

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 955**

51 Int. Cl.:  
**C07D 403/12** (2006.01)  
**C07D 241/42** (2006.01)  
**C07D 409/12** (2006.01)  
**C07D 413/12** (2006.01)  
**C07D 401/12** (2006.01)  
**C07D 405/12** (2006.01)  
**C07D 403/04** (2006.01)  
**C07D 401/14** (2006.01)  
**A61K 31/498** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05856681 .1**  
96 Fecha de presentación: **29.04.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1745041**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.01.2007**

54 Título: **Inhibidores de quinoxalina de la vía de señalización hedgehog**

30 Prioridad:  
**30.04.2004 US 566843 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**05.11.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**05.11.2012**

73 Titular/es:  
**GENENTECH, INC. (50.0%)**  
**1 DNA WAY**  
**SOUTH SAN FRANCISCO, CA94080-4990, US y**  
**CURIS, INC. (50.0%)**

72 Inventor/es:  
**KOEHLER, MICHAEL F. T.;**  
**GOLDSMITH, RICHARD y**  
**SUTHERLIN, DANIEL P.**

74 Agente/Representante:  
**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 389 955 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

Inhibidores de quinoxalina de la vía de señalización hedgehog

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos orgánicos útiles para el tratamiento y/o la profilaxis en un mamífero, en particular a compuestos de quinoxalina que inhiben la vía de señalización hedgehog (erizo) y son útiles en el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas y enfermedades mediadas por angiogénesis.

10

## Antecedentes de la invención

La proteína hedgehog (Hh) (o proteína erizo) se identificó por primera vez en *Drosophila melanogaster* como un gen de polaridad de segmento involucrado en el desarrollo embrionario (Nusslein-Volhard et al., Roux. Arch. Dev. Biol. 193:267-282 (1984)). Más tarde se identificó que tres ortólogos de hedgehog de *Drosophila* (Sonic, Desert e Indian) aparecen en todos los vertebrados, incluidos peces, aves y mamíferos. Desert hedgehog (Dhh) se expresa principalmente en los testículos, tanto en el desarrollo embrionario del ratón como en el roedor y humano adultos; Indian hedgehog (Ihh) está involucrada en el desarrollo óseo durante la embriogénesis y en la formación de hueso en el adulto; y Sonic hedgehog (Shh) se expresa en altos niveles en el notocordio y la placa del piso de embriones de vertebrados en desarrollo. Los ensayos de explantes in vitro así como la expresión ectópica de Shh en animales transgénicos demuestran que Shh desempeña un papel clave en la formación del tubo neuronal (Echelard et al., supra.; Ericson et al., Cell 81: 747-56 (1995); Marti et al., Nature 375: 322-5 (1995); Krauss et al., Cell 75, 1432-44 (1993); Riddle et al., Cell 75: 1401-16 (1993); Roelink et al, Cell 81:445-55 (1995); Hynes et al., Neuron 19: 15-26 (1997)). HH también juega un papel en el desarrollo de las extremidades (Krauss et al., 75 Cell: 1431-44 (1993); Laufer et al., Cell 79, 993-1003 (1994)), los somitas (Fan y Tessier-Lavigne, Cell 79, 1175-86 (1994); Johnson et al., 79 Cell : 1165-73 (1994)), los pulmones (Bellusci et al., Develop. 124: 53-63 (1997) y la piel (Oro et al., Science 276: 817-21 (1997)). Asimismo, Ihh y Dhh participan en el desarrollo del hueso, el intestino y las células germinales (Apelqvist et al., Curr. Biol. 7: 801-4 (1997); Bellusci et al., Dev. Suppl. 124: 53-63 (1997); Bitgood et al., Curr. Biol. 6: 298-304 (1996); Roberts et al., Development 121: 3163-74 (1995)).

15

La Shh humana se sintetiza como una proteína precursora de 45 kDa que luego de la escisión autocatalítica produce un fragmento N-terminal de 20 kDa que es responsable de la actividad de señalización hedgehog normal; y un fragmento C-terminal de 25 kDa que es responsable de la actividad de autoproteólisis en la cual el fragmento N-terminal se conjuga con una porción de colesterol (Lee, J.J., et al. (1994) Science 266, 1528- 1536; Bumcrot, D.A., et al. (1995), Mol. Cell Biol. 15, 2294-2303; Porter, J.A., et al. (1995) Nature 374, 363- 366). El fragmento N-terminal consta de los residuos de aminoácidos 24-197 de la secuencia precursora de tamaño natural el cual permanece asociado a la membrana a través del colesterol en su extremo C-terminal (Porter, J.A., et al. (1996) Science 274, 255- 258; Porter, J.A., et al. (1995) Cell 86, 21-34). La conjugación del colesterol es responsable por la localización en el tejido de la señal de hedgehog.

20

Se cree que en la superficie celular, la señal de Hh es transmitida por la proteína de 12 dominios transmembrana Patched (Ptc) (Hooper y Scott, Cell 59: 751-65 (1989); Nakano et al., Nature 341: 508-13 (1989)) y el receptor del tipo acoplado a proteína G Smoothened (Smo) (Alcedo et al., Cell 86: 221-232 (1996); van den Heuvel e Ingham, Nature 382: 547-551 (1996)). La evidencia tanto genética como bioquímica respalda un modelo de receptor en el que Ptc y Smo son parte de un complejo receptor multicomponentes (Chen y Struhl, Cell 87: 553-63 (1996); Marigo et al., Nature 384: 176-9 (1996); Stone et al., Nature 384: 129-34 (1996)). Al unirse Hh a Ptc, el efecto inhibitorio normal de Ptc sobre Smo se mitiga, permitiendo que Smo transduzca la señal de Hh a través de la membrana plasmática. Sin embargo, el mecanismo exacto por el cual Ptc controla la actividad de Smo todavía no se ha dilucidado.

25

La cascada de señalización iniciada por Smo produce la activación de los factores de transcripción Gli que se translocan al núcleo donde controlan la transcripción de los genes diana. Se ha demostrado que Gli influye sobre la transcripción de los inhibidores de la vía de Hh como Ptc e Hip1 en un bucle de retroalimentación negativa que indica que es necesario el estricto control de la actividad de la vía de Hh para la adecuada diferenciación celular y la formación de órganos. La activación incontrolada de la vía de señalización de Hh se asocia con tumores malignos en particular de cerebro, piel y músculo así como con angiogénesis. Una explicación para esto es que se ha demostrado que la vía Hh regula la proliferación celular en los adultos mediante activación de los genes implicados en la progresión del ciclo celular como ciclina D que está involucrada en la transición G1-S. Asimismo, Shh bloquea la detención del ciclo celular mediada por p21, un inhibidor de las cinasas dependientes de ciclinas. La señalización HH está además implicada en el cáncer mediante la inducción de componentes en la vía EGFR (EGF, Her2) involucrada en la proliferación, así como componentes de las vías PDGF (PDGF $\alpha$ ) y VEGF involucradas en angiogénesis. Se han identificado mutaciones de pérdida de la función en el gen Ptc en pacientes con el síndrome de nevo de células basales (BCNS), una enfermedad hereditaria que se caracteriza por múltiples carcinomas basocelulares (BCC). Las mutaciones disfuncionales en el gen Ptc también se asociaron a un gran porcentaje de

30

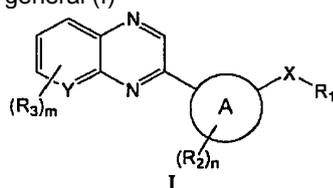
los tumores esporádicos de carcinoma basocelular (Chidambaram et al., Cancer Research 56: 4599-601 (1996); Gailani et al., Nature Genet. 14: 78-81 (1996); Hahn et al., Cell 85: 841-51 (1996); Johnson et al., Science 272: 1668-71 (1996); Uden et al., Cancer Res. 56: 4562-5; Wicking et al., Am. J. Hum. Genet. 60: 21-6 (1997)). Se cree que la pérdida de la función de Ptch causa una señalización incontrolada de Smo en el carcinoma basocelular. Análogamente, se han identificado mutaciones que activan a Smo en tumores esporádicos de BCC (Xie et al., Nature 391: 90-2 (1998)), lo que enfatiza el papel de Smo como la subunidad de señalización en el complejo receptor de SHh.

Se han investigado diversos inhibidores de la señalización hedgehog como ciclopamina, un alcaloide natural que se demostró que detiene el ciclo celular en G0-G1 e induce apoptosis en SCLC. Se cree que la ciclopamina inhibe a Smo uniéndose a su haz heptahelicoidal. Se ha comprobado que Forskolin inhibe la vía de Hh secuencia abajo de Smo activando la proteína cinasa A (PKA) que mantiene inactivos los factores de transcripción Gli. A pesar de los avances debidos a estos y otros compuestos, permanece la necesidad de inhibidores potentes de la vía de señalización hedgehog.

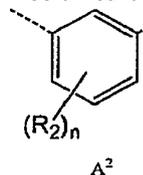
Brzozowski Z describe en Acta Poloniae Pharmaceutical, vol. 53, no. 4, 1996, p. 269-276 "2-mercapto-N-(azolil)benzenosulfonamidas III. Síntesis de algunos nuevos derivados de 2-mercapto-N-(5-amino-1,2,4-triazol-3-il)benzenosulfonamida con posible actividad anticancerígena o anti-VIH". WO 03/88970 describe 2-fenil-indoles como moduladores de la vía de señalización hedgehog.

