timidina que se requiere para la síntesis del DNA. La actividad anticancerosa de estos agentes se puede evaluar *in vitro* determinando su efecto inhibitor sobre dicha enzima, y en cultivos celulares por su efecto inhibitor sobre una variedad de líneas celulares cancerosas humanas y de ratón (véase Boyle *et al.*, "ZD9331: Preclinical and clinical studies" en Antifolate Drugs in Cancer Therapy (ed. Jackman), Humana Press, Totowa, New Jersey, USA, pp. 243-260, 1999 y Hughes *et al.*, "Raltitrexed (Tomudex), a highly polyglutamatable antifolate thymidylate synthase inhibitor: design and preclinical activity" en Antifolate Drugs in Cancer Therapy (ed. Jackman), Humana Press, Totowa, New Jersey, USA, pp. 147-165, 1999).

Más recientemente, se han desarrollado derivados de ciclopenta[g]quinazolina que presentan un buen nivel de actividad tanto con respecto a su capacidad para inhibir la TS como también con respecto a su actividad anticancerosa frente a diferentes líneas celulares.

El documento WO-A-94/11354 (British Technology Group Limited) describe el compuesto tricíclico de la fórmula:

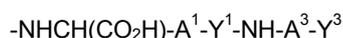


25 en la que R¹ es hidrógeno, amino, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, hidroxialquilo C₁₋₄ o fluoroalquilo C₁₋₄;

R² es hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₃₋₄, alquinilo C₃₋₄, hidroxialquilo C₂₋₄, halogenoalquilo C₂₋₄ o cianoalquilo C₁₋₄;

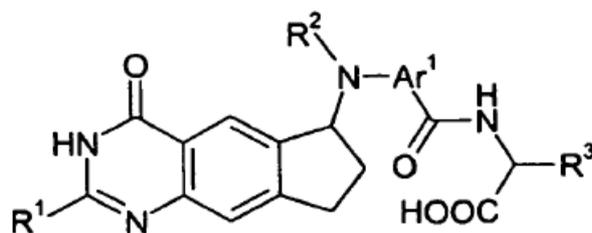
Ar es fenileno, tiofenodiilo, tiazoldiilo, piridindiilo o pirimidindiilo, que pueden llevar opcionalmente uno o dos sustituyentes seleccionados de halógeno, hidroxí, amino, nitro, ciano, trifluorometilo, alquilo C₁₋₄ y alcoxi C₁₋₄; y

30 R³ es un grupo de una de las siguientes fórmulas:



35 o R³ es un aminoácido de origen natural enlazado por el N seleccionado del grupo que consiste en L-alanina, L-leucina, L-isoleucina, L-valina y L-fenilalanina. Entre los compuestos descritos, está el compuesto de L-Glu-γ-D-Glu CB300638, mencionado también en Clinical Cancer Research, 5, noviembre de 1999 (suplemento) n° 566 (Theti *et al.*) y en "Proceedings of the American Association for Cancer Research", 41, marzo de 2000, n° 33 (Jackman *et al.*), así como en J. Med. Chem., 2000, 43, 1910-1926, donde está descrito en la página 1923 como compuesto 7b.

El documento WO-A-95/30673 (British Technology Group Limited) describe ciclopenta[g]quinazolininas de la fórmula:



en la que R¹ es hidrógeno, amino, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, hidroxialquilo C₁₋₄ o fluoroalquilo C₁₋₄;

R² es hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₃₋₄, alquinilo C₃₋₄, hidroxialquilo C₂₋₄, halogenoalquilo C₂₋₄ o cianoalquilo C₁₋₄;

5 Ar¹ es fenileno, tiofenodiilo, tiazoldiilo, piridindiilo o pirimidindiilo, que pueden llevar opcionalmente uno o dos sustituyentes seleccionados de halógeno, hidroxilo, amino, nitro, ciano, trifluorometilo, alquilo C₁₋₄, y alcoxi C₁₋₄; y

R³ es un grupo de una de las siguientes fórmulas:



La isoforma α del receptor de folato (α -FR; proteína de unión a folato asociada a la membrana) es una proteína de la membrana celular anclada a glucosilfosfatidilinositol que tiene una afinidad muy alta por el ácido fólico y los folatos

10 reducidos biológicamente más relevantes (Kd = 0,1 nM). El mecanismo de internalización del folato es la endocitosis

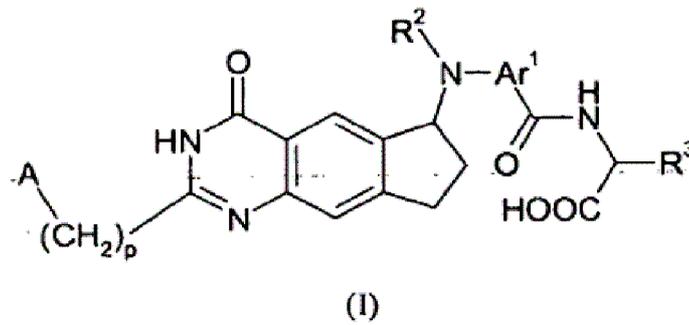
mediada por el receptor. El α -FR está sobreexpresado en muchos carcinomas, particularmente en los de origen ovárico, donde está sobreexpresado en gran medida y homogéneamente en el 90 % de los casos; véase *Cancer Res.* 51, 5329-5338, 1991 (Campbell *et al.*, 1991). Además, una alta expresión de α -FR se ha relacionado con un enfermedad agresiva resistente al platino y de mal pronóstico, véase *Int. J. Cancer* 74, 193-198, 1997 e *Int. J. Cancer* 79, 121-126, 1998 (ambos de Toffoli *et al.*). La isoforma β se expresa ampliamente en los tumores de origen epitelial y no epitelial, con niveles de expresión que generalmente son bajos/moderados y altos, respectivamente, revisado en *Critical Rev. Therap. in Drug Carrier Systems* 15, 587-627, 1998 (Reddy and Low).

15 Los receptores de folato (α y β) se expresan en algunos tejidos normales de adultos (expresión baja a moderada). Una expresión significativa del α -FR está limitada en gran parte a los túbulos proximales del riñón y a los plexos coroideos, aunque se sugiere que está localizada en la superficie de la membrana apical de estos órganos y por lo tanto no puede desempeñar un papel significativo en la captación de folato de la sangre (Reddy and Low, *ibid.*). Puede haber una función especializada del α -FR en los túbulos proximales del riñón para recuperar los folatos que escapan en el filtrado.

25 Se ha planteado como hipótesis que el α -FR está implicado en las rutas de señalización celular. Por ejemplo, en las células de carcinoma de ovario IGROV-1, los experimentos de inmunoprecipitación han demostrado que el α -FR está asociado en las membranas con la proteína G G_{α1-3} y la cinasa no receptora lyn.

30 La alta expresión de FR en algunos tumores con respecto a los tejidos normales se está explotando en varias áreas de la medicina del cáncer, incluyendo el suministro selectivo a los tumores de conjugados de ácido fólico y toxinas, liposomas, agentes de formación de imágenes o citotóxicos (Reddy and Low, *ibid.*). Por ejemplo, los conjugados de ácido fólico-desferroxamina-111In se detectan solamente en los tumores que expresan FR y no en los tejidos normales de ratones, con la excepción de las células epiteliales de riñón. La alta selectividad de este enfoque reside en las afinidades muy baja y alta del ácido fólico (un componente no mayoritario del plasma) para el RFC (portador de folato reducido) y FR, respectivamente. Por tanto, los fármacos antifolato con afinidades similares baja y alta para el RFC y el α -FR respectivamente podrían ser altamente selectivos para los tumores que sobreexpresan el α -FR con respecto a los tejidos normales. En contraposición con los conjugados de ácido fólico, estos fármacos no requerirían la escisión intracelular para ser activos.

35 Se ha descubierto ahora que ciertos compuestos dentro de la clase general de las ciclopenta[g]quinazolininas tienen un nivel inesperadamente alto de selectividad para las líneas celulares tumorales humanas que expresan el receptor de α -folato. En consecuencia, la presente invención comprende una ciclopenta[g]quinazolinina de la fórmula (I):



en la que:

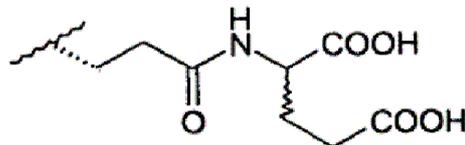
A es un grupo OR^0 en el que R^0 es hidrógeno o metilo;

p es un número entero en el intervalo de 1 a 4;

5 R^2 es etilo o prop-2-inilo;

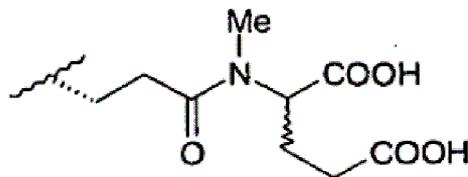
Ar^1 es 1,4-fenileno o 1,4-fenileno que tiene un 2-fluoro; y

R^3 es el resto de un ácido $NH_2-CH(COOH)R^3$ que comprende L-Glu- γ -D-Glu, esto es ácido N-L- γ -glutamil-D-glutámico, o L-Glu- γ -L-Glu, esto es ácido N-L- γ -glutamil-L-glutámico, en el que R^3 es de la fórmula:

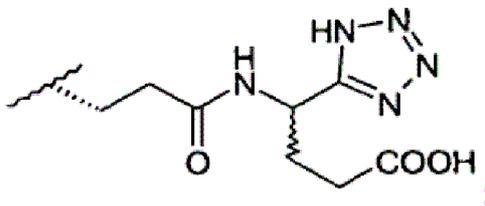


10

R^3 es el correspondiente derivado N-metilado de la fórmula:



o R^3 es el correspondiente derivado de tetrazol-5-ilo de la fórmula:



15

estando opcionalmente el compuesto (I) en la forma de una sal o de un éster farmacéuticamente aceptable; para el tratamiento de los tumores sólidos.

Las ciclopenta[g]quinazolininas preferidas para uso en la invención tienen p igual a 1 y las ciclopenta[g]quinazolininas particulares para uso en la invención incluyen

ácido N-{N-[4-[N-((6RS)-2-metoximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclo-penta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoi]-L-γ-glutamil]-D-glutámico;

5 ácido N-{N-[4-[N-((6RS)-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclo-penta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoi]-L-γ-glutamil]-D-glutámico; o

ácido N-{N-[4-[N-((6RS)-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclo-penta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoi]-L-γ-glutamil]-N-metil-L-glutámico;

o una sal o un éster farmacéuticamente aceptable de los mismos.

10 Estas ciclopenta[g]quinazolininas se pueden administrar junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable y son particularmente útiles para el tratamiento de un carcinoma de origen ovárico.

Los compuestos de la invención presentan una o más de las siguientes ventajas:

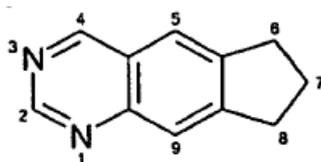
1. Tienen una alta selectividad para los tumores que sobre-expresan el α-FR, cuando crecen en concentraciones fisiológicas de folato y que tienen una expresión normal del RFC.

15 2. Presentan una potente inhibición de TS, una baja afinidad para el RFC y una afinidad de moderada a alta para el α-FR (afinidad relativa inversa de aproximadamente 0,1 a 1,5).

3. Tienen una actividad específica para la TS y son resistentes a las hidrolasas *in vivo*.

20 4. Presentan una actividad selectiva (del orden de >100 veces) en el cribado de líneas celulares humanas primarias con alta expresión de α-FR (par isogénico A431/A431-FBP y células KB ± ácido fólico). Presentan una actividad selectiva (del orden de >10 veces) en las líneas celulares con expresión moderada de FR. Presentan una localización específica del tumor en ratones. Presentan una actividad antitumoral en los xenoinjertos con ninguna toxicidad.