### Resumen de la invención

En un aspecto de la presente invención se proporcionan nuevos inhibidores de hedgehog que tienen la fórmula general (I)



donde A es un carbociclo de



X es NR<sub>4</sub>C(O) donde R<sub>4</sub> es H o alquilo;

Y es N, CH o CR<sub>3</sub>;

R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, arilo o un heterociclo cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo, haloalquilo o alcoxi; y dicho cicloalquilo, arilo y heterociclo están además opcionalmente sustituidos con -(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-(Q)<sub>u</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-Z donde Q es C(O), S(O), SO<sub>2</sub>, C(O)O, OC(O), NR<sub>4</sub>C(O), NR<sub>4</sub>C(S), NR<sub>4</sub>SO, NR<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>, NR<sub>4</sub>C(O)NH, NR<sub>4</sub>C(S)NH, C(O)NR<sub>4</sub> o C(S)NR<sub>4</sub>; y Z es hidroxilo, amino, halógeno, alquilsulfonilo, alcoxi, alcoxycarbonilo, haloalquilo, un carbociclo, un heterociclo o un carbociclo o heterociclo sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxi o alcoxialcoxi; y s y t son independientemente 0 a 5 y u es 0 o 1; donde alquilo significa un grupo hidrocarburo alifático ramificado o lineal, saturado o insaturado, que tiene hasta 12 átomos de carbono; cicloalquilo significa un anillo mono-, bi- o tricíclico que tiene 3 a 14 átomos de carbono; arilo significa un grupo aromático carbocíclico fusionado o no que tiene una cantidad de átomos de carbono hasta 14; heterociclo significa cualquier anillo mono-, bi- o tricíclico, saturado o insaturado, aromático (heteroarilo) o no aromático que tiene una cantidad de átomos en el anillo entre 5 y 14, donde los átomos son de carbono y al menos un heteroátomo (nitrógeno, azufre u oxígeno),

R<sub>2</sub> es halógeno, hidroxilo, alquilo, acilo o alcoxi cada uno opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo o alcoxi;

R<sub>3</sub> es halógeno, hidroxilo, alquilo, acilo o alcoxi cada uno opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo o alcoxi; m es 0-3;

n

es 1;

y sus sales y solvatos.

- 5 En otro aspecto de la invención, se proporcionan composiciones que contienen compuestos de fórmula I y un vehículo, diluyente o excipiente.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un método para tratar el cáncer que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I a un mamífero que lo necesita.

- 10 En otro aspecto de la invención, se proporciona un método para inhibir la señalización hedgehog en una célula que comprende poner en contacto dicha célula con un compuesto de fórmula I.

- 15 En otro aspecto de la invención, se proporciona un método para tratar una enfermedad o afección asociada con la señalización hedgehog en un mamífero, que comprende administrará dicho mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

- 20 Definiciones:

"Acilo" significa un sustituyente que contiene un carbonilo representado por la fórmula - C(O)-R donde R es alquilo, un carbocicilo, un heterociclo, un carbocicloalquilo o un heterocicloalquilo donde alquilo, carbociclo y heterociclo son según se definen en este documento. Los grupos acilo incluyen alcanilo (por ej. acetilo), aroilo (por ej. benzoilo) y heteroarilo.

"Alquilo" significa un grupo hidrocarburo alifático ramificado o lineal, saturado o insaturado (es decir, alqueno, alquino) que tiene hasta 12 átomos de carbono a menos que se especifique lo contrario. Cuando se usa como parte de otro término, por ejemplo "alquilamino" la porción alquilo puede ser una cadena de un hidrocarburo saturado, sin embargo también incluye cadenas de hidrocarburos insaturados como "alquenal" y "alquino". Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo, n-pentilo, 2-metilbutilo, 2,2-dimetilpropilo, n-hexilo, 2-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo, n-heptilo, 3-heptilo, 2-metilhexilo y análogos. Los términos "alquilo inferior", "C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo" y "alquilo de 1 a 4 átomos de carbono" son sinónimos y se usan indistintamente para indicar metilo, etilo, 1-propilo, isopropilo, ciclopropilo, 1-butilo, sec-butilo o t-butilo. A menos que se especifique, los grupos alquilo sustituidos pueden contener uno, dos, tres o cuatro sustituyentes que pueden ser iguales o diferentes. Los ejemplos de los grupos alquilo sustituidos mencionados antes incluyen, pero no exclusivamente; cianometilo, nitrometilo, hidroximetilo, tritloximetilo, propioniloximetilo, aminometilo, carboximetilo, carboxietilo, carboxipropilo, alquiloiloximetilo, alquiloiloximetilaminometilo, carbamoiloximetilo, metoximetilo, etoximetilo, t-butoximetilo, acetoximetilo, clorometilo, bromometilo, yodometilo, trifluorometilo, 6-hidroxihexilo, 2,4-dicloro(n-butilo), 2-amino(isopropilo), 2-carbamoiloxietilo y análogos. El grupo alquilo también puede estar sustituido con un grupo carbociclo. Los ejemplos incluyen grupos ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo y ciclohexilmetilo así como los correspondientes grupos etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, etc. Los alquilos sustituidos incluyen metilos sustituidos, por ejemplo un grupo metilo sustituido con los mismos sustituyentes que el grupo "C<sub>n</sub>-C<sub>m</sub> alquilo sustituido". Los ejemplos de grupo metilo incluyen grupos como hidroximetilo, hidroximetilo protegido (p. ej. tetrahidropiranioloximetilo), acetoximetilo, carbamoiloximetilo, trifluorometilo, clorometilo, carboximetilo, bromometilo y yodometilo.

"Amidina" indica el grupo -C(NH)-NHR donde R es H o alquilo o aralquilo. Una amidina particular es el grupo -NH-C(NH)-NH<sub>2</sub>.

"Amino" indica aminas primarias (es decir -NH<sub>2</sub>), secundarias (es decir -NRH) y terciarias (es decir -NRR). Las aminas secundarias y terciarias incluyen alquilamina, dialquilamina, arilamina, diarilamina, aralquilamina y diaralquilamina. Aminas secundarias y terciarias particulares son metilamina, etilamina, propilamina, isopropilamina, fenilamina, bencilamina, dimetilamina, dietilamina, dipropilamina y diisopropilamina.

"Grupo protector de amino" según se usa en este documento se refiere a un derivado de los grupos empleados comúnmente para bloquear o proteger un grupo amino mientras se llevan a cabo reacciones en otros grupos funcionales del compuesto. Los ejemplos de dichos grupos protectores incluyen carbamatos, amidas, grupos alquilo y arilo, iminas, así como muchos derivados N-heteroátomo que pueden ser eliminados para regenerar el grupo amina deseado. Otros ejemplos de esos grupos se encuentran en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2<sup>a</sup> ed., John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, NY, 1991, capítulo 7; E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry", J. G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, Nueva York, NY, 1973, capítulo 5, y T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, Nueva York, NY, 1981. La expresión "amino protegido" se refiere a un grupo amino sustituido con uno de los grupos protectores de amino mencionados

antes.

“Ariilo” cuando se usa solo o como parte de otro término significa un grupo aromático carbocíclico fusionado o no, que tiene el número de átomos de carbono designado o si no hay un número designado, hasta 14 átomos de carbono. Los grupos ariilo incluyen fenilo, naftilo, bifenilo, fenantrenilo, naftaceno y análogos (véase p. ej. Lang's Handbook of Chemistry (Dean, J. A., ed) 13<sup>a</sup> ed. Tabla 7-2 [1985]). En una realización particular ariilo puede ser fenilo. Fenilo sustituido o ariilo sustituido indica un grupo fenilo o un grupo ariilo sustituido con uno, dos, tres, cuatro o cinco, como 1-2, 1-3 o 1-4 sustituyentes elegidos, a menos que se especifique lo contrario, entre halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, hidroxilo protegido, ciano, nitro, alquilo (por ejemplo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilo), alcoxi (por ejemplo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alcoxi), benciloxi, carboxi, carboxi protegido, carboximetilo, carboximetilo protegido, hidroximetilo, hidroximetilo protegido, aminometilo, aminometilo protegido, trifluorometilo, alquilsulfonilamino, arilsulfonilamino, heterociclisulfonilamino, heterociclilo, ariilo u otros grupos especificados. Uno o más grupos metino (CH) y/o metileno (CH<sub>2</sub>) en esos sustituyentes, pueden a su vez estar sustituidos con un grupo similar a los indicados antes. Los ejemplos de la expresión “fenilo sustituido” incluyen, pero no exclusivamente, un grupo mono- o di(halo)fenilo como 2-clorofenilo, 2-bromofenilo, 4-clorofenilo, 2,6-diclorofenilo, 2,5-diclorofenilo, 3,4-diclorofenilo, 3-clorofenilo, 3-bromofenilo, 4-bromofenilo, 3,4-dibromofenilo, 3-cloro-4-fluorofenilo, 2-fluorofenilo y análogos; un grupo mono- o di(hidroxilo)fenilo como 4-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo, 2,4-dihidroxifenilo, sus derivados hidroxilo protegidos y análogos; un grupo nitrofenilo como 3- o 4-nitrofenilo; un grupo cianofenilo, por ejemplo, 4-cianofenilo; un grupo mono- o di(alquil inferior)fenilo como 4-metilfenilo, 2,4-dimetilfenilo, 2-metilfenilo, 4-(isopropil)fenilo, 4-etilfenilo, 3-(n-propil)fenilo y análogos; un grupo mono- o di(alcoxi)fenilo, por ejemplo, 3,4-dimetoxifenilo, 3-metoxi-4-benciloxifenilo, 3-metoxi-4-(1-clorometil)benciloxifenilo, 3-etoxifenilo, 4-(isopropoxi)fenilo, 4-(t-butoxi)fenilo, 3-etoxi-4-metoxifenilo y análogos; 3- o 4-trifluorometilfenilo; un grupo mono- o dicarboxifenilo o (carboxi protegido)fenilo como 4-carboxifenilo; un mono- o di(hidroximetil)fenilo o (hidroximetil protegido)fenilo como 3-(hidroximetil protegido)fenilo o 3,4-di(hidroximetil)fenilo; un mono- o di(aminometil)fenilo o (aminometil protegido)fenilo como 2-(aminometil)fenilo o 2,4-(aminometil protegido)fenilo; o un mono- o di(N-(metilsulfonilamino))fenilo como 3-(N-(metilsulfonilamino))fenilo. Asimismo, la expresión “fenilo sustituido” representa grupos fenilo disustituidos donde los sustituyentes son diferentes, por ejemplo, 3-metil-4-hidroxifenilo, 3-cloro-4-hidroxifenilo, 2-metoxi-4-bromofenilo, 4-etil-2-hidroxifenilo, 3-hidroxilo-4-nitrofenilo, 2-hidroxilo-4-clorofenilo, y análogos, así como grupos fenilo trisustituidos donde los sustituyentes son diferentes, por ejemplo, 3-metoxi-4-benciloxi-6-metilsulfonilamino, 3-metoxi-4-benciloxi-6-fenilsulfonilamino, y grupos fenilo tetrasustituidos donde los sustituyentes son diferentes como 3-metoxi-4-benciloxi-5-metil-6-fenilsulfonilamino. Los grupos fenilo sustituidos incluyen grupos 2-clorofenilo, 2-aminofenilo, 2-bromofenilo, 3-metoxifenilo, 3-etoxifenilo, 4-benciloxifenilo, 4-metoxifenilo, 3-etoxi-4-benciloxifenilo, 3,4-dietoxifenilo, 3-metoxi-4-benciloxifenilo, 3-metoxi-4-(1-clorometil)benciloxifenilo, 3-metoxi-4-(1-clorometil)benciloxi-6-metil sulfonil aminofenilo. Los anillos ariilo fusionados también pueden estar sustituidos con cualquiera (por ejemplo 1, 2 o 3) de los sustituyentes especificados en este documento de la misma manera que los grupos alquilo sustituidos.