25 En esta memoria descriptiva los términos alquilo, alquenilo, alquinilo y alquileo incluyen los grupos tanto de cadena lineal como de cadena ramificada pero las referencias a grupos alquilo o alquileo individuales, tales como "propilo", son específicas para el grupo de cadena lineal solamente. Una convención análoga se aplica a otros términos genéricos. Además, el sistema de numeración usado para el núcleo de la ciclopenta[g]quinazolina es el convencional como se muestra a continuación:



30 Los restos aminoácidos se designan en la presente memoria de la manera estándar (Pure and Applied Chemistry, 1974, 40, 317 y European Journal of Biochemistry, 1984, 138, 9). Por lo tanto, por ejemplo, γ-glutamilo indica el radical H₂NCH(CO₂H)CH₂CH₂CO- o -NHCH(CO₂H)CH₂CH₂CO- según el contexto, siendo numerados los átomos de carbono en estos radicales desde el átomo de carbono del grupo α-carboxi como la posición 1.

35 Se observará que una ciclopenta[g]quinazolina de la invención contiene al menos dos átomos de carbono asimétricos [presentes en el punto de unión del grupo -N(R²)- al sistema de anillo tricíclico y en el átomo de carbono α del grupo -CONHCH(CO₂H)-] y puede existir por lo tanto en formas racémicas y en formas ópticamente activas. Ha de entenderse que esta invención comprende tanto las formas racémicas como las formas ópticamente activas de las ciclopenta[g]quinazolininas fisiológicamente activas, siendo objeto del conocimiento general común cómo se pueden obtener dichas formas ópticamente activas por síntesis estereoespecífica o por separación de una mezcla de compuestos isómeros. Se apreciará que un isómero puede tener más interés que otro debido a la naturaleza de la actividad que presenta o debido a sus propiedades físicas superiores, por ejemplo estabilidad acuosa.

40 Ha de entenderse también que una ciclopenta[g]quinazolina de la fórmula (I) puede presentar el fenómeno de tautomería y que las fórmulas mostradas en esta memoria descriptiva representan sólo una de las formas tautoméricas posibles. Se debe entender por lo tanto que la invención no está limitada simplemente a una forma tautomérica cualquiera que se ilustre.

Se debe entender también que ciertas ciclopenta[g]quinazolininas de la fórmula (I) pueden existir en formas solvatadas así como no solvatadas tales como, por ejemplo, las formas hidratadas.

5 Una forma adecuada de sal farmacéuticamente aceptable de una ciclopenta[g]quinazolina de la invención es, por ejemplo, una sal de adición de ácido con un ácido inorgánico u orgánico, por ejemplo, ácido clorhídrico, bromhídrico, trifluoroacético o maleico; o una sal de metal alcalino, por ejemplo, sodio, metal alcalinotérreo, por ejemplo calcio, o amoniaco, por ejemplo tetra-(2-hidroxietil)amonio.

Una forma de éster farmacéuticamente aceptable adecuada de una ciclopenta[g]quinazolina de la invención es, por ejemplo, un éster con un alcohol alifático de hasta 6 átomos de carbono, por ejemplo, un éster metílico, etílico o *terc*-butílico.

10 Por ejemplo, cuando están presentes dos grupos carboxi en la ciclopenta[g]quinazolina, pueden formar una monosal o monoéster monoácido, una disal o diéster y por ejemplo, cuando están presentes tres grupos carboxi pueden formar una disal o diéster monoácido, monosal o monoéster diácido o incluso trisal o triéster.

15 Aunque los compuestos de la presente invención pueden existir como una mezcla de estereoisómeros, se prefiere que estén resueltos en una forma isomérica ópticamente activa. Dicho requisito complica la síntesis de los compuestos y se prefiere por lo tanto que contengan tan pocos átomos de carbono asimétricos como sea posible pero compatibles con alcanzar la actividad deseada.

20 Como se ha indicado anteriormente, sin embargo, las ciclopenta[g]quinazolininas de la presente invención contienen al menos dos átomos de carbono asimétricos. De éstos, el de la posición 6 del sistema de anillos tiene preferiblemente la orientación 6S en lugar de la orientación 6R, mientras que el átomo de carbono alfa del grupo -CONHCH(CO₂H)- tiene preferiblemente la configuración L en lugar de la D. Los compuestos (I) preferidos descritos anteriormente en la presente memoria tienen por tanto preferiblemente esta configuración en estos dos átomos de carbono asimétricos o menos preferiblemente son una mezcla racémica en la que uno o ambos de estos átomos de carbono asimétricos no están resueltos.

25 Se puede preparar una ciclopenta[g]quinazolina de la invención por cualquier procedimiento que se sabe que es aplicable para la preparación de compuestos químicamente relacionados.

La actividad anti-cáncer de las ciclopenta[g]quinazolininas de la presente invención se puede evaluar por ejemplo, usando uno o más de los procedimientos que se indican a continuación:

30 (a) un ensayo *in vitro* que determina la capacidad de un compuesto de ensayo para inhibir la enzima timidilato-sintasa. La timidilato-sintasa se puede obtener en forma parcialmente purificada a partir de células de leucemia de ratón L1210 y se puede utilizar en el ensayo usando los procedimientos descritos por Jackman *et al.* (Cancer Res., 1986, 46, 2810) y Sikora *et al.* (Biochem. Pharmacol., 1988, 37, 4047);

(b) un ensayo que determina la capacidad de un compuesto de ensayo para unirse al α -FR con respecto a la del ácido fólico, usando células L1210-FBP de ratón (expresión de α -FR) en el procedimiento descrito por Westerhof *et al.* (Cancer Res., 1991, 51, 5507-5513);

35 (c) un ensayo que determina la capacidad de un compuesto de ensayo para inhibir el crecimiento de líneas celulares tumorales humanas que expresan el α -FR (A431-FBP, carcinoma vulvar transfectado con α -FR; KB, carcinoma nasofaríngeo);

(d) un ensayo que determina la capacidad de un compuesto de ensayo para inhibir el crecimiento de líneas celulares tumorales humanas que no expresan el α -FR (A431 neo-transfectada);

40 (e) un ensayo que confirma o que demuestra que la inhibición del crecimiento inducida por el compuesto es atribuible en gran medida a la captación mediada por α -FR en las células KB o en las células A431-FBP. Esto implica la adición conjunta de un exceso de ácido fólico (1 μ M) para competir con los compuestos por la unión a FR pero no a RFC.

45 Aunque las propiedades farmacológicas de las ciclopenta[g]quinazolininas de la invención dependen de su estructura detallada, en general las ciclopenta[g]quinazolininas de la invención tienen actividad en uno o más de los ensayos anteriores (a) a (d) como se indica a continuación:

Ensayo (a) IC_{50} en el intervalo de, por ejemplo, 0,0001-1 μ M;

50 Ensayo (b) afinidad relativa inversa en el intervalo, por ejemplo, de 0,05-5 (los valores superiores a 1, implican que la unión es mayor que la del ácido fólico y los valores inferiores a 1 implican una unión más débil que la del ácido fólico);

Ensayo (c) IC₅₀ en el intervalo, por ejemplo, de 0,001-10 µM;

Ensayo (d) IC₅₀ en el intervalo, por ejemplo, de 0,01-100 µM;

Ensayo (e) IC₅₀ al menos 10 veces mayor que la observada en el ensayo (b) para la misma línea celular.

5 Una ciclopenta[g]quinazolina de la presente invención puede ser activa por sí misma o puede ser un profármaco que se convierte *in vivo* en un compuesto activo. Se puede administrar una ciclopenta[g]quinazolina de la invención a un animal de sangre caliente, incluyendo un ser humano, en la forma de una composición farmacéutica que comprende la ciclopenta[g]quinazolina en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 La composición puede estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, un comprimido, cápsula, solución acuosa u oleosa, suspensión o emulsión; una forma adecuada para uso tópico, por ejemplo, una crema, pomada, gel o solución o suspensión acuosa u oleosa; una forma adecuada para uso nasal, por ejemplo, un polvo para inhalar, pulverizador nasal o gotas nasales; una forma adecuada para uso vaginal o rectal, por ejemplo un supositorio; una forma adecuada para administración por inhalación, por ejemplo en forma de un polvo finamente dividido tal como un polvo seco, una forma microcristalina o un aerosol líquido; una forma adecuada para uso sublingual o bucal, por ejemplo un comprimido o una cápsula; o una forma adecuada para uso parenteral (incluyendo uso intravenoso, subcutáneo, intramuscular, intravascular o por perfusión), por ejemplo, una solución, emulsión o suspensión acuosa u oleosa estéril. En general, las composiciones anteriores se pueden preparar de manera convencional usando excipientes convencionales.

20 La composición puede contener, además de la ciclopenta[g]quinazolina de la invención, una o más de otras sustancias anticancerosas seleccionadas, por ejemplo, de otros antimetabolitos, de los agentes de interacción con DNA, de los inhibidores de la transducción de señales o de otros inhibidores de las rutas desreguladas en los tumores.

25 La ciclopenta[g]quinazolina se administrará normalmente a un animal de sangre caliente a una dosis en el intervalo de 50-25000, particularmente 50-5000 mg por metro cuadrado de superficie corporal del animal, esto es aproximadamente 1500, particularmente 1-100 mg/kg. Sin embargo, cuando se desee, se pueden emplear dosificaciones fuera de este intervalo y, en particular, cuando se usa el modo de administración preferida que implica perfusión subcutánea, entonces el intervalo de dosis puede aumentar a 1-1000 mg/kg. Preferiblemente, se emplea una dosis diaria en el intervalo de 10-250 mg/kg, particularmente 30-150 mg/kg. Sin embargo, la dosis diaria variará necesariamente dependiendo del hospedante tratado, de la vía de administración particular y de la gravedad de la enfermedad a tratar. En consecuencia, la dosificación óptima puede ser determinada por el facultativo que esté tratando a cualquier paciente particular.

30 En consecuencia, la presente invención incluye también un procedimiento para ayudar a la regresión y alivio del cáncer en un paciente, particularmente un animal de sangre caliente tal como un ser humano, necesitado de tal tratamiento, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad eficaz de una ciclopenta[g]quinazolina como se ha definido antes en la presente memoria.

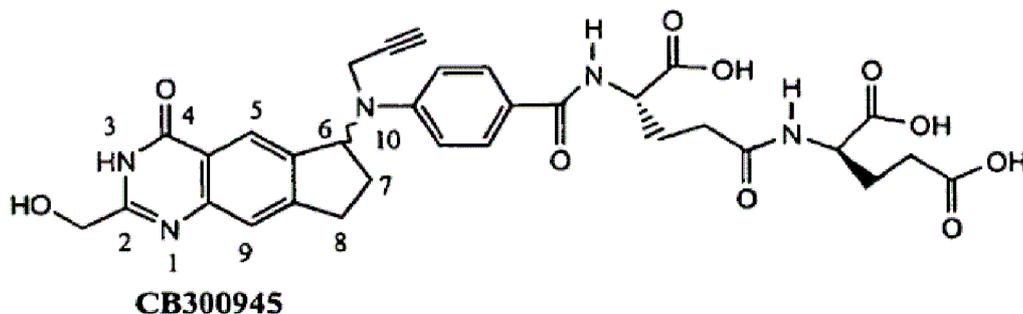
35 Las ciclopenta[g]quinazolininas de la presente invención son de interés para un amplio campo de actividades antitumorales frente a los tumores sólidos, pero particularmente para el tratamiento del cáncer de origen ovárico.