“Carbociclilo”, “carbociclífico”, “carbocíclico” y “carbociclo” solos y cuando se usan como una porción en un grupo complejo como un grupo carbocicloalquilo, se refieren a un anillo alifático mono-, bi- o tricíclico de 3 a 14 átomos de carbono, por ejemplo de 3 a 7 átomos de carbono, que puede ser saturado o insaturado, aromático o no aromático y puede estar unido por puente. Los grupos carbocíclicos saturados incluyen grupos ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. En una realización particular los grupos carbociclo son ciclopropilo y ciclohexilo. En otra realización particular el grupo carbociclo es ciclohexilo. Los carbociclos insaturados incluyen grupos aromáticos por ej. ariilo según se definieron previamente como por ejemplo fenilo. Las expresiones “carbociclilo sustituido”, “carbociclo sustituido” significa esos grupos sustituidos por los mismos sustituyentes que los grupos “alquilo sustituidos”.

“Grupo protector de carboxi” según se usa en este documento se refiere a uno de los derivados éster del grupo ácido carboxílico comúnmente empleado para bloquear o proteger el grupo ácido carboxílico mientras se llevan a cabo reacciones en otros grupos funcionales del compuesto. Los ejemplos de dichos grupos protectores de ácido carboxílico incluyen 4-nitrobencilo, 4-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, 2,4-dimetoxibencilo, 2,4,6-trimetoxibencilo, 2,4,6-trimetilbencilo, pentametilbencilo, 3,4-metilenodioxibencilo, benzhidrido, 4,4'-dimetoxibenzhidrido, 2,2',4,4'-tetrametoxibenzhidrido, alquilo como t-butilo o t-amilo, tritolil, 4-metoxitritilo, 4,4'-dimetoxitritilo, 4,4',4"-trimetoxitritilo, 2-fenilprop-2-ilo, trimetilsililo, t-butildimetilsililo, fenacilo, 2,2,2-tricloroetilo, beta-(trimetilsilil)etilo, beta-(di(n-butil)metilsilil)etilo, p-toluenosulfonietilo, 4-nitrobencil sulfonietilo, alilo, cinamilo, 1-(trimetilsililmetil)prop-1-en-3-ilo, y porciones semejantes. La especie de grupo protector de carboxi empleada no es fundamental en la medida que el ácido carboxílico derivatizado sea estable en las condiciones de las reacciones subsiguientes en otras posiciones de la molécula y pueda ser eliminado en el momento adecuado sin alterar el resto de la molécula. En particular, es importante no someter una molécula con un carboxi protegido a bases nucleofílicas o condiciones reductoras fuertes empleando catalizadores metálicos altamente activados como níquel Raney. (Dichas condiciones de eliminación tan severas también se deben evitar cuando se eliminan los grupos protectores de amino y los grupos protectores de hidroxilo, tratados más adelante). Los grupos protectores de ácido carboxílico incluyen grupos alilo y p-nitrobencilo. Se pueden usar grupos protectores de carboxi similares a los utilizados en el campo de la cefalosporina, la penicilina y los péptidos para proteger sustituyentes de un grupo carboxi. Otros ejemplos de esos grupos se encuentran en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2<sup>a</sup> ed., John Wiley & Sons, Inc., Nueva York,

N.Y., 1991, capítulo 5; E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry", J. G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, Nueva York, N.Y., 1973, capítulo 5, y T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, Nueva York, NY, 1981, capítulo 5. La expresión "carboxi protegido" se refiere a un grupo carboxi sustituido con uno de los grupos protectores de carboxi mencionados antes.

5 "Guanidina" indica el grupo -NH-C(NH)-NHR donde R es H o alquilo o aralquilo. Un grupo guanidina particular es -NH-C(NH)-NH<sub>2</sub>.

10 "Grupo heterocíclico", "heterocíclico", "heterociclo" o "heterocicliilo" solos y cuando se usan como una porción en un grupo complejo como un grupo heterocicloalquilo, se usan indistintamente y se refieren a cualquier anillo mono-, bi- o tricíclico, saturado o insaturado, aromático (heteroarilo) o no aromático que tenga el número de átomos designado, por ejemplo de 5 a 14 átomos en el anillo, donde los átomos del anillo son carbono y al menos un heteroátomo (nitrógeno, azufre u oxígeno), por ejemplo de 1 a 4 heteroátomos. Habitualmente, un anillo de 5 átomos tiene 0 a 2 dobles enlaces y un anillo de 6 o 7 átomos tiene 0 a 3 dobles enlaces y los heteroátomos nitrógeno o azufre pueden estar opcionalmente oxidados (p. ej. SO, SO<sub>2</sub>), y cualquier heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado. Los heterociclos no aromáticos incluyen morfolinilo (morfolino), pirrolidinilo, oxiranilo, oxetanilo, tetrahidrofuranilo, 2,3-dihidrofuranilo, 2H-piranilo, tetrahidropiranilo, tiiranilo, tietanilo, tetrahidrotietanilo, aziridinilo, azetidínilo, 1-metil-2-pirrolilo, piperazinilo y piperidinilo. Un grupo "heterocicloalquilo" es un grupo heterocíclico según se definió antes, unido covalentemente a un grupo alquilo según se definió antes. Los heterociclos de 5 átomos que contienen un átomo de azufre u oxígeno y uno a tres átomos de hidrógeno incluyen tiazolilo, por ejemplo tiazol-2-ilo y N-óxido de tiazol-2-ilo, tiadiazolilo, por ejemplo 1,3,4-tiadiazol-5-ilo y 1,2,4-tiadiazol-5-ilo, oxazolilo, por ejemplo oxazol-2-ilo, y oxadiazolilo, como 1,3,4-oxadiazol-5-ilo, y 1,2,4-oxadiazol-5-ilo. Los heterociclos de 5 átomos que contienen 2 a 4 átomos de nitrógeno incluyen imidazolilo, por ejemplo imidazol-2-ilo; triazolilo, por ejemplo 1,3,4-triazol-5-ilo; 1,2,3-triazol-5-ilo, 1,2,4-triazol-5-ilo, y tetrazolilo, por ejemplo 1H-tetrazol-5-ilo. Los heterociclos de 5 átomos, fusionados a benzo, incluyen benzoxazol-2-ilo, benzotiazol-2-ilo y bencimidazol-2-ilo. Los heterociclos de 6 átomos que contienen uno a tres átomos de nitrógeno y opcionalmente un átomo de azufre u oxígeno incluyen piridilo, como pirid-2-ilo, pirid-3-ilo, y pirid-4-ilo; pirimidilo, por ejemplo pirimid-3-ilo y pirimid-4-ilo; triazinilo, por ejemplo 1,3,4-triazin-2-ilo y 1,3,5-triazin-4-ilo; piridazinilo, por ejemplo piridazin-3-ilo, y pirazinilo. En una realización particular los heterociclos de 6 átomos incluyen N-óxidos de piridina y N-óxidos de piridazina y los grupos piridilo, pirimid-2-ilo, pirimid-4-ilo, piridazinilo y 1,3,4-triazin-2-ilo. Los sustituyentes para heterociclos opcionalmente sustituidos, y otros ejemplos de los sistemas de anillo de 5 y 6 átomos tratados antes, se pueden encontrar en W. Druckheimer et al., patente de los Estados Unidos N° 4,278,793.

35 "Heteroarilo" solo y cuando se usa como una porción en un grupo complejo como un grupo heteroaralquilo, se refiere a cualquier sistema de anillo aromático mono-, bi- o tricíclico que tenga el número de átomos designados, donde al menos un anillo es de 5, 6 o 7 átomos y contiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre. En una realización particular, los grupos heteroarilo contienen al menos un heteroátomo (*Lang's Handbook of Chemistry, supra*). Incluidos en la definición están los grupos bicíclicos donde cualquiera de los anillos heteroarilo mencionados antes está fusionado a un anillo benceno. En una realización particular, los heteroarilos incorporan al menos un heteroátomo de nitrógeno y/u oxígeno. Los sistemas de anillo siguientes son ejemplos de los grupos heteroarilo (que pueden estar sustituidos, o no) indicados por el término "heteroarilo": tienilo, furilo, imidazolilo, pirazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tetrazolilo, tiatriazolilo, oxatriazolilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazinilo, tiazinilo, oxazinilo, triazinilo, tiadiazinilo, oxadiazinilo, ditiazinilo, dioxazinilo, oxatiazinilo, tetrazinilo, tiatriazinilo, oxatriazinilo, ditiadiazinilo, imidazolinilo, dihidropirimidilo, tetrahidropirimidilo, tetrazolo[1,5-b]piridazinilo y purinilo, así como derivados fusionados a benzo, por ejemplo benzoxazolilo, benzofurilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzotriazolilo, benzoimidazolilo e indolilo. En una realización particular, "heteroarilo" incluye 1,3-tiazol-2-ilo, 4-(carboximetil)-5-metil-1,3-tiazol-2-ilo, sal sódica de 4-(carboximetil)-5-metil-1,3-tiazol-2-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5-ilo, 3-metil-1,2,4-tiadiazol-5-ilo, 1,3,4-triazol-5-ilo, 2-metil-1,3,4-triazol-5-ilo, 2-hidroxi-1,3,4-triazol-5-ilo, sal sódica de 2-carboxi-4-metil-1,3,4-triazol-5-ilo, 2-carboxi-4-metil-1,3,4-triazol-5-ilo, 1,3-oxazol-2-ilo, 1,3,4-oxadiazol-5-ilo, 2-metil-1,3,4-oxadiazol-5-ilo, 2-(hidroximetil)-1,3,4-oxadiazol-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-5-ilo, 2-tiol-1,3,4-tiadiazol-5-ilo, 2-(metiltio)-1,3,4-tiadiazol-5-ilo, 2-amino-1,3,4-tiadiazol-5-ilo, 1H-tetrazol-5-ilo, 1-metil-1H-tetrazol-5-ilo, 1-(1-(dimetilamino)et-2-il)-1H-tetrazol-5-ilo, 1-(carboximetil)-1H-tetrazol-5-ilo, sal sódica de 1-(carboximetil)-1H-tetrazol-5-ilo, 1-(ácido metilsulfónico)-1H-tetrazol-5-ilo, sal sódica de 1-(ácido metilsulfónico)-1H-tetrazol-5-ilo, 2-metil-1H-tetrazol-5-ilo, 1,2,3-triazol-5-ilo, 1-metil-1,2,3-triazol-5-ilo, 2-metil-1,2,3-triazol-5-ilo, 4-metil-1,2,3-triazol-5-ilo, N-óxido de pirid-2-ilo, 6-metoxi-2-(n-óxido)-piridaz-3-ilo, 6-hidroxipiridaz-3-ilo, 1-metilpirid-2-ilo, 1-metilpirid-4-ilo, 2-hidropirimid-4-ilo, 1,4,5,6-tetrahidro-5,6-dioxo-4-metil-as-triazin-3-ilo, 1,4,5,6-tetrahidro-4-(formilmetil)-5,6-dioxo-as-triazin-3-ilo, 2,5-dihidro-5-oxo-6-hidroxi-astriazin-3-ilo, sal sódica de 2,5-dihidro-5-oxo-6-hidroxi-2-metil-astriazin-3-ilo, 2,5-dihidro-5-oxo-6-hidroxi-2-metil-as-triazin-3-ilo, 2,5-dihidro-5-oxo-6-metoxi-2-metil-as-triazin-3-ilo, 2,5-dihidro-5-oxo-as-triazin-3-ilo, 2,5-dihidro-5-oxo-2-metil-as-triazin-3-ilo, 2,5-dihidro-5-oxo-2,6-dimetil-as-triazin-3-ilo, tetrazolo[1,5-b]piridazin-6-ilo y 8-aminotetrazolo[1,5-b]piridazin-6-ilo. Alternativamente, los grupos "heteroarilo" incluyen 4-(carboximetil)-5-metil-1,3-tiazol-2-ilo, sal sódica de 4-(carboximetil)-5-metil-1,3-tiazol-2-ilo, 1,3,4-triazol-5-ilo, 2-metil-1,3,4-triazol-5-ilo, 1H-tetrazol-5-ilo, 1-metil-1H-tetrazol-5-ilo, 1-(1-(dimetilamino)et-2-il)-1H-tetrazol-5-ilo, 1-(carboximetil)-1H-tetrazol-5-ilo, sal sódica de 1-(carboximetil)-1H-tetrazol-5-ilo, 1-(ácido metilsulfónico)-1H-tetrazol-5-

ilo, sal sódica de 1-(ácido metilsulfónico)-1H-tetrazol-5-ilo, 1,2,3-triazol-5-ilo, 1,4,5,6-tetrahidro-5,6-dioxo-4-metil-as-triazin-3-ilo, 1,4,5,6-tetrahidro-4-(2-formilmetil)-5,6-dioxo-as-triazin-3-ilo, sal sódica de 2,5-dihidro-5-oxo-6-hidroxi-2-metil-as-triazin-3-ilo, 2,5-dihidro-5-oxo-6-hidroxi-2-metil-as-triazin-3-ilo, tetrazolo[1,5-b]piridazin-6-ilo y 8-aminotetrazolo[1,5-b]piridazin-6-ilo.

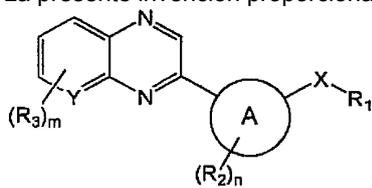
“Grupo protector de hidroxii” según se usa en este documento se refiere a un derivado del grupo hidroxii comúnmente empleado para bloquear o proteger el grupo hidroxii mientras se llevan a cabo reacciones en otros grupos funcionales del compuesto. Los ejemplos de dichos grupos protectores incluyen grupos tetrahidropiranioloxii, acetoxii, carbamoioloxii, trifluoro, cloro, carboxii, bromo y yodo. Otros ejemplos de esos grupos se encuentran en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2ª ed., John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, NY, 1991, capítulos 2-3; E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry", J. G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, Nueva York, NY, 1973, capítulo 5, y T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, Nueva York, NY, 1981. La expresión “hidroxii protegido” se refiere a un grupo hidroxii sustituido con un grupo protector de hidroxii como los descritos antes.

“Sales farmacéuticamente aceptables” incluye tanto sales de adición de ácido como de base. “Sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable” se refiere a las sales que retienen la eficacia biológica y las propiedades de las bases libres y que no son indeseables biológicamente ni de otra manera, formadas con ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido carbónico, ácido fosfórico y análogos, y ácidos orgánicos que se pueden seleccionar entre las clases de ácidos orgánicos alifáticos, cicloalifáticos, aromáticos, aralifáticos, heterocíclicos, carboxilicos y sulfónicos como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido maleico, ácido maloneico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido aspártico, ácido ascórbico, ácido glutámico, ácido antranílico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido embónico, ácido fenilacético, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y ácidos similares.

“Sales de adición de base farmacéuticamente aceptables” incluyen las derivadas de bases inorgánicas como sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio y análogas. Son sales particulares las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas atóxicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluidas las aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas y resinas de intercambio de iones básicos, como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dimetilaminoetanol, trimetamina, dicitclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, piperazina, piperidina, N-etilpiperidina, resinas de poliamina y análogas. En una realización particular, las bases orgánicas atóxicas, son isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetamina, dicitclohexilamina, colina y cafeína.

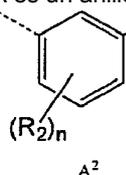
La frase “y sus sales y solvatos” según se usa en este documento significa que los compuestos de la invención pueden existir en una o más formas salinas o solvatos. Por ejemplo un compuesto de la invención puede estar sustancialmente puro en una forma salina o solvato particular o de lo contrario puede estar como mezclas de dos o más formas salinas o solvatos.

La presente invención proporciona compuestos nuevos que tienen la fórmula general I:

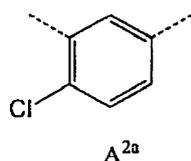


donde A, X, Y, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son los definidos en este documento.

A es un anillo seleccionado del grupo que consiste en A<sup>2</sup>:



En una realización particular A es el anillo A<sup>2a</sup>.



X es NR<sub>4</sub>C(O) donde R<sub>4</sub> es H o alquilo. En una realización particular X es NR<sub>4</sub>C(O) que forma una unión amida entre el anillo A y R<sub>1</sub>.

5 Y es N, CH o CR<sub>3</sub>. En una realización particular Y es CH o CR<sub>3</sub>. En otra realización Y es CH. En otra realización Y es N.

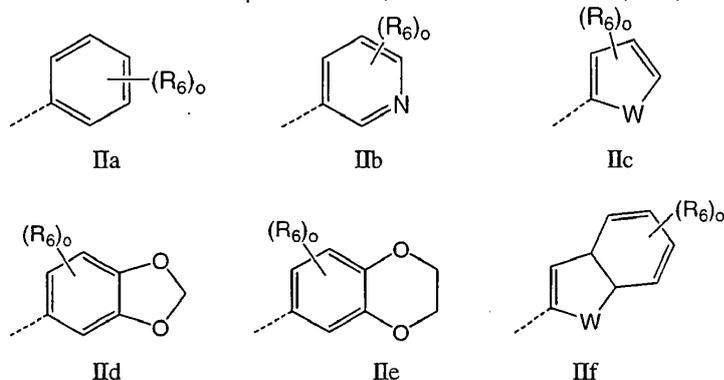
10 R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, arilo o un heterociclo cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo, haloalquilo o alcoxi; y dicho cicloalquilo, arilo y heterociclo están opcionalmente sustituidos con -(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-(Q)<sub>u</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-Z donde Q es C(O), S(O), SO<sub>2</sub>, C(O)O, OC(O), NR<sub>4</sub>C(O), NR<sub>4</sub>C(S), NR<sub>4</sub>SO, NR<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>, NR<sub>4</sub>C(O)NH, NR<sub>4</sub>C(S)NH, C(O)NR<sub>4</sub> o C(S)NR<sub>4</sub>; y Z es hidroxilo, amino, halógeno, alquilsulfonilo, alcoxi, alcoxycarbonilo, haloalquilo, un carbociclo, un heterociclo, o un carbociclo o heterociclo sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxi o alcoxialcoxi; y s y t son independientemente 0 a 5 y u es 0 o 1. Alternativamente, R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en cicloalquilo, arilo o un heterociclo donde cada uno está opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo o alcoxi.

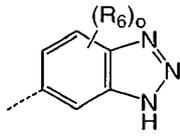
20 En una realización particular R<sub>1</sub> es un cicloalquilo, arilo o heterociclo opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo, haloalquilo o alcoxi; y dicho cicloalquilo, arilo o heterociclo está además sustituido con -(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-(Q)<sub>u</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-Z donde Q es C(O), S(O), SO<sub>2</sub>, C(O)O, OC(O), NR<sub>4</sub>C(O), NR<sub>4</sub>C(S), NR<sub>4</sub>SO, NR<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>, NR<sub>4</sub>C(O)NH, NR<sub>4</sub>C(S)NH, C(O)NR<sub>4</sub> o C(S)NR<sub>4</sub>; y Z es hidroxilo, amino, halógeno, alquilsulfonilo, alcoxi, alcoxycarbonilo, haloalquilo, un carbociclo, un heterociclo, o un carbociclo o heterociclo sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxi o alcoxialcoxi; y s y t son independientemente 0 a 5 y u es 0 o 1.

25 En una realización particular Q es C(O). En otra realización Q es C(O)NH. En otra realización Q es C(O)O. En otra realización Q es SO<sub>2</sub>. En otra realización Q es SO<sub>2</sub>NH. En otra realización Q es NH. En una realización s es 0. En otra realización s es 0 a 3. En una realización t es 0. En otra realización t es 0 a 3. En una realización u es 0. En otra realización u es 1.