40 En vista de la actividad mostrada por antimetabolitos tales como aminopterina y metotrexato, que se discutió antes en la presente memoria, las ciclopenta[g]quinazolininas de la presente invención son también de interés para uso en el tratamiento de otras afecciones, por ejemplo, afecciones alérgicas tales como la psoriasis y enfermedades inflamatorias tales como la artritis reumatoide. Al usar una ciclopenta[g]quinazolina de la invención con dicho fin, el compuesto se administrará normalmente a una dosis en el intervalo de 5-25000, particularmente 5-500 mg por metro cuadrado de la superficie corporal del animal, esto es, aproximadamente 0,1-500, particularmente 0,1-10 mg/kg. Sin embargo, cuando se desee, se pueden emplear dosificaciones fuera de este intervalo. En general, para el tratamiento de una afección alérgica tal como la psoriasis, se prefiere la administración tópica de una ciclopenta[g]quinazolina de la invención. Por tanto, por ejemplo, para la administración tópica se puede usar una dosis diaria en el intervalo, por ejemplo, de 0,1 a 10 mg/kg.

50 Las composiciones que contienen las quinazolininas se pueden formular en forma de dosificación unitaria, esto es en la forma de porciones discretas que contienen cada una dosis unitaria, o un múltiplo o submúltiplo de una dosis unitaria, por ejemplo como un comprimido o una cápsula. Dicha forma de dosificación unitaria puede contener, por ejemplo, una cantidad de ciclopenta[g]quinazolina en el intervalo 1-250 o 1-500 mg.

La invención se ilustra por los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Síntesis de CB300945 (derivado 2-CH₂OH de CB300638)



2-Hidroximetil-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]-quinazolin-4-ona

Se calentó a 60 °C en atmósfera de argón durante 30 min una solución de acetato de cesio (14,4 g, 75,2 mmol) en DMF seca (40 ml). Se enfrió la mezcla a 40 °C y se añadió una suspensión de 2-clorometil-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-4-ona (L. Skelton, V. Bavetsias, A. Jackman, WO 00/050417-A1; 2,2 g, 9,4 mmol) en DMF seca (60 ml) mediante una cánula. Se calentó la mezcla a 80 °C en atmósfera de argón durante 16 h. Se enfrió la mezcla a temperatura ambiente y se separó el disolvente a vacío. Se suspendió el residuo en agua (50 ml) y MeOH (20 ml). Se ajustó el pH a 12,5 con solución de hidróxido de sodio 1 M y se agitó la suspensión marrón durante 2 h a temperatura ambiente. Se separó el sólido marrón insoluble por filtración y se acidificó la solución resultante a pH 5 con ácido clorhídrico 1 M. Se recogió el precipitado por filtración, se lavó con agua acidificada y se secó a vacío sobre P₂O₅, para dar el producto como un sólido amarillo pálido (1,17 g, 58 %); punto de fusión (p.f.) 205-210 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2,07 (quin, J = 7,4 Hz, 2H, 7-H), 2,98 (q, J = 6,95 Hz, 4H, 6-H y 8-H), 4,38 (s, 2H, 2-CH₂), 7,46 (s, 1H, 9-H), 7,92 (s, 1H, 5-H); MS (FAB-m/z): encontrado 217 [(M+H)⁺, 100 %]; HRMS: medido 217,0977; calculado para C₁₂H₁₃N₂O₂ (M+H)⁺: 217,0977; encontrado C, 64,01; H, 5,23; N, 12,34. C₁₂H₁₃N₂O₂·1/2H₂O requiere C, 63,93; H, 5,77; N, 12,43 %.

2-(2,2-Dimetilpropioniloximetil)-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-4-ona

Se mezclaron 2-hidroximetil-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-4-ona (1,0 g, 4,6 mmol), trietilamina (0,77 ml, 5,6 mmol), DMAP (50 mg, 0,4 mmol) y CH₂Cl₂ anhidro (50 ml) en un matraz en atmósfera de argón. Se añadió gota a gota anhídrido pivalico (1,2 ml, 6,0 mmol) y se agitó la suspensión a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 5 h. Se separó el disolvente a vacío y el residuo se sometió a reparto entre EtOAc (100 ml) y NaHCO₃ acuoso saturado (100 ml). Se lavó el extracto orgánico con NaHCO₃ acuoso saturado (70 ml), agua (70 ml), salmuera (70 ml), se secó (Na₂SO₄) y se eliminó el disolvente a vacío. Se trituró el residuo con hexano (60 ml) y se recogió el producto por filtración como un sólido amarillo (1,21 g, 87 %); p.f. 185-190 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,22 (s, 9H, CMe₃), 2,07 (quin, J = 7,4 Hz, 2H, 7-H), 2,98 (q, J = 5,72 Hz, 4H, 6-H y 8-H), 4,94 (s, 2H, 2-CH₂), 7,42 (s, 1H, 9-H), 7,92 (s, 1H, 5-H), 12,20 (br, 1H, NH); MS (FAB, m/z): encontrado 301 [(M+H)⁺, 100 %]; HRMS: 301,1539 medido; calculado para C₁₇H₂₁N₂O₃ (M+H)⁺: 301,1552; encontrado C, 67,65; H, 6,54; N, 9,54. C₁₇H₂₀N₂O₃ requiere C, 67,98; H, 6,71; N, 9,33 %.

2-(2,2-Dimetilpropioniloximetil)-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-4,6-diona y 2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-4,8-diona

A una solución en agitación de (Ph₃SiO)₂CrO₂ (L. M. Baker and W. L. Carrick, J. Org. Chem. 1970, 35, 774) (10,6 mg, 0,017 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml), se añadieron secuencialmente hidroperóxido de *terc*-butilo acuoso al 70 % (0,18 ml, 1,3 mmol) y 2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-4-ona (0,1 g, 0,33 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente con protección de la luz durante 24 h. Se separaron los disolventes a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (20 g de gel de sílice) eluyendo con un gradiente de 10-30 % de EtOAc en CHCl₃, para dar 2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-4,6-diona como un sólido blanco (47 mg, 45 %); p.f. 185-190 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,23 (s, 9H, CMe₃), 2,72 (m, 2H, 7-H), 3,25 (m, 2H, 8-H), 5,00 (s, 2H, 2-CH₂), 7,70 (s, 1H, 9-H), 8,29 (s, 1H, 5-H), 12,20 (br, 1H, NH); MS (FAB, m/z): encontrado 315 [(M+H)⁺, 100 %], 337 [(M+Na)⁺, 75 %]; HRMS: 315,1360 medido; calculado para C₁₇H₁₉N₂O₄ (M+H)⁺: 315,1345; encontrado C, 64,18; H, 5,72; N, 8,81. N₁₇H₁₈N₂O₄·0,2H₂O requiere C, 64,23; H, 5,79; N, 8,82 %.

2-(2,2-Dimetilpropioniloximetil)-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-4,8-diona; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,23 (s, 9H, CMe₃), 2,76 (m, 2H, 7-H), 3,26 (m, 2H, 8-H), 4,98 (s, 2H, 2-CH₂), 7,72 (s, 1H, 9-H), 8,29 (s, 1H, 5-H), 12,3 (br, 1H, NH).

4-[N-((6RS)-2-(2,2-Dimetilpropioniloximetil)-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-amino]benzoato de *terc*-butilo

Se trató una suspensión de 2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-4,6-diona (0,47 g, 1,50 mmol) en metanol anhidro (33 ml) y CH₂Cl₂ anhidro (5 ml), con 4-aminobenzoato de *terc*-butilo (0,34 g, 1,78 mmol) seguido por decaborano (0,07 g, 0,58 mmol), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 18 h. Se separó el disolvente a vacío y se purificó el residuo por cromatografía en columna (50 g de gel de sílice) eluyendo con acetato de etilo al 30 % en CH₂Cl₂, para dar el producto deseado como un sólido blanco (0,43 g, 58 %); p.f. 231 °C; ¹H NMR (CDCl₃) δ 1,26 (s, 9H, CMe₃), 1,58 (s, 9H, CO₂CMe₃), 2,00 (m, 1H, 7-H), 2,72 (m, 1H, 7-H), 3,08 (m, 2H, 8-H), 5,10 (s, 2H, 2-CH₂), 5,15 (m, 1H, 6-H), 6,67 (d, J = 8,8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7,58 (s, 1H, 9-H), 7,87 (d, J = 8,8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8,24 (s, 1H, 5-H); MS (FAB, m/z): encontrado 491 [(M+H)⁺, 25 %], 514 [(M+Na)⁺, 100 %]; encontrado C, 68,37; H, 6,86; N, 8,35. C₂₈H₃₃N₃O₅ requiere C, 68,41; H, 6,77; N, 8,55 %.

4-[N-((6RS)-2-(2,2-Dimetilpropioniloximetil)-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoato de *terc*-butilo

Una suspensión de (propargil)Co₂(CO)₆⁺BF₄⁻ (213 mg, 0,52 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (25 ml), se trató con 4-[N-((6RS)-2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)amino]benzoato de *terc*-butilo (200 mg, 0,41 mmol) y se agitó la solución roja a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 15 minutos. Se añadió diisopropiletilamina (0,15 ml, 0,86 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 1 h. Se sometió la mezcla a reparto entre acetato de etilo (30 ml) y salmuera (30 ml). Se secó el extracto orgánico (Na₂SO₄) y se separó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo por cromatografía en columna (20 g de gel de sílice) eluyendo con un gradiente de 0-10 % de acetato de etilo en CH₂Cl₂, para dar el complejo como un aceite rojo (191 mg, 58 %); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1,26 (s, 9H, CMe₃), 1,59 (s, 9H, CO₂CMe₃), 2,31 (m, 1H, 7-H), 2,62 (m, 1H, 7-H), 3,13 (m, 2H, 8-H), 4,57 (sistema AB, J = 16,9 Hz, 2H, CH₂ de propargilo), 5,09 (s, 2H, 2-CH₂), 5,63 (t, J = 8,3, 1H, 6-H), 5,98 (s, 1H, CH de propargilo), 6,91 (d, J = 8,9 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7,61 (s, 1H, 9-H), 7,90 (d, J = 8,9 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8,14 (s, 1H, 5-H), 10,25 (br s, 1H).

Se trató una solución de este complejo (186 mg, 0,23 mmol) en etanol (30 ml) con Fe(NO₃)₃·9H₂O (1,1 g) y se agitó la solución a temperatura ambiente durante 2 h. Se sometió a reparto la solución entre acetato de etilo (30 ml) y agua (30 ml). Se lavó el extracto orgánico con salmuera (30 ml), se secó (Na₂SO₄) y se separó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo por cromatografía en columna (20 g de gel de sílice) eluyendo con acetato de etilo al 10 % en CH₂Cl₂, para dar el producto deseado como un sólido blanco (94 mg, 78 %); p.f. 134 °C; ¹H NMR (CDCl₃) δ 1,32 (s, 9H, CMe₃), 1,61 (s, 9H, CO₂CMe₃), 2,23 (s, 1H, CH de propargilo), 2,38 (m, 1H, 7-H), 2,62 (m, 1H, 7-H), 3,07 (m, 1H, 8-H), 3,25 (m, 1H, 8-H), 3,94 (sistema AB, J = 18,6 Hz, 2H, CH₂ de propargilo), 5,12 (s, 2H, 2-CH₂), 5,68 (t, J = 8,2 Hz, 1H, 6-H), 6,99 (d, J = 9,1 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7,63 (s, 1H, 9-H), 7,95 (d, J = 9,0 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8,16 (s, 1H, 5-H), 9,55 (br s, 1H); MS (ESI, m/z) 552 {(M+Na)⁺, 100 %}, 530 {(M+H)⁺, 20 %}; encontrado C, 70,14; H, 6,80; N, 7,73. C₃₁H₃₅N₃O₅ requiere C, 70,30; H, 6,66; N, 7,93 %.

Ácido 4-[N-((6RS)-2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoico

Se agitó a temperatura ambiente con protección de la luz durante 1,5 h una solución de 4-[N-((6RS)-2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]-benzoato de *terc*-butilo (80 mg, 0,15 mmol) en ácido trifluoroacético (5 ml). Se separó el disolvente a vacío y se trituró el residuo con éter dietílico y hexano 1:1, para dar el producto deseado como un sólido blanco (81 mg, sal de TFA); p.f. 133 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,23 (s, 9H, CO₂CMe₃), 2,22 (m, 1H, 7-H), 2,50 (m, 1H, 7-H), 3,03 (m, 2H, 8-H), 3,14 (s, 1H, CH de propargilo), 3,97 (sistema AB, J = 18,8 Hz, 2H, CH₂ de propargilo), 4,95 (s, 2H, 2-CH₂), 5,79 (t, J = 8,6 Hz, 1H, 6-H), 7,03 (d, J = 9,0 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7,51 (s, 1H, 9-H), 7,81 (d, J = 6,6 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7,83 (s, 1H, 5-H).

N-[N-{4-[N-((6RS)-2-(2,2-Dimetilpropioniloximetil)-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil}-L-γ-glutamil]-D-glutamato de tri-*terc*-butilo

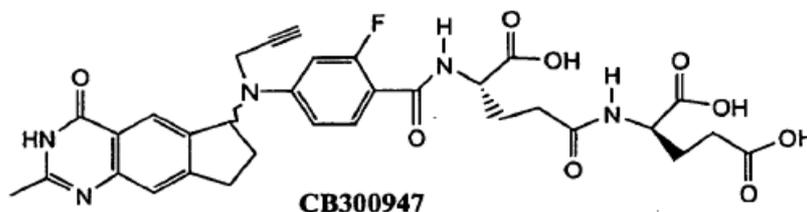
Se trató una solución de ácido 4-[N-((6RS)-2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]-benzoico (80 mg, 0,15 mmol) en dimetilformamida anhidra (7 ml) con L-γ-glutamil-D-glutamato de tri-*terc*-butilo (150 mg, 0,33 mmol), cianofosfonato de dietilo (0,06 ml, 0,40 mmol) y trietilamina (0,06 ml, 0,40 mmol). Se agitó la solución a temperatura ambiente en atmósfera de argón con protección de la luz durante 2,5 h. Se sometió a reparto la solución entre acetato de etilo (25 ml) y agua (25 ml). Se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 20 ml). Se lavaron los extractos orgánicos reunidos con ácido cítrico acuoso al 10 % (2 x 30 ml), NaHCO₃ acuoso saturado (30 ml), salmuera diluida (30 ml), se secaron (Na₂SO₄) y se separó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo por cromatografía en columna (30 g de gel de sílice) eluyendo con acetato de etilo al 40 % en CH₂Cl₂, para dar el producto deseado como un sólido blanco (94 mg, 62 %); p.f. 109 °C; ¹H NMR (CDCl₃) δ 1,29 (s, 9H, -CO₂CMe₃), 1,43 (s, 9H, CO₂CMe₃), 1,47 (s, 9H, CO₂CMe₃), 1,48 (s, 9H, CO₂CMe₃), 1,60-2,10 (m, 5H, 2 x β-CH₂ de glu, 7-CH), 2,21 (s, 1H, CH de propargilo), 2,22-2,50 (m, 4H, 2 x γ-CH₂ de glu), 2,59 (m,

1H, 7-H), 3,08 (m, 1H, 8-H), 3,20 (m, 1H, 8-H), 3,92 (sistema AB, J = 19,0 Hz, 2H, CH₂ de propargilo), 4,48, 4,76 (2 x m, 2H, 2 x α-CH de glu), 5,12 (s, 2H, 2-CH₂), 5,64 (t, J = 8,1 Hz, 1H, 6-H), 6,99 (d, J = 8,8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7,07 (m, 2H, 2 x CONH), 7,64 (s, 1H, 9-H), 7,80 (d, J = 8,8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8,13 (s, 1H, 5-H); MS (ESI, m/z) 922 {(M+Na)⁺, 100 %}, 900 {(M+H)⁺, 40 %}; encontrado C, 64,85; H, 7,23; N, 7,33. C₄₉H₆₅N₅O₁₁•0,5H₂O requiere C, 64,76; H, 7,27; N, 7,71 %.

Ácido N-{N-[4-[N-((6RS)-2-hidroxi-2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil]-L-γ-glutamil]-D-glutámico

Se disolvió N-{N-[4-[N-((6RS)-2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil]-L-γ-glutamil]-D-glutamato de tri-*tert*-butilo (80 mg, 0,09 mmol) en ácido trifluoroacético (5 ml) y se agitó a temperatura ambiente con protección de la luz durante 1 h. Se separó el disolvente a vacío y el residuo se disolvió en metanol (3 ml) y agua (3 ml). Se ajustó el pH de la solución a pH 12 con solución de hidróxido de sodio 1 M y se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. Se acidificó la solución a pH 4 con ácido clorhídrico 1 M y se enfrió a 0 °C. Se recogió el precipitado por filtración y se secó a vacío sobre P₂O₅, para dar el producto deseado como un sólido marrón pálido (27 mg, 47 %); p.f. 172 °C; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,60-2,10 (m, 5H, 2 x β-CH₂ de glu, 7-CH), 2,15-2,40 (m, 5H, 2 x γ-CH₂ de glu, 7-H), 2,99 (m, 1H, 8-H), 3,12 (s, 1H, CH de propargilo), 3,16 (m, 1H, 8-H), 3,98 (sistema AB, J= 19,9 Hz, 2H, CH₂ de propargilo), 4,18, 4,30 (2 x m, 2H, 2 x α-CH de glu), 4,36 (s, 2H, 2-CH₂), 5,58 (br s, 1H, -OH), 5,77 (t, J= 7,9 Hz, 1H, 6-H), 7,01 (d, J= 8,9 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7,54 (s, 1H, 9-H), 7,80 (d, J= 8,5 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7,82 (s, 1H, 5-H), 8,15 (d, J= 7,5 Hz, 1H), 8,35 (d, J= 7,2 Hz, 1H) (2 x CONH); MS (ESI, m/z) 670 {(M+Na)⁺, 45 %}, 648 {(M+H)⁺, 100 %}; HRMS: 648,2313 medido; calculado para C₃₂H₃₅N₅O₁₀ (M+H)⁺: 648,2306.

Ejemplo 2: Síntesis de CB300947



4-[N(5-Acetamido-6-bromoindan-1-il)amino]-2-fluorobenzoato de *tert*-butilo

A una solución de 5-acetamido-6-bromoindan-1-ona (0,370 g, 1,38 mmol) en metanol anhidro (32 ml), se añadió 4-amino-2-fluorobenzoato de *tert*-butilo (V. Bavetsias *et al.*, J Med. Chem. 1996, 39, 73-85; 0,322 g, 1,52 mmol) seguido por decaborano (0,030 g). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 11 horas y después se añadió más decaborano (0,005 g) y se continuó agitando durante 12 horas en atmósfera de argón. Se separó el disolvente a vacío, y se purificó el residuo por cromatografía eluyendo con un gradiente de acetato de etilo en hexano (30 a 40 %). Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco 0,455 g (71 %) p.f.>70 °C (se reblandece); ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃, TMS) 1,57 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2,24 (s, 3H, COCH₃), 1,98, 2,56 (2 x m, 2H, 2-H de indanilo), 2,94 (m, 2H, 3-H de indanilo), 4,33 (d, J=7,90 Hz, 1H, N-H), 4,99 (q, J=7,06 Hz, 1H, 1-H de indanilo), 6,37 (m, 2H, 3,5-H), 7,48, 8,25, 7,60 (3 x s, cada 1H, 4H de indanilo, 7-H, CONH), 7,72 (t, J=8,75 Hz, 6-H); MS (ESI, m/z) 485, 487 {(M+Na)⁺ patrón isotópico de bromo}.

4-[N(5-Acetamido-6-cianoindan-1-il)amino]-2-fluorobenzoato de *tert*-butilo

A una solución de 4-[N(5-acetamido-6-bromoindan-1-il)amino]-2-fluorobenzoato de *tert*-butilo (0,420 g, 0,90 mmol) en NMP (10 ml), se añadió cianuro de cobre(I) (0,137 g, 1,53 mmol). Se puso la mezcla de reacción en un baño de aceite precalentado a 145 °C y se agitó a esta temperatura durante 2 horas. Se dejó enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente, después se vertió sobre una mezcla de amoníaco acuoso (d=0,88, 5 ml) y hielo (~15 ml) y se agitó la mezcla marrón resultante a temperatura ambiente durante ~5 min. Se recogió el sólido pardo por filtración, se lavó con agua, y después se suspendió en diclorometano (60 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 5 min, se secó (Na₂SO₄), y se concentró a vacío. Por purificación por cromatografía en columna, eluyendo con acetato de etilo al 40 % en hexano, se obtuvo un sólido que se trituró con éter dietílico/hexano. Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco: 0,202 g, (55 %) p.f. 172-173 °C; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃, TMS) 1,57 (s (oscurecido por el pico del agua), 9H, C(CH₃)₃), 2,27 (s, 3H, COCH₃), 1,96, 2,65 (2 x m, 2H, 2-H de indanilo), 3,00 (m, 2H, 3-H de indanilo), 4,30 (d, J=8,40 Hz, 1H, N-H), 4,99 (q, J=7,80 Hz, 1H, 1-H de indanilo), 6,38 (m, 2H, 3,5-H), 7,52, 8,33, 7,62 (3 x s, cada 1H, 4-H de indanilo, 7-H, CONH), 7,74 (t, J=8,60 Hz, 1H, 6-H); MS (ESI, m/z) 432 {(M+Na)⁺, 100 %}; encontrado: C, 67,44; H, 5,88; N, 10,25; P, 4,63; C₂₃H₂₄FN₃O₃ requiere C, 67,47; H, 5,91; N, 10,26 %; F, 4,64 %.

4-{N-[(6RS)-2-Metil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta-[g]quinazolin-6-il]amino}-2-fluorobenzoato de *terc*-butilo

Se enfrió en un baño de hielo una mezcla de 4-[N-(5-acetamido-6-cianoindan-1-il)amino]-2-fluorobenzoato de *terc*-butilo (0,182 g, 0,44 mmol), etanol (2 ml), y agua (0,4 ml), después se añadió una acuosa solución de H₂O₂ al 30 % (0,37 ml) seguido por hidróxido de sodio en lentejas granulado (0,030 g, 0,75 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a ~0 °C durante 10 min, después se puso en un baño de aceite precalentado a 55 °C y se agitó a esta temperatura durante 30 min. Se dejó enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente, después se separaron los disolventes a vacío y se suspendió el residuo en agua (~15 ml). Se ajustó el pH de esta mezcla a ~4 con ácido clorhídrico 1 N. Se recogió el precipitado blanco por filtración, se lavó con agua, y se secó a vacío sobre P₂O₅. Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco 0,155 g (85 %), p.f. 150-152 °C; ¹H-N (250 MHz, DMSO-d₆, TMS) 1,50 (s, 9H, C(C₃)₃), 2,32 (s, 3H, 2-CH₃), 1,83, 2,53 (2×m, 2H, 7-H), 3,00 (m, 2H, 8-H), 5,15 (q, J=7,40 Hz, 1H, 6-H), 6,57 (m, 2H, 3',5'-H), 7,16 (d, J=7,75 Hz, 1H, N¹⁰-H), 7,44, 7,87 (2 × s, cada 1H, 5-H, 9-H), 7,59 (t, J=8,73 Hz, 6'-H), 12,11 (s, 1H, N³-H), MS (ESI, m/z) 819 {(2M+H)⁺, 100 %}, 432 {(M+Na)⁺, 10 %}, 410 {(M+H)⁺, 15 %}; encontrado: C, 66,81; H, 5,89, N, 10,11; F, 4,58; C₂₃H₂₄FN₃O₃·0,25H₂O requiere C, 66,74; H, 5,96; N, 10,15 %; F, 4,59 %.