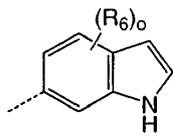
35 En una realización particular Z es un carbociclo o un heterociclo seleccionado del grupo que consiste en piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolino, pirazol, triazol, pirrolidona, imidazol y tiomorfolina. En una realización particular Z es un carbociclo o heterociclo seleccionado del grupo que consiste en piperidin-1-ilo, 4-hidroxi-piperidin-1-ilo, N-metil-piperidin-4-ilo, piperazin-1-ilo, N-metil-piperazin-1-ilo, N-etil-piperazin-1-ilo, N-acetil-piperazin-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, 3,5-dimetil-piperazin-1-ilo, morfolin-1-ilo, tiomorfolin-1-ilo, 3,5-dimetil-morfolin-1-ilo, N-hidroxi-etil-piperazin-1-ilo, pirazol-1-ilo, 1,2,4-triazol-1-ilo, pirrolid-2-ona-1-ilo e imidazol-5-ilo. En otra realización particular Z es hidroxilo, dimetilamino, CF<sub>3</sub>, metoxycarbonilo o metoxi.

40 Alternativamente, R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en cicloalquilo, arilo o un heterociclo cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo o alcoxi. En una realización particular R<sub>1</sub> es un arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido. En una realización particular R<sub>1</sub> es un grupo fenilo opcionalmente sustituido. En otra realización particular R<sub>1</sub> es un grupo piridina opcionalmente sustituido. En una realización particular R<sub>1</sub> es de fórmula IIa, IIb, IIc, IId, IIe, II f, IIg, IIh, Ili, IIj, IIk, III o II m:

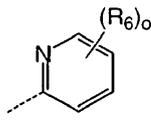




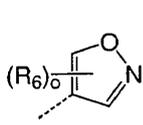
IIg



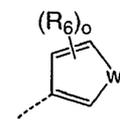
IIh



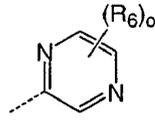
IIi



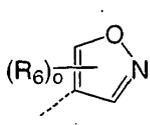
IIj



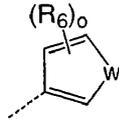
IIk



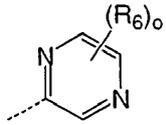
III



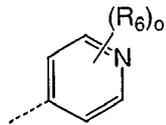
IIj



IIk

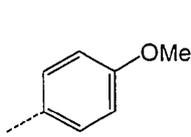


III

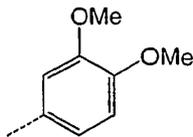


IIm

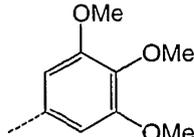
5 donde W es O, S o NR<sub>7</sub> donde R<sub>7</sub> es H o alquilo; R<sub>6</sub> es halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo o alcoxi; y o es 0-3. En una realización particular W es S. En una realización particular R<sub>1</sub> es el grupo de fórmula IIa. En dicha realización R<sub>6</sub> puede ser alcoxi y o es 1, 2 o 3. Grupos IIa particulares son IIa<sup>1</sup> - IIa<sup>28</sup>:



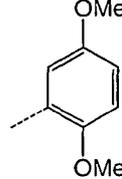
IIa<sup>1</sup>



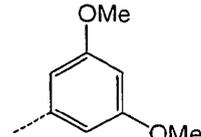
IIa<sup>2</sup>



IIa<sup>3</sup>

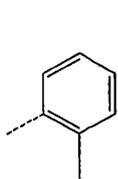


IIa<sup>4</sup>

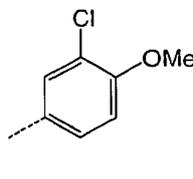


IIa<sup>5</sup>

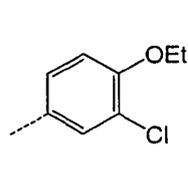
10



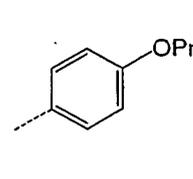
IIa<sup>6</sup>



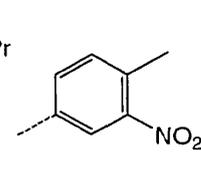
IIa<sup>7</sup>



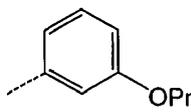
IIa<sup>8</sup>



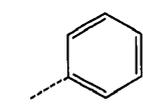
IIa<sup>9</sup>



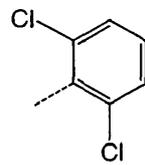
IIa<sup>10</sup>



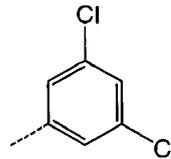
IIa<sup>11</sup>



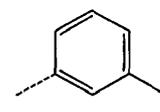
IIa<sup>12</sup>



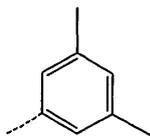
IIa<sup>13</sup>



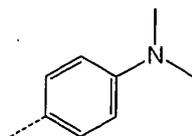
IIa<sup>14</sup>



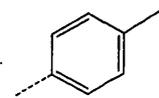
IIa<sup>15</sup>



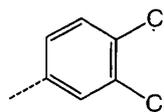
IIa<sup>16</sup>



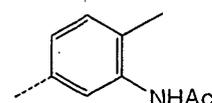
IIa<sup>17</sup>



IIa<sup>18</sup>

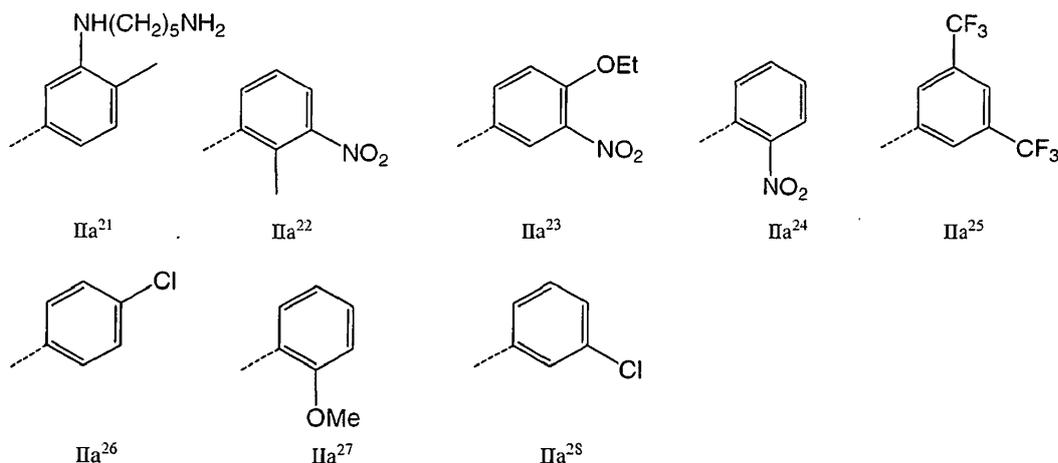


IIa<sup>19</sup>

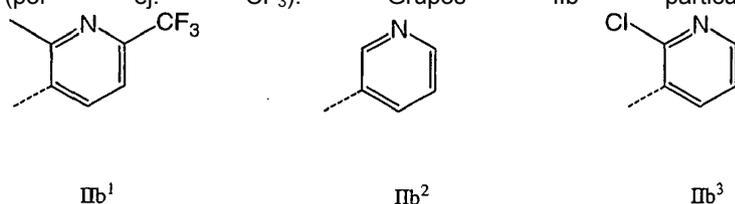


IIa<sup>20</sup>

15



5 En otra realización particular R<sub>1</sub> es el grupo de fórmula IIb. En dicha realización R<sub>6</sub> puede ser alquilo o haloalquilo (por ej. CF<sub>3</sub>). Grupos IIb particulares son IIb<sup>1</sup> - IIb<sup>3</sup>:

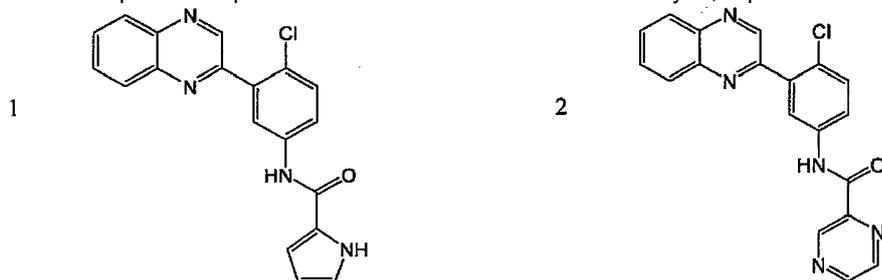


10 En una realización particular R<sub>1</sub> es el grupo de fórmula IIc. En dicha realización W puede ser S y o es 0. En otra realización particular R<sub>1</sub> es el grupo de fórmula IId. En dicha realización o puede ser 0. En otra realización particular R<sub>1</sub> es el grupo de fórmula IIe. En dicha realización o puede ser 0. En otra realización particular R<sub>1</sub> es el grupo de fórmula IIe. En dicha realización o puede ser 0.

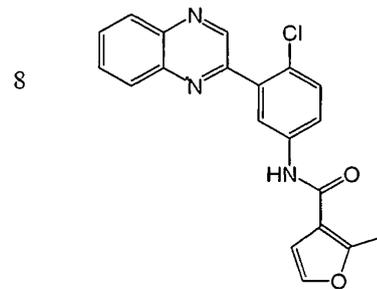
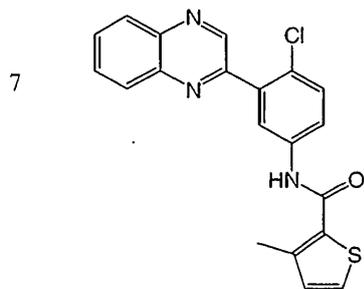
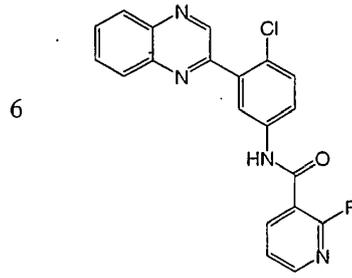
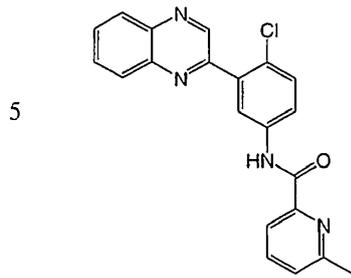
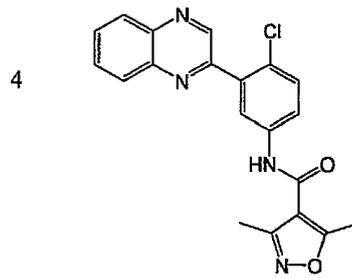
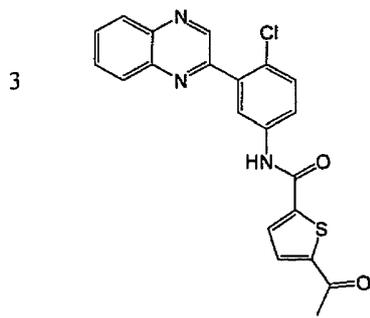
15 R<sub>2</sub> es halógeno, hidroxilo, alquilo, acilo o alcoxi cada uno opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo o alcoxi. n es 1. En una realización particular R<sub>2</sub> es hidroxilo. En una realización particular R<sub>2</sub> es alquilo o alquilo sustituido con halógeno, metilo o trifluorometilo. En una realización particular R<sub>2</sub> es acilo, por ejemplo alcanilo, como por ej. acetilo. En una realización particular R<sub>2</sub> es halógeno, por ejemplo Cl o F. En otra realización particular R<sub>2</sub> es alcoxi, por ejemplo metoxi o etoxi.