(Propargil)Co₂(CO)₆⁺BF₄⁻

Este compuesto se preparó como el Ejemplo 1 a partir del complejo de dicobaltohexacarbonilo-alcohol propargílico. Se utilizó inmediatamente en la siguiente reacción sin ninguna purificación adicional.

4-{N-[(6RS)-2-Metil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta-[g]quinazolin-6-il]-N-(prop-2-inil)amino}-2-fluorobenzoato de *terc*-butilo

A un matraz de fondo redondo cargado con (propargil)Co₂(CO)₆⁺BF₄⁻ (0,174 g, 0,43 mmol) se añadió diclorometano anhidro (secado por destilación sobre P₂O₅; 14 ml). Se agitó la solución a temperatura ambiente durante unos minutos en atmósfera de argón, después se añadió 4-{N-[(6RS)-2-metil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta-[g]quinazolin-6-yl]amino}-2-fluorobenzoato de *terc*-butilo (0,135 g, 0,33 mmol). Se continuó agitando a esta temperatura durante 5 min, después se añadió diisopropiletilamina (0,4 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 25 min en atmósfera de argón. Se sometió a reparto la mezcla de reacción entre acetato de etilo (80 ml) y salmuera (40 ml). Se lavó la capa orgánica con ácido cítrico acuoso al 10 % (30 ml), salmuera (40 ml), se secó (Na₂SO₄), y se concentró a vacío. Por purificación mediante cromatografía en columna, eluyendo con gradiente de acetato de etilo en diclorometano (25 a 50 %), se obtuvo un sólido rojo, 0,140 g (58 %); ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃, TMS) 1,58 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2,54 (s, 3H, 2-Me), 2,32, 2,61 (m, cada 1H, 7-H), 3,03, 3,23 (m, cada 1H, 8-H), 4,55 (ABq, J=16,92 Hz, 2H, N¹⁰-CH₂), 5,59 (t, J=8,30, 1H, 6-H), 6,00 (s, 1H, C-H de complejo de propargilo), 6,59 (d, J=14,52 Hz, 1H, 3'-H), 6,69 (d, J=8,70 Hz, 1H, 5'-H), 7,58, 7,98 (s, cada 1H, 5-H, 9-H), 7,79 (d, J=8,82 Hz, 6'-H), 10,96 (s, 1H, N³-H). A una solución de este complejo (0,100 g, 0,136 mmol) en etanol (15 ml) se añadió Fe(NO₃)₃·9H₂O (~2 g). La solución límpida se agitó a temperatura ambiente durante 5 min y entonces se añadió una segunda porción de Fe(NO₃)₃·9H₂O (~1,0 g). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante otros 25 min y después se añadió una porción final de Fe(NO₃)₃·9H₂O (~1,2 g). Se continuó agitando a temperatura ambiente durante otros 35 min, y después la mezcla de reacción se sometió a reparto entre acetato de etilo (70 ml) y agua (30 ml). Se lavó la capa orgánica con salmuera (2 × 30 ml), se secó (Na₂SO₄), y se concentró a vacío para dar un sólido crujiente. Por purificación mediante cromatografía en columna, eluyendo con metanol al 5 % en cloroformo, se obtuvo un sólido blanco; 0,040 g (67 %), p. f. 248-250 °C, ¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆, TMS) 1,50 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2,32 (s, 3H, 2-CH₃), 2,15 (m), 2,50 (m (oscurecido) (2H, 7-H), 2,90-3,20 (m, 3H, 8-H, C≡CH), 3,95 (ABq, J=18,52 Hz, 2H, CH₂C≡C), 5,74 (t, J=7,70 Hz, 1H, 6-H), 6,80 (m, 2H, 3',5'-H), 7,48, 7,76 (2 × s, cada 1H, 5-H, 9-H), 7,68 (t, J=9,01 Hz, 6'-H), 12,10 (s, 1H, N³-H); MS (ESI, m/z) 470 {(M+Na)⁺, 55 %}, 448 {(M+H)⁺, 70 %}; FAB-HRMS; medido: 470,1840, calculado para C₂₆H₂₆FN₃O₃Na: 470,1856.

Ácido N-[(6RS)-2-metil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il]-N-(prop-2-inil)amino}-2-fluorobenzoico

Una solución de 4-{N-[(6RS)-2-metil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il]-N-(prop-2-inil)amino}-2-fluorobenzoato de *terc*-butilo (0,061 g, 0,14 mmol) en diclorometano (1 ml) y ácido trifluoroacético (2,4 ml), se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas, y después se separaron los disolventes a vacío. Se trituró el residuo con éter dietílico y se recogió el precipitado por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó a vacío sobre P₂O₅ para obtener el compuesto deseado como la sal trifluoroacetato (0,046 g). ¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆, TMS) 2,33 (s, 3H, 2-CH₃), 2,18 (m), 2,50 (m (oscurecido)) (2H, 7-H), 2,85-3,20 (m, 3H, 8-H, C≡CH), 3,95 (ABq, J=19,02 Hz, 2H, CH₂C≡C), 5,76 (t, J=7,95 Hz, 1H, 6-H), 6,80 (d, J=16,40 Hz, 1H, 3'-H), 6,84 (d, J=9,46 Hz, 1H, 5'-H), 7,48, 7,78 (2 × s, cada 1H, 5-H, 9-H) 7,74 (t, J=9,02 Hz, 6'-H). 12,14 (s, 1H, N³-H); MS ESI, m/z) 783 {(2M+H)⁺, 100 %}, 392 {(M+H)⁺, 55 %}.

N-{N-[4{N-[(6RS)-2-Metoximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il]N-(prop-2-inil)amino}-2-fluorobenzoil]-L-γ-glutamil}-D-glutamato de tri-*terc*-butilo

A una solución de L- γ -glutamil-D-glutamato de tri-*tert*-butilo (V. Bavetsias *et al.*, J Med. Chem. 1996, 39, 73-85; 0,066 g, 0,14 mmol) en DMF anhidra (2,5 ml), se añadió la sal trifluoroacetato del ácido 4-{N-[(6RS)-2-metil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il]-N-(prop-2-inil)amino}-2-fluorobenzoico (0,045 g, 0,11 mmol), seguida por cianofosfonato de dietilo (0,051 g, 0,31 mmol) y trietilamina (0,032 g, 0,32 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2,5 horas, y después se sometió a reparto entre acetato de etilo (150 ml) y agua (100 ml). Se extrajo la capa acuosa con más acetato de etilo (100 ml). Se lavaron los extractos orgánicos reunidos con ácido cítrico acuoso al 10 % (2 \times 50 ml), solución saturada de bicarbonato de sodio (2 \times 50 ml), y salmuera (50 ml), después se secaron (Na₂SO₄), y se concentraron a vacío. Por purificación mediante cromatografía en columna, eluyendo con metanol al 1 % en acetato de etilo, se obtuvo un sólido blanco: 0,077 g (67 %); p.f.>110 °C. (se reblandece); ¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆, TMS) 1,37, 1,38, 1,41 (3 \times s, 27H, 3 \times C(CH₃)₃), 1,60-2,35 (m, 9H, 2 \times β -CH₂, 2 \times γ -CH₂, 7-H), 2,32 (s, 3H, 2-CH₃), 2,52 (m oscurecido por el pico de DMSO, 1H, 7-H), 2,86-3,23 (m, 3H, C \equiv CH, 8-H), 3,97 (ABq, J=19,0 Hz, 2H, CH₂C \equiv C), 4,12, 4,30 (2 \times m, 2H, 2 \times α -CH), 5,74 (t, J=8,70 Hz, 1H, 6-H), 6,80 (d, J=14,20 Hz, 1H, 3'-H), 6,85 (d, J=8,07 Hz, 1H, 5'-H), 7,48 (s, 1H, 9-H), 7,58 (t, J=8,8 Hz, 1H, 6'-H), 7,78 (s, 1H, 5-H), 7,98 (t, J=6,42 Hz, 1H, CONH), 8,13 (d, J=7,4 Hz, 1H, CH₂CONH), 12,11 (s, 1H, N³-H); (ESI, m/z) 818 {(M+H)⁺, 100 %}; encontrado C, 64,34; H, 7,09; N, 8,20; F, 2,22, C₄₄H₅₆FN₅O₉ requiere C, 64,61; H, 6,90; N, 8,56; F, 2,32 %.

Ácido N-{N-[4-[N-((6RS)-2-metil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]-quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]-2-fluorobenzoi]-L- γ -glutamil]-D-glutámico

Se agitó una solución de N-{N-[4-[N-((6RS)-2-metil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclo penta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]-2-fluorobenzoi]-L- γ -glutamil]-D-glutamato de tri-*tert*-butilo (0,066 g, 0,08 mmol) en ácido trifluoroacético (4,5 ml) a temperatura ambiente durante 1 hora y 10 min con protección de la luz. Se separó entonces el disolvente a vacío y se suspendió el residuo en agua (5 ml). Se ajustó el pH a ~12 con NaOH 1 N, después a ~4 con ácido clorhídrico 1 N. Se recogió el precipitado blanco por filtración y se secó a vacío sobre P₂O₅: 0,032 g (63 %), p.f. 175 °C (con descomposición); ¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆, TMS) 1,65-2,25 (m, 9H, 2 \times β -CH₂, 2 \times γ -CH₂, 7-H), 2,32 (s, 3H, 2-CH₃), 2,52 (m oscurecido por el pico de DMSO, 1H, 7-H), 2,90-3,22 (m, 3H, C \equiv CH, 8-H), 3,95 (ABq, J=19,15 Hz, 2H, CH₂ C \equiv C), 4,18, 4,37 (2 \times m, 2H, 2 \times α -CH), 5,74 (t, J=8,30 Hz, 1H, 6-H), 6,81 (d, J=15,50 Hz, 1H, 3'-H), 6,85 (d, J=7,88 Hz, 1H, 5'-H), 7,48 (s, 1H, 9-H), 7,62 (t, J=8,8 Hz, 1H, 6'-H), 7,78 (s, 1H, 5-H), 7,97 (t, J=6,55 Hz, 1H, CONH), 8,12 (d, J=8,05 Hz, 1H, CH₂CONH), 12,11 (s, 1H, N³-H); (ESI, m/z) 650 {(M+H)⁺, 100}; FAB-HRMS, medido: 672,2060; calculado para C₃₂H₃₂FN₅O₉Na: 672,2082.

30 Ejemplo 3: Síntesis de CB300960 (derivado N-metilo de CB300945)



Ácido 4-{N-[(6RS)-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il]-N-(prop-2-inil)amino}benzoico

Método A: Se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora una solución de 4-{N-[(6RS)-2-(2,2-dimetilpropioniloximetil)-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il]-N-(prop-2-inil)amino}-benzoato de *tert*-butilo (0,150 g, 0,28 mmol) en diclorometano (2 ml) y ácido trifluoroacético (6 ml). Se separaron entonces los

disolventes a vacío y se suspendió el residuo en metanol (3 ml) y agua (5 ml). Se ajustó el pH a 10 con NaOH 1 N

(1,1 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 4 horas. Se diluyó la mezcla de reacción con agua (5

ml) y se ajustó el pH a 5 con HCl 1 N. Se recogió entonces el sólido por filtración, pero la ¹H NMR indicó que la

40 separación del grupo pivaloilo no era completa. Se suspendió este sólido en el filtrado y se añadió entonces NaOH 1

N (0,9 ml, 0,9 mmol) (pH 12). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3,5 horas, se añadió entonces más NaOH 1 N (0,2 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 0,5 horas adicionales. Se ajustó entonces el pH a 5,0 con HCl 1 N. Se recogió el precipitado blanquecino por filtración, se lavó con agua y se secó a

5 vacío sobre P₂O₅: 0,86 g, (79 %); ¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆, TMS) 2,22 (m, 1H 7-CH), 2,90-3,30 (m, 3H, C≡CH, 8-H), 3,97 (ABc, J= 18,6 Hz, 2H, CH₂C≡C), 4,37 (d, J= 6,1 Hz, 2H, 2-CH₂), 5,56 (t, 1H, CH₂OH), 5,78 (t, J= 7,51 Hz, 1H, 6-H), 7,03 (d, J= 8,9 Hz, 2H, 3', 5'-H), 7,55 (s, 1H, 9-H), 7,82 (m, 3H, 2',6'-H, 5-H); MS (ESI, m/z) 779 {(2M+H)⁺, 100 %}, 390 {(M+H)⁺, 60 %}.

10 Método B: Se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora una solución de 4-{N-[(6RS)-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahydro-6H-ciclopenta[g]-quinazolin-6-il]-N-prop-2-inil)amino}benzoato de *terc*-butilo (0,050 g, 0,11 mmol) en diclorometano (1 ml) y ácido trifluoroacético (2,4 ml). Se separaron entonces los disolventes a vacío y se trituró el residuo con éter dietílico. Se recogió el precipitado blanquecino por filtración y se lavó con éter, para obtener el producto deseado como la sal trifluoroacetato: 0,044 g.

N-{N-[4-[N-((6RS)-2-Hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahydro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil]-L-γ-glutamil}-N-metil-L-glutamato de tri-*terc*-butilo

15 A una mezcla de ácido 4-{N-[(6RS)-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahydro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il]-N-(prop-2-inil)amino}benzoico (0,075 g, 0,19 mmol), L-γ-glutamil-N-metil-L-glutamato de tri-*terc*-butilo (V. Bavetsias *et al.*, J.

20 Med. Chem., 1997, 40, 1495-1510; 0,110 g, 0,24 mmol) y DMF anhidra (2,0 ml), se añadió cianofosfonato de dietilo (0,036 g, 0,22 mmol) con la ayuda de DMF anhidra (0,2 ml), seguido de trietilamina (0,022 g, 0,22 mmol). Se agitó la solución límpida a temperatura ambiente durante 1,5 horas, y se sometió a reparto entonces entre acetato de etilo (50 ml) y salmuera (40 ml). Se extrajo la capa acuosa con más acetato de etilo (2 x 50 ml). Se lavaron los extractos orgánicos reunidos con ácido cítrico acuoso al 10 % (40 ml), solución saturada de bicarbonato de sodio (40 ml) y salmuera (40 ml), se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a vacío. Por purificación mediante cromatografía en columna, eluyendo con un gradiente de metanol en diclorometano (0 a 6 %), se obtuvo un sólido blanquecino que se purificó adicionalmente por trituración con hexano/diclorometano/éter dietílico: 0,062 g (40 %); p.f. 116-120 °C (se reblandece); ¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆, TMS) 1,36, 1,37, 1,38, 1,41 (4 x s, 27H, 3 x C(CH₃)₃), 1,70-2,35 (m) y 2,50 (m oscurecido por el pico de DMSO) (10H, 2 x β-CH₂, 2 x γ-CH₂, 7-CH₂), 2,63, 2,82 (2 x s, 3H, CONMe), 2,90-3,25 (m, 3H, C=CH, 8-H), 3,97 (ABc, J = 17,6 Hz, 2H, =CH₂C≡C), 4,32 (m, 1H, α-CH de glu), 4,38 (d, J= 6,1 Hz, 2H, 2-CH₂), 4,50, 4,82 (2 x dd, 1H, α-CH de Meglu), 5,56 (t, J= 6,9 Hz, 1H, CH₂OH), 5,78 (t, J= 7,10 Hz, 1H, 6-H), 7,02 (d, J= 8,6 Hz, 2H, 3',5'-H), 7,55 (s, 1H, 9-H), 7,78 (d, J= 8,9 Hz, 2H, 2',6'-H), 7,82 (s, 1H, 5-H), 8,32 (m, 1H, CONH), 11,81 (s, 1H, N³-H); MS (ESI, m/z) 830 {(M+H)⁺, 100 %}.

Ácido N-{N-[4-[N-((6RS)-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahydro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil]-L-γ-glutamil}-N-metil-L-glutámico

35 Se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y 10 min con protección de la luz, una solución de N-{N-[4-[N-((6RS)-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahydro-6H-ciclopenta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]-benzoil]-L-γ-glutamil}-N-metil-L-glutamato de tri-*terc*-butilo (0,060 g, 0,07 mmol) en ácido trifluoroacético (3,5 ml). Se separó entonces el

disolvente a vacío y se suspendió el residuo en agua (6 ml). Se ajustó el pH a 10 con NaOH 1 N y después a 4

40 con ácido clorhídrico 1 N. Se recogió el precipitado blanco por filtración y se secó a vacío sobre P₂O₅: 0,035 g (77 %), p.f. >165 °C (con descomposición); ¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆, TMS) 1,80-2,35 (m) y 2,50 (m oscurecido por el pico de DMSO) (10H, 2 x β-CH₂, 2 x γ-CH₂, 7-CH₂), 2,66, 2,83 (2 x s, 3H, CONMe), 2,90-3,25 (m, 3H, C≡CH, 8-H), 3,97 (ABc, J= 18,4 Hz, 2H, CH₂C≡C), 4,32 (m oscurecido, 1H, α-CH de glu), 4,38 (d, J= 5,6 Hz, 2H, 2-CH₂), 4,55, 4,91 (2 x dd, J= 10,0, 4,5 Hz, 1H, α-CH de Meglu), 5,56 (t mal resuelta, 1H, CH₂OH), 5,77 (t, J= 8,06 Hz, 1H, 6-H), 7,02 (d, J = 7,8 Hz, 2H, 3',5'-H), 7,55 (s, 1H, 9-H), 7,81 (d, J= 10,1 Hz, 3H, 2',6'-H, 5-H), 8,32 (m, 1H, CONH), 11,82

(s, 1H, N³-H); MS (ESI, m/z) 662 {(M+H)⁺, 100 %}; encontrado: C, 57,52; H, 5,52; N, 10,17; C₃₃H₃₅N₅O₁₀•1,5 H₂O requiere: C, 57,55; H, 5,56; N, 10,17 %.

Ejemplo 4: Evaluación *in vitro*

5 Las ciclopenta[g]quinazolinas de la invención, particularmente las de los ligandos L-glu-γ-D-glu, o ligandos modificados (por ejemplo CB300907 y CB300899) son potentes inhibidores de la TS (Kiapp 0,17 a 3 nM) y tienen muy bajas afinidades para el portador de folato reducido (RFC) (Tabla 1). Las afinidades con respecto al ácido fólico (Tabla 1) variaron poco y fueron ligeramente más bajas que el propio ácido fólico. Estas propiedades no predijeron necesariamente la potencia ni la selectividad *in vitro* de las líneas celulares humanas que sobreexpresan el α-FR. Por ejemplo, la CB300944, un análogo 2-NH₂, tiene una baja potencia y ninguna selectividad para las células A431-FBP o KB. Los mejores compuestos a este respecto son los compuestos de 2-CH₃ y 2-CH₂OH. Estos fueron de 150 a 4700 veces más activos en las células A431-FBP en comparación con las células A431. Similarmente, cuando se añadió un exceso de ácido fólico para bloquear la captación mediada por FR en las células A431-FBP, la diferencia de ± ácido fólico fue de 100 a 4300 veces. En las células KB la diferencia de ± ácido fólico fue de 73 a 2100. Hay que tener en cuenta que todos estos experimentos se realizaron en medios que contienen tetrahidrofolato de 5-formilo 20 nM (leucovorina; LV) como la fuente de folato. Este es el intervalo fisiológico del folato en el plasma humano. Si se realizan los experimentos con bajo folato, LV 1 nM o inferior (como son muchos experimentos antifolato de las publicaciones científicas) entonces el grado de selectividad aumenta para varios de los compuestos basados en quinazolina incluyendo el CB3717.

Las tablas 4, 5, 6 y 7 presentan las estructuras de los compuestos ensayados.

20 Ejemplo 5: Formulación

A continuación se ilustran las formas farmacéuticas representativas que contienen una ciclopenta[g]quinazolina de la fórmula (I), particularmente en forma de sal farmacéuticamente aceptable, para uso terapéutico o profiláctico en seres humanos:

(a) Comprimidos I mg/comprimido

Sal de ciclopenta[g]quinazolina	100
Lactosa Ph.Eur.	182,75
Croscarmelosa sódica	12,0
Pasta de almidón de maíz (pasta al 5 % p/v)	2,25
Estearato de magnesio	3,0

(b) Comprimidos II mg/comprimido

Sal de ciclopenta[g]quinazolina	50
Lactosa Ph.Eur.	223,75
Croscarmelosa sódica	6,0
Almidón de maíz	15,0
Polivinilpirrolidona (pasta al 5 % p/v)	2,25
Estearato de magnesio	3,0

(c) Comprimidos III mg/comprimido

ES 2 373 644 T3

Sal de ciclopenta[g]quinazolina	1,0
Lactosa Ph.Eur.	93,25
Croscarmelosa sódica	4,0
Pasta de almidón de maíz (pasta al 5 % p/v)	0,75
Estearato de magnesio	1,0

(d) Cápsulas mg/cápsula

Sal de ciclopenta[g]quinazolina	10,0
Lactosa Ph.Eur.	488,5
Estearato de magnesio	1,5

(e) Inyectable I (50 mg/ml)

Sal de ciclopenta[g]quinazolina	5,0 % p/v
Solución de hidróxido de sodio 1 M	15,0 % v/v
Ácido clorhídrico 0,1 M (para ajustar el pH a 7,6)	
Polietilenglicol 400	4,5 % p/v
Agua para inyectables hasta 100 %	

(f) Inyectable II (10 mg/ml)

Sal de ciclopenta[g]quinazolina	1,0 % p/v
Fosfato de sodio BP	3,6 % p/v
Solución de hidróxido de sodio 0,1 M	15,0 % v/v
Agua para inyectables hasta 100 %	

(g) Inyectable III (1 mg/ml, tamponado a pH 6)

Sal de ciclopenta[g]quinazolina	0,1 % p/v
Fosfato de sodio BP	2,26 % p/v
Ácido cítrico	0,38 % p/v
Polietilenglicol 400	3,5 % p/v

Agua para inyectables hasta 100 %

Se pueden preparar las formulaciones anteriores por procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica farmacéutica. Los comprimidos (a) a (c) pueden ser recubiertos entéricamente por medios convencionales, por ejemplo, con un recubrimiento de acetato-ftalato de celulosa.