20 R<sub>3</sub> es halógeno, hidroxilo, alquilo, haloalquilo, acilo o alcoxi; y m es 0-3. En una realización particular m es 0, es decir R<sub>3</sub> está ausente. En otra realización particular m es 1-3 y R<sub>3</sub> es halógeno (por ej. F) o alquilo (por ej. metilo).

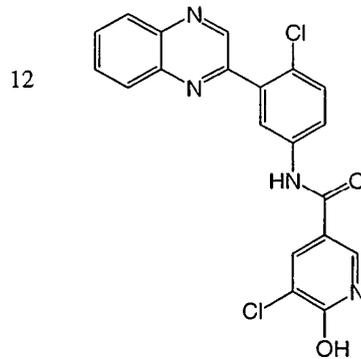
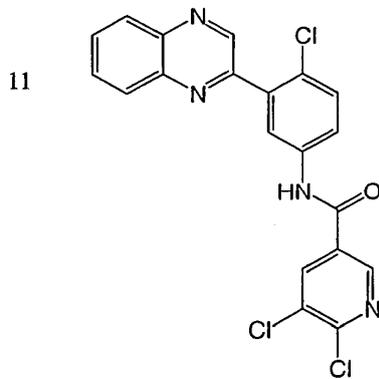
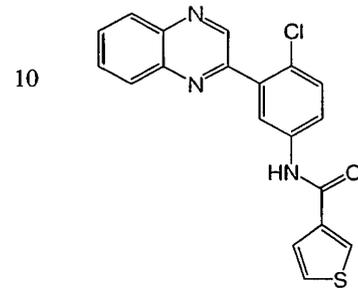
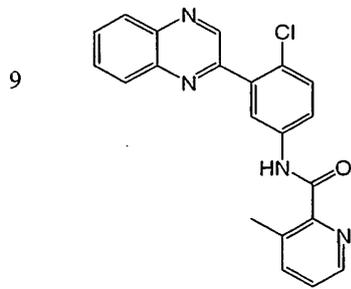
Los compuestos particulares de la invención incluyen, pero no exclusivamente, los siguientes:



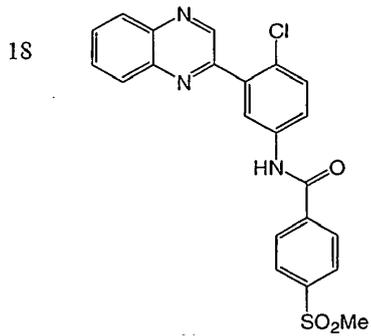
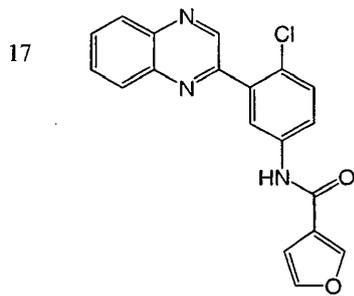
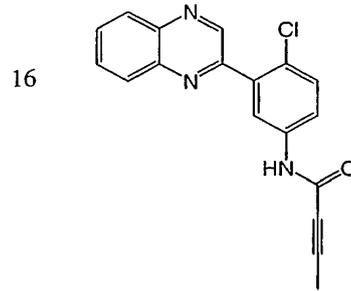
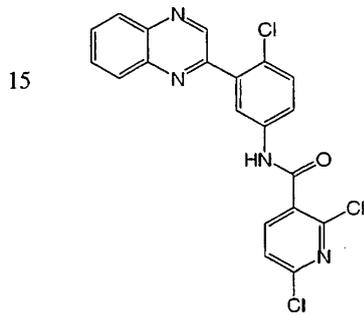
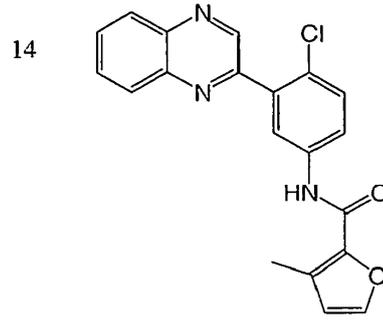
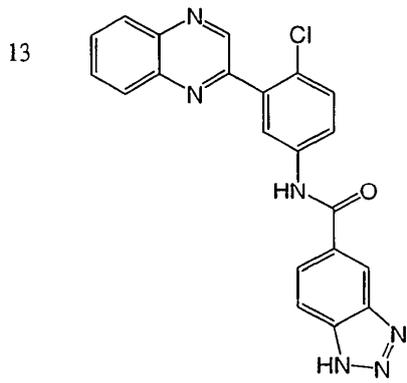
25



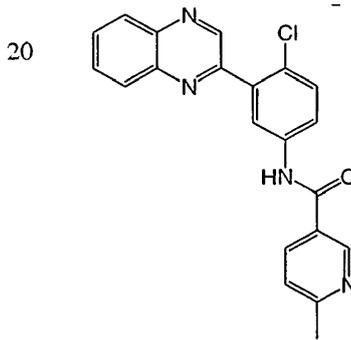
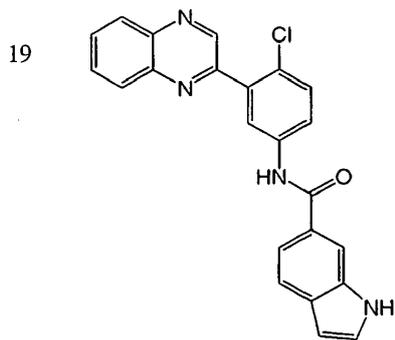
5

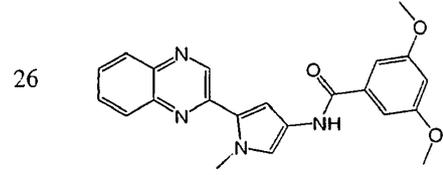
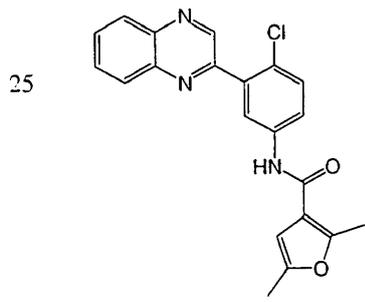
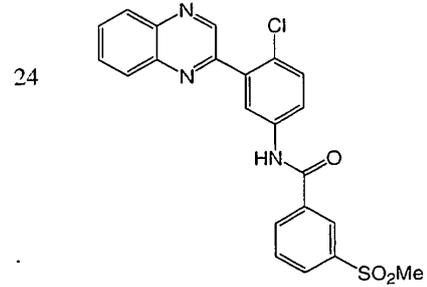
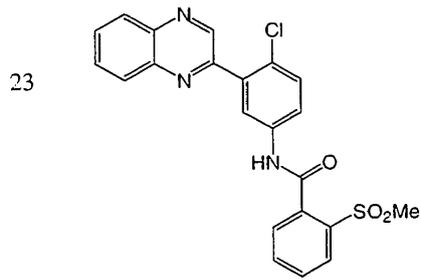
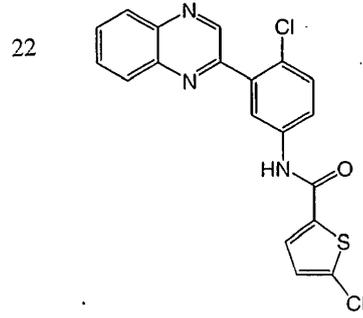
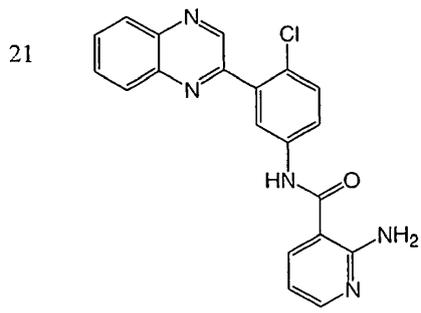


10

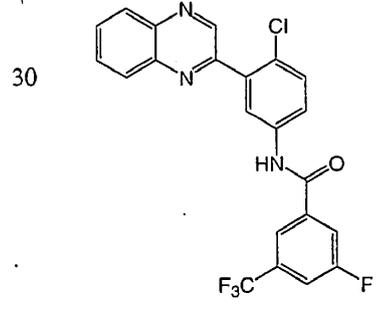
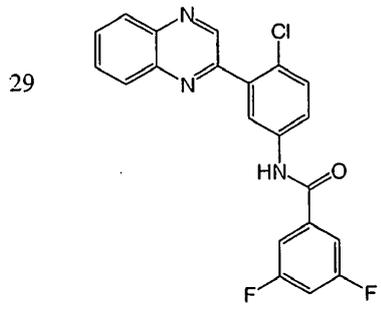
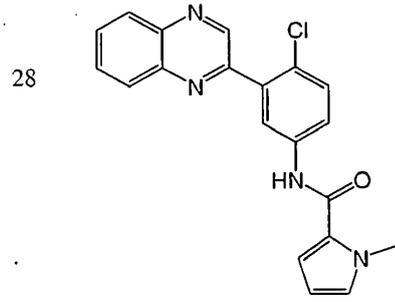
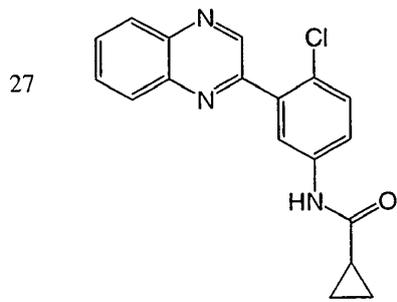