Tabla 1: Propiedades *in vitro* de quinazolinas y ciclopenta[g]quinazolinas

	Ligando		Inhibición de TS L1210 aislado Kiapp (nM)	Inhibición de captación de ³ H MTX Ki (μM)		² Afinidad relativa inversa para α-FR	
				³ L1210	⁴ W1L2	⁵ L1210-FBP	⁶ A431-FBP
Compuestos comparativos							
*Raltitrexed	2-CH ₃	L-Glu	510	2,6, 2,3	0,61, 0,70	0,6 ± 0,1	0,24 ± 0,02
*CB3717	2-NH ₂	L-Glu	20	46 ± 17	20 ± 16	1,5 ± 0,12	1,2 ± 0,06
*IC1198583	2-CH ₃	L-Glu	31	2,6 ± 0,06	1,2, 1,0	0,80 ± 0,05	
CB3900	2-CH ₃ , 7-CH ₃	L-Glu	23	4,3, 4,7	1,3	0,30 ± 0,07	
CB300464 (S)	2-CH ₃ , ciclopentano	L-Glu	3	9,1 ± 5,1	4,9 ± 2,3	0,44 ± 0,10	0,51 ± 0,0058
CB300958 (R,S)	2-NH ₂ , ciclopentano	L-glu	0,75			0,73 ± 0,035	0,57 ± 0,059
CB300959 (R,S)	2-CH ₂ OH, ciclopentano	L-glu	12			0,71 ± 0,012	0,57 ± 0,032
ZD9331	2-CH ₃ , 7-CH ₃ , 2'F	L-Glu-γ-tet	1,0	2,4 ± 1,0	0,76 ± 0,11	0,54 ± 0,1	0,30 ± 0,08
CB30901	2-CH ₃ , 7-CH ₃	L-glu-γ-D-glu	2,0	269 ± 162	83	0,31 ± 0,0089	—
CB300944 (R,S)	2-NH ₂ , ciclopentano	L-glu-γ-D-glu	0,67	>250	>250, >250	0,73 ± 0,05	0,68 ± 0,10
Compuestos de la invención							
CB300638 (S)	2-CH ₃ , ciclopentano	L-glu-γ-D-glu	0,33 ± 0,16	>250	115 ± 12	0,66 ± 0,08	0,53 ± 0,07
CB300638 (R,S)	2-CH ₃ , ciclopentano	L-glu-γ-D-glu	0,42	166 ± 34	279 ± 146	0,60 ± 0,06	0,59 ± 0,03
CB300947 (R,S)	2-CH ₃ , 2'F, ciclopentano	L-glu-γ-D-glu	0,46, 0,77	>250	97,315	0,73 ± 0,01	0,58 ± 0,01
CB300945 (S)	2-CH ₂ OH, ciclopentano	L-glu-γ-D-glu	1,9	—	—	0,70 ± 0,015	0,69 ± 0,05
CB300945 (R,S)	2-CH ₂ OH, ciclopentano	L-glu-γ-D-glu	2,6, 3,3	>250	>250	0,73 ± 0,06	0,67 ± 0,11
CB300907 (S)	2-CH ₃ , ciclopentano	L-glu-γ-D-glu(α-tetrazol)	0,16, 0,17	186 ± 121	142 ± 54	0,61 ± 0,07	0,58 ± 0,032
CB300899 (R,S)	2-CH ₃ , ciclopentano	L-glu-NCH ₃ -L-glu	0,78	>250	>250	0,62 ± 0,04	0,64 ± 0,046

*puede ser poliglutamado

¹Ki alta = baja afinidad para el portador de folato reducido (RFC);

²Afinidad inversa relativa alta = alta afinidad para el α-FR. Ácido fólico = 1;

³células tumorales L1210 de ratón;

⁴células linfoblastoideas humanas;

⁵células tumorales de ratón L1210-FBP que sobreexpresan el α -FR (Jansen *et al.*, Cancer Res., 49, 2455-2459, 1989-identificadas más tarde como de origen L1210: véase la corrección en Cancer Res. 55, 1995);

⁶las células A431-FBP son células tumorales A431 humanas transfectadas con el α -FR (Bagnoli *et al.*, Oncogene 19, 4754-4763, 2000)

Tabla 2: Actividad de las quinazolininas y ciclopenta[g]quinazolininas en el crecimiento de las líneas celulares A431 y A431-FBP en folato 20 nM (LV R,S)

A431	Inhibición de crecimiento celular, IC ₅₀ , uM LV 20 nM		Inhibición de crecimiento celular, IC ₅₀ , uM LV 20 nM	
	¹ A431 + FA 1 μ M (veces de aumento de la IC ₅₀ en presencia de ácido fólico)	² A431-FBP (veces de aumento de la sensibilidad comparada con A431)	¹ A431-FBP + FA 1 μ M (veces de aumento de la IC ₅₀ en presencia de ácido fólico)	
Compuestos comparativos				
*Raltitrexed	0,0034 \pm 0,0016	0,0036 \pm 0,0016 (1)	0,00079 \pm 0,00036 (4)	0,0013 \pm 0,00070 (2)
*CB3717	1,2 \pm 0,63	1,4 \pm 0,56 (1)	0,26 \pm 0,12 (4)	0,45 \pm 0,14 (2)
*ICI 198583	0,024 \pm 0,004	0,026 \pm 0,0038 (1)	0,012 \pm 0,005 (2)	0,020 \pm 0,0046 (2)
CB3900	2,2 \pm 0,26	2,6 \pm 0,92 (1)	1,4 \pm 0,36 (2)	1,5 \pm 0,29 (1)
CB300464 (S)	0,76 \pm 0,40	0,77 \pm 0,41 (1)	0,24 \pm 0,13 (3)	0,36 \pm 0,17 (2)
CB300958 (R,S)	23	23 (1)	10 (2)	20 (2)
CB300959 (R,S)	4,2	5,8 (1)	8,8 (0,5)	18 (2)
ZD9331	0,082 \pm 0,042	0,067 \pm 0,029 (1)	0,018 \pm 0,0097 (4)	0,034 \pm 0,0087 (2)
CB30901	1,4 \pm 0,70	1,1 \pm 0,76 (1)	0,21 \pm 0,26 (5)	0,47 \pm 0,24 (2)
CB300944 (R,S)	23, 27	22, 25 (1)	8,3 \pm 0,64 (3)	7,1 \pm 1,0 (1)
Compuestos de la invención				
CB300638 (S)	0,81 \pm 0,31	0,97 \pm 0,58 (1)	0,0030 \pm 0,0021 (270)	0,49 \pm 0,17 (160)
CB300638 (R,S)	1,4 \pm 0,23	1,4 \pm 0,25 (1)	0,0065 \pm 0,0001 (220)	0,87 \pm 0,29 (130)
CB300947 (R,S)	1,4 \pm 0,26	1,2 \pm 0,51 (1)	0,0094 \pm 0,004 (150)	0,93 \pm 0,21 (100)
CB300945 (S)	7,0	6,5 (1)	0,0015 (4700)	6,4 (4300)
CB300945 (R,S)	9,8 \pm 3,4	9,3 \pm 3,5 (1)	0,0021 \pm 0,0011 (4700)	6,5 \pm 0,86 (3100)
CB300907 (S)	1,4 \pm 0,82	1,6 \pm 1,1 (1)	0,0026 \pm 0,0018 (540)	0,43 \pm 0,18 (170)
CB300899 (R,S)	2,2 \pm 0,17	2,1 \pm 0,058 (1)	0,00092 \pm 0,00012 (2400)	1,9 \pm 0,17 (2100)
CB300960 (R,S)	4,5	4,3 (1)	0,028	5,1 (180)

*puede ser poliglutamado; FA = ácido fólico

¹Se añade ácido fólico en exceso para competir con los compuestos por la unión al α -FR. Las cifras >1 entre paréntesis indican una captación mediada por el α -FR y una inhibición del crecimiento;

²Las células A431-FBP son transfectadas con el α -FR. v las cifras entre paréntesis >1 indican un aumento de la

sensibilidad relativa para las células A431 y captación mediada por el α -FR. Los números más altos representan una selectividad más alta.

5 Tabla 3: Actividad de quinazolinas y ciclopenta[g]quinazolinas en el crecimiento de células KB humanas en folato 20 nM (LV R,S)

	Inhibición del crecimiento celular, IC ₅₀ , μ M LV 20 nM	
	¹ KB	² KB + FA 1 μ M (veces de aumento de la IC ₅₀ en presencia de ácido fólico)
Compuestos comparativos		
Raltitrexed	0,0011 \pm 0,00071	0,0012 \pm 0,00059 (1)
CB3717	0,007 \pm 0,002	0,58 \pm 0,20 (80)
ICI 198583	0,002 \pm 0,0004	0,02 \pm 0,002 (10)
CB3900	0,13 \pm 0,006	0,31 \pm 0,04 (2)
CB300464 (S)	0,009 \pm 0,0004	0,21 \pm 0,01 (23)
CB300958 (R,S)	8,4, 6,8	26, 15 (3)
CB300959 (R,S)	0,42, 0,50	5,8, 4,8 (11)
ZD9331	0,0036 \pm 0,0021	0,01 \pm 0,005 (3)
CB30901	0,010 \pm 0,0056	0,21 \pm 0,023 (21)
CB300944 (R,S)	19 \pm 0,58	19 \pm 1,2 (1)
Compuestos de la invención		
CB300638 (S)	0,0036 \pm 0,0015	0,39 \pm 0,18 (110)
CB300638 (R,S)	0,0053 \pm 0,0025	0,76 \pm 0,17 (140)
CB300947 (R,S)	0,008 \pm 0,001	0,58 \pm 0,03 (73)
CB300945 (S)	0,0027 \pm 0,0015	4,8 \pm 0,75 (1800)
CB300945 (R,S)	0,0034 \pm 0,0009	7,3 \pm 2,0 (2100)
CB300907 (S)	0,0062 \pm 0,003	0,49 \pm 0,14 (79)
CB300899 (R,S)	0,0051 \pm 0,00031	2,2 \pm 0,40 (430)

¹ Las células KB sobreexpresan constitutivamente el α -FR

² Se añade ácido fólico en exceso para competir con los compuestos por la unión al α -FR. Las cifras >1 entre paréntesis indican una captación mediada por el α -FR y una inhibición del crecimiento. Los números más altos representan una selectividad más alta.

Tabla 4: Estructuras de los compuestos ensayados-Compuestos comparativos

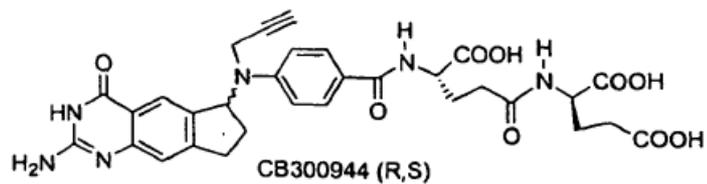
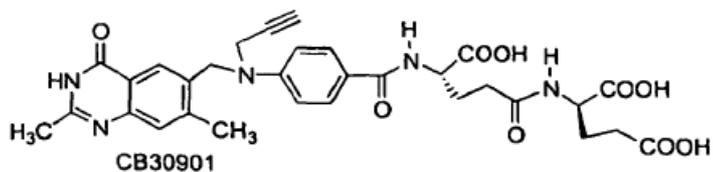
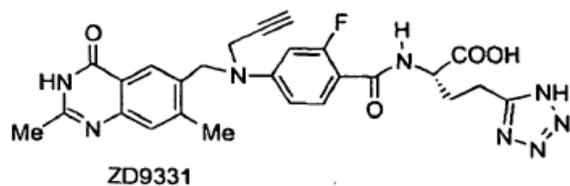
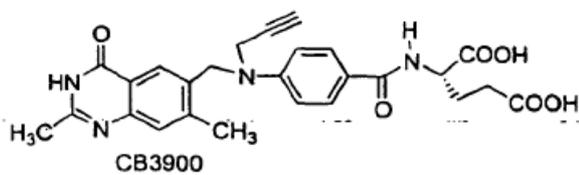
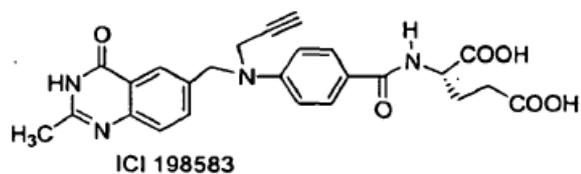
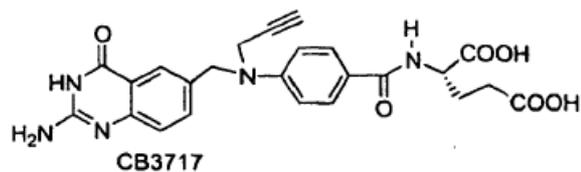
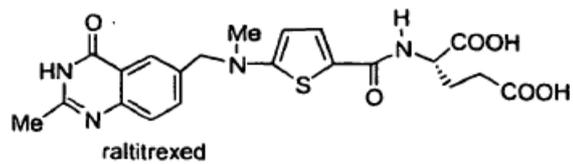


Tabla 5: Estructuras de los compuestos ensayados-Compuestos comparativos

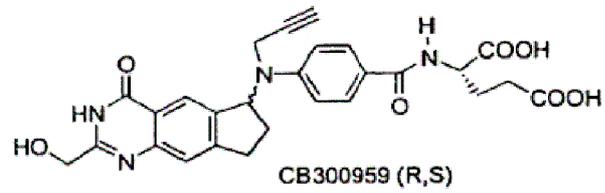
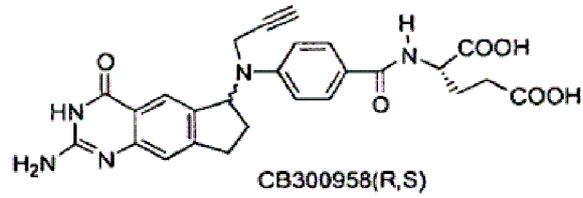
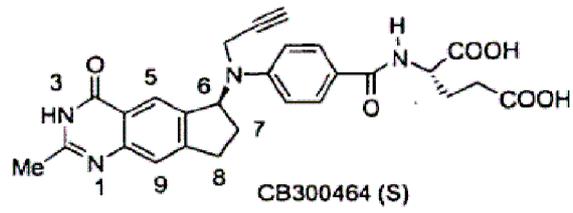


Tabla 6: Estructuras de los compuestos ensayados-Compuestos de la invención

5

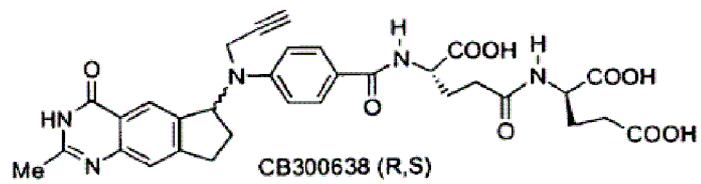
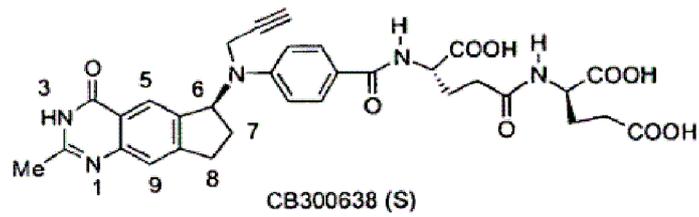
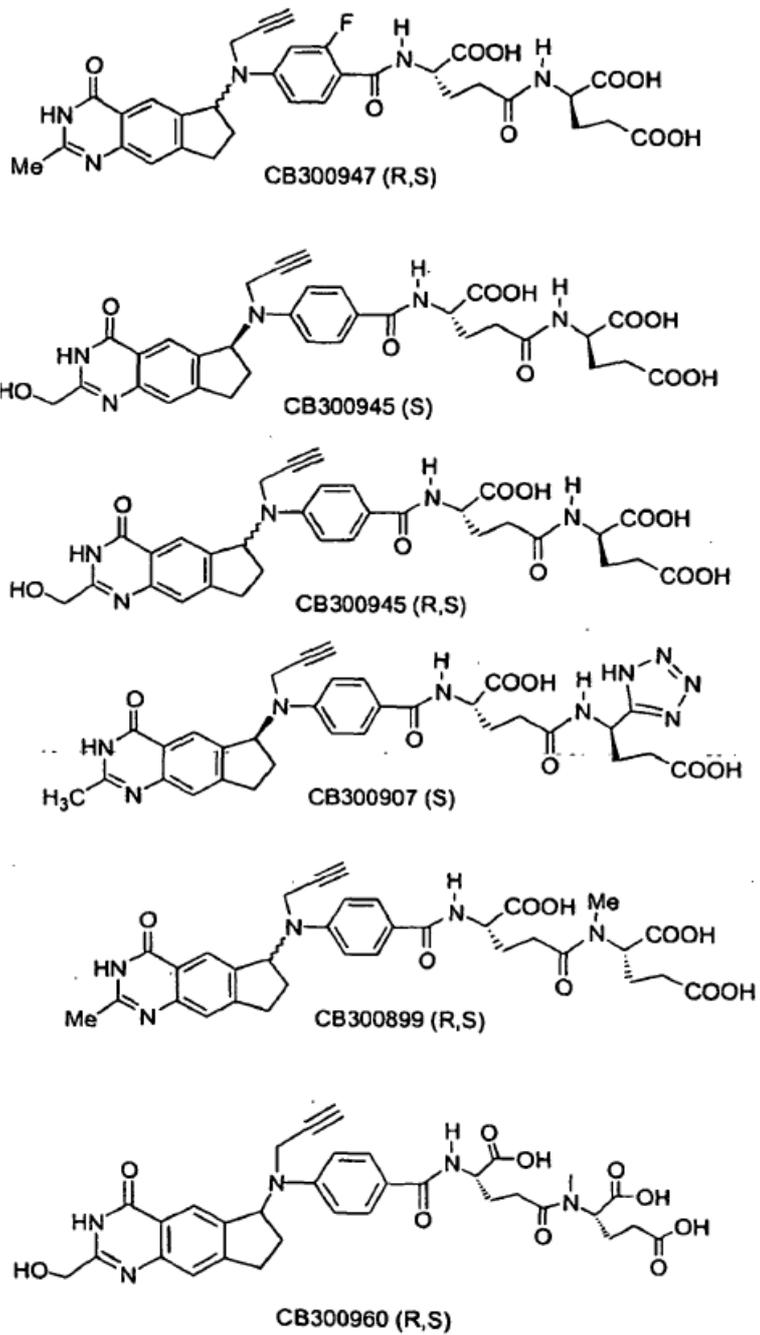
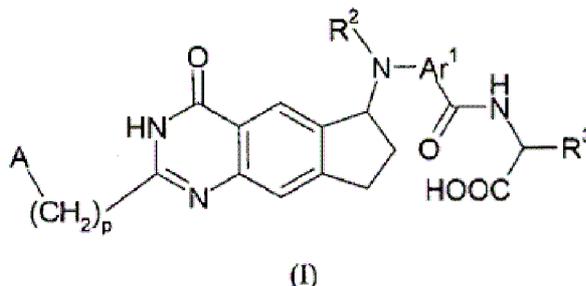


Tabla 7: Estructuras de los compuestos ensayados-Compuestos de la invención



REIVINDICACIONES

1. Una ciclopenta[g]quinazolina de la fórmula (I):



en la que:

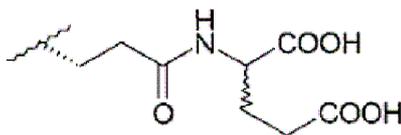
5 A es un grupo OR^0 en el que R^0 es hidrógeno o metilo;

p es un número entero en el intervalo de 1 a 4;

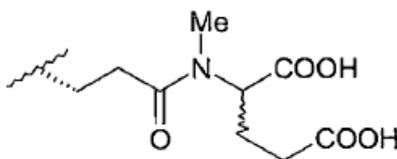
R^2 es etilo o prop-2-inoilo;

Ar^1 es 1,4-fenileno o 1,4-fenileno que tiene un 2-fluoro; y

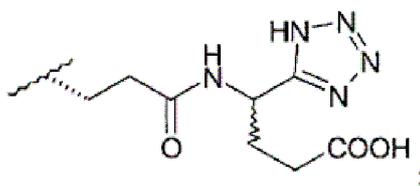
10 R^3 es el resto de un ácido $NH_2-CH(COOH)R^3$ que comprende L-Glu- γ -D-Glu, esto es ácido N-L- γ -glutamil-D-glutámico, o L-Glu- γ -L-Glu, esto es ácido N-L- γ -glutamil-L-glutámico, en el que R^3 es de la fórmula:



R^3 es el correspondiente derivado N-metilado de la fórmula:



o R^3 es el correspondiente derivado de tetrazol-5-ilo de la fórmula:



15

estando opcionalmente el compuesto (I) en la forma de una sal o de un éster farmacéuticamente aceptable;

para el tratamiento de los tumores sólidos.

2. La ciclopenta[g]quinazolina para el tratamiento de los tumores sólidos según la reivindicación 1, en la que p es 1.

20 3. La ciclopenta[g]quinazolina para el tratamiento de los tumores sólidos según la reivindicación 1, en la que la ciclopenta[g]quinazolina de la fórmula (I) se selecciona de:

ácido N-{N-[4-[N-(-2-metoximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclo-penta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil]-L-γ-glutamil}-D-glutámico;

ácido N-{N-[4-[N-(-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclo-penta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil]-L-γ-glutamil}-D-glutámico; o

5 ácido N-{N-[4-[N-(-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclo-penta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil]-L-γ-glutamil}-N-metil-L-glutámico;

o una sal o un éster farmacéuticamente aceptable de los mismos.

4. La ciclopenta[g]quinazolina para el tratamiento de los tumores sólidos según la reivindicación 1, en la que la ciclopenta[g]quinazolina de la fórmula (I) se selecciona de:

10 ácido N-{N-[4-[N-((6RS)-2-metoximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclo-penta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil]-L-γ-glutamil}-D-glutámico;

ácido N-{N-[4-[N-((6RS)-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclo-penta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil]-L-γ-glutamil}-D-glutámico; o

15 ácido N-{N-[4-[N-((6RS)-2-hidroximetil-4-oxo-3,4,7,8-tetrahidro-6H-ciclo-penta[g]quinazolin-6-il)-N-(prop-2-inil)amino]benzoil]-L-γ-glutamil}-N-metil-L-glutámico;

o una sal o un éster farmacéuticamente aceptable de los mismos.

5. La ciclopenta[g]quinazolina para el tratamiento de los tumores sólidos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que los átomos de carbono en la posición 6 del sistema de anillos tienen la orientación 6S.

20 6. La ciclopenta[g]quinazolina para el tratamiento de los tumores sólidos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el átomo de carbono alfa del grupo -CONHCH(CO₂H)- tiene la configuración L.

7. La ciclopenta[g]quinazolina para el tratamiento de los tumores sólidos según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la ciclopenta[g]quinazolina de la fórmula (I) está en la forma de una composición farmacéutica que comprende la ciclopenta[g]quinazolina en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 8. La ciclopenta[g]quinazolina para el tratamiento de los tumores sólidos según la reivindicación 7, en la que la composición farmacéutica comprende adicionalmente una o más de otras sustancias anticancerosas.

9. La ciclopenta[g]quinazolina para el tratamiento de los tumores sólidos según la reivindicación 8, en la que la sustancia o sustancias anticancerosas adicionales se seleccionan de otros antimetabolitos, de los agentes de interacción con DNA, de los inhibidores de la transducción de señales o de otros inhibidores de las rutas desreguladas en los tumores.

30 10. La ciclopenta[g]quinazolina según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para el tratamiento de un carcinoma de origen ovárico.