5

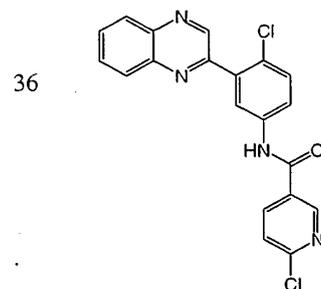
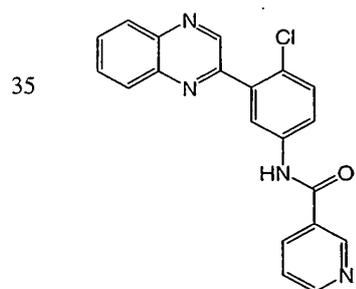
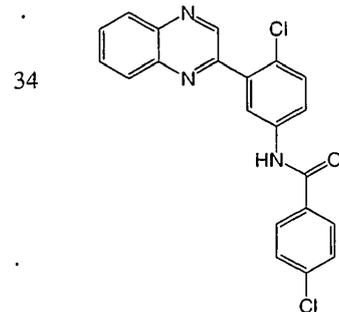
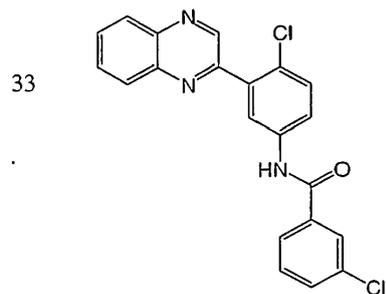
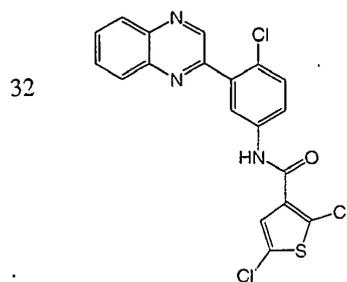
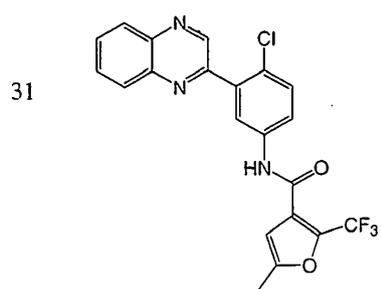




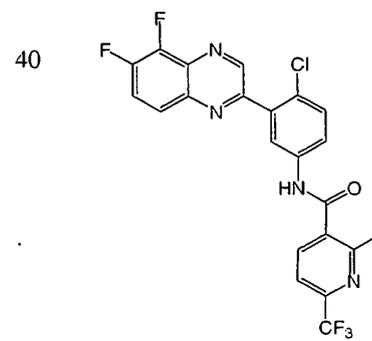
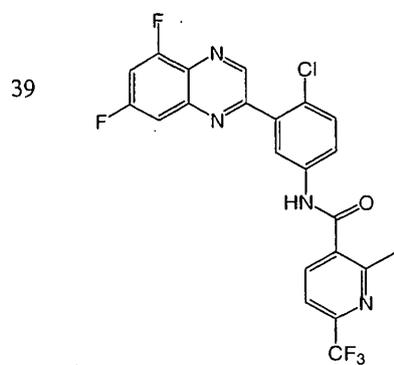
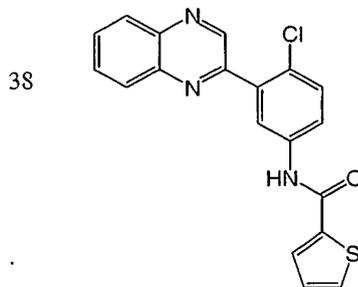
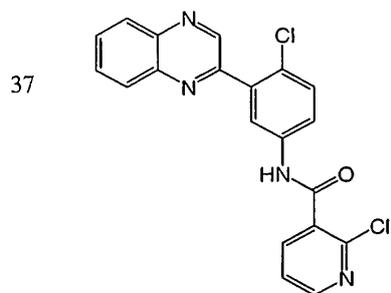
5



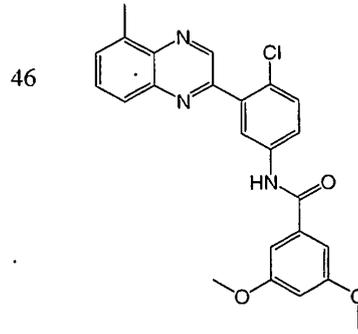
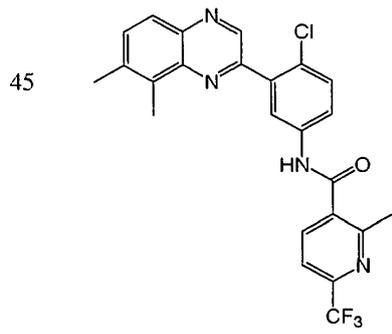
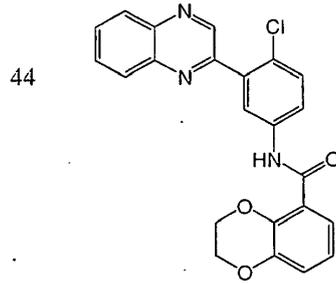
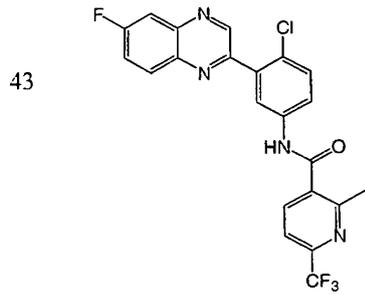
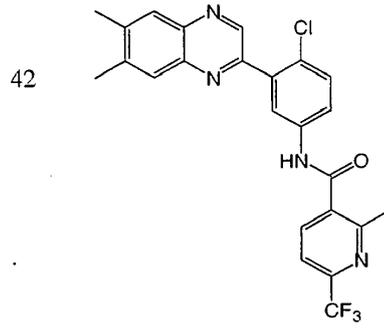
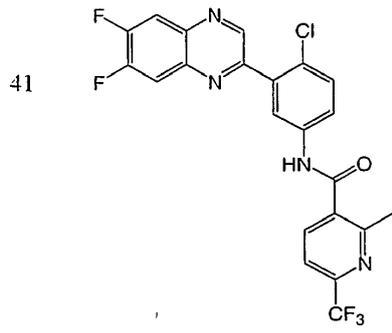
10



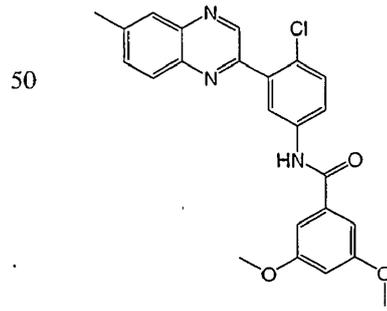
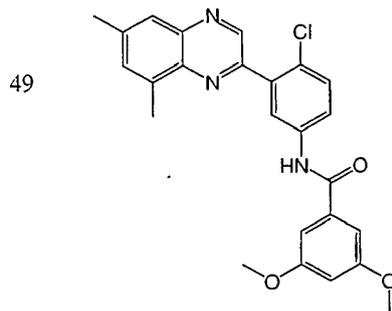
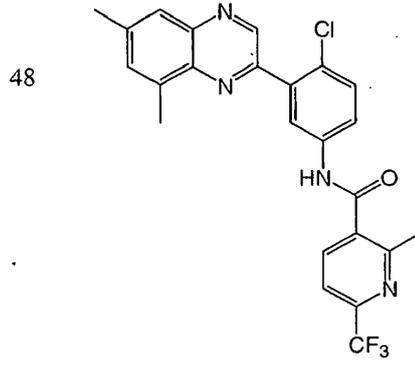
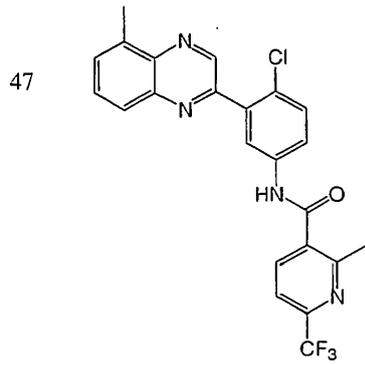
5

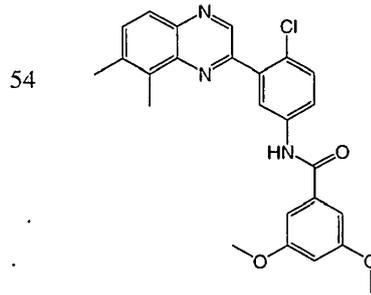
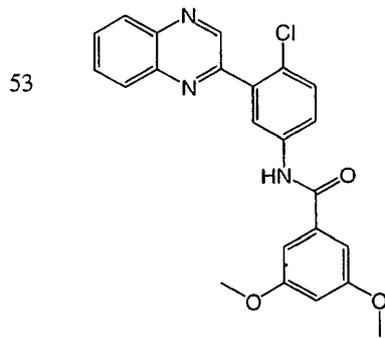
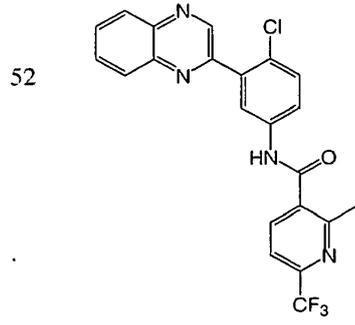
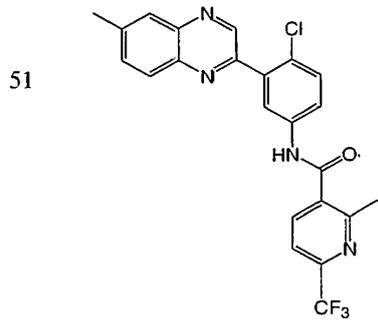


10

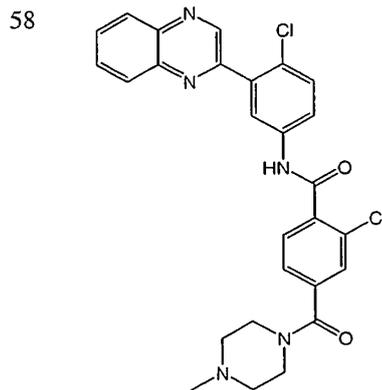
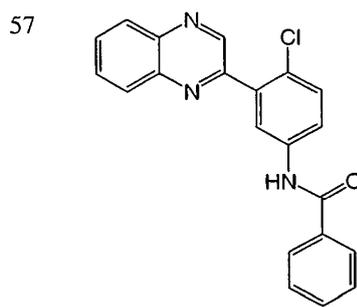
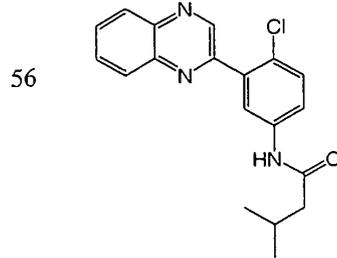
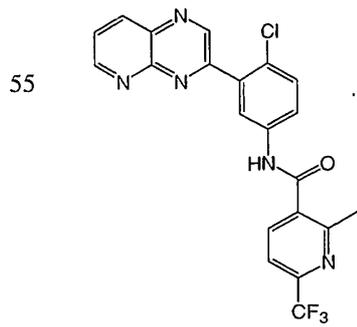


5

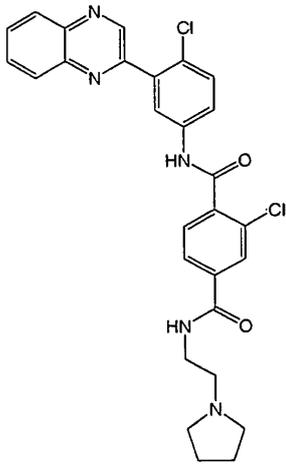




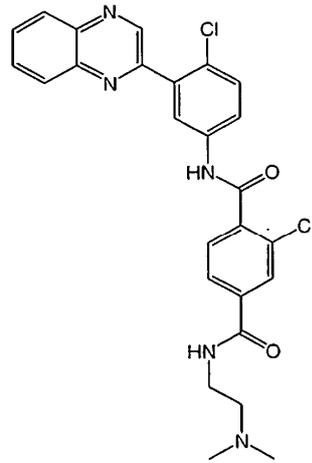
5



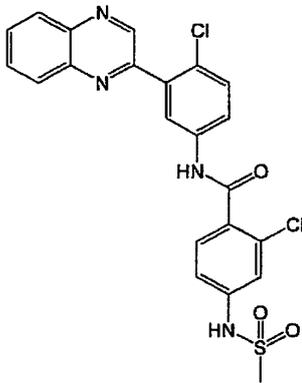
59



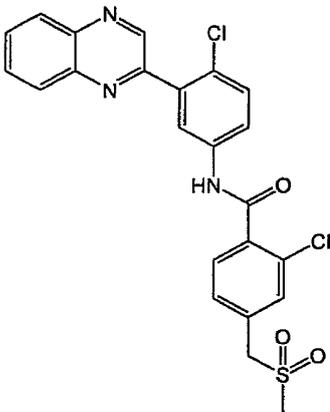
60



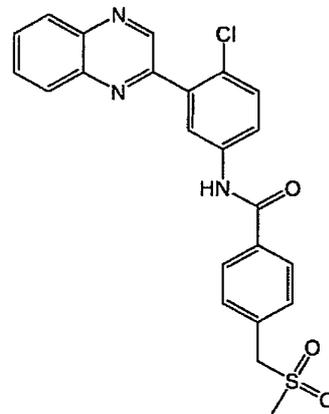
62



63

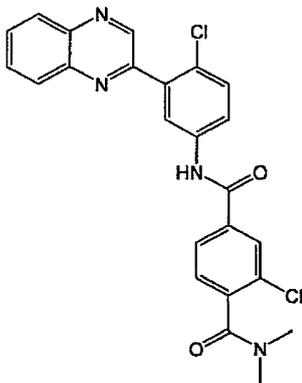


64

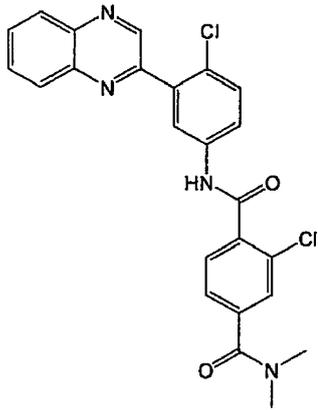


5

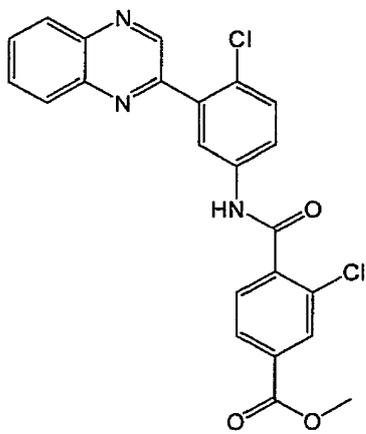
66



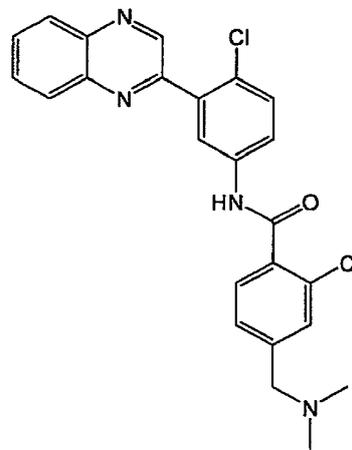
68



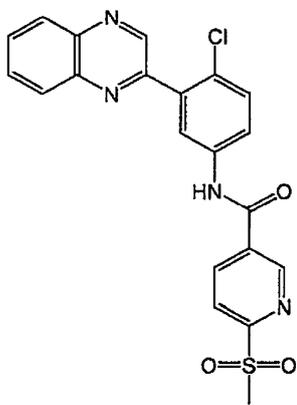
69



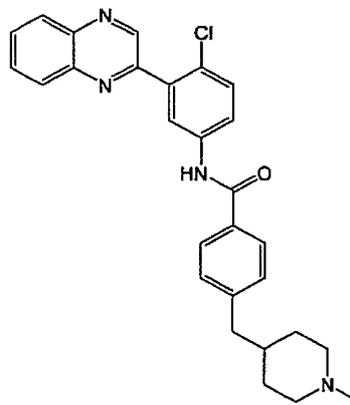
70



71

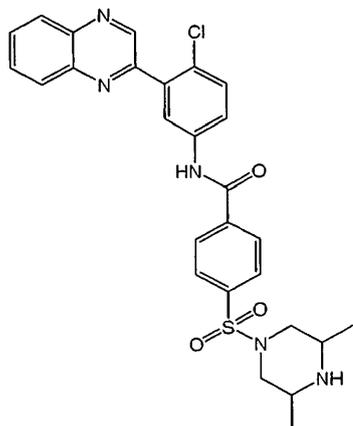


72

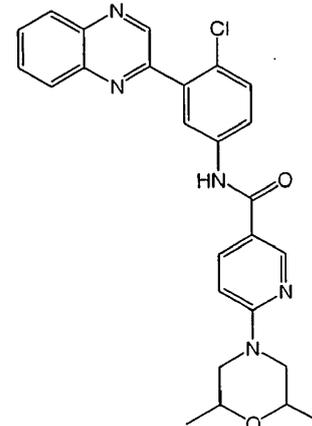


5

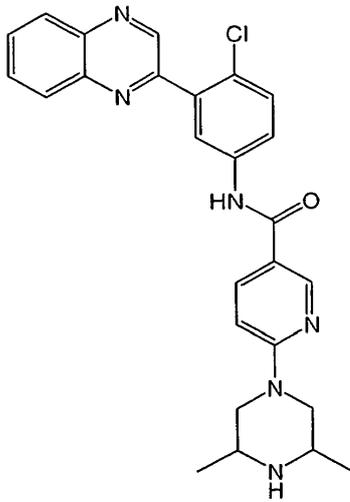
73



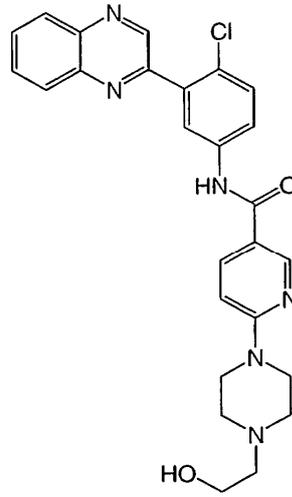
74



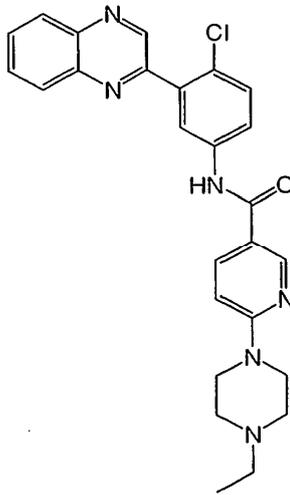
75



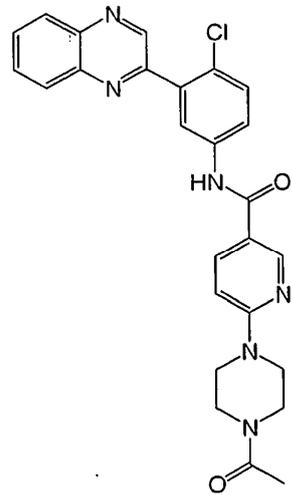
76



77

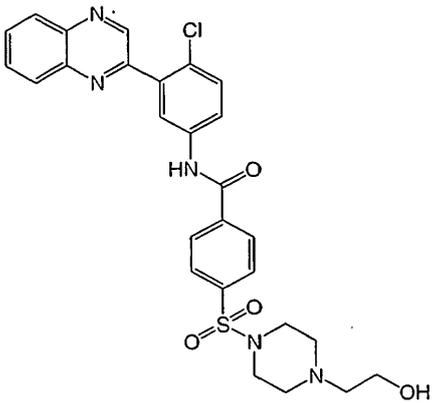


78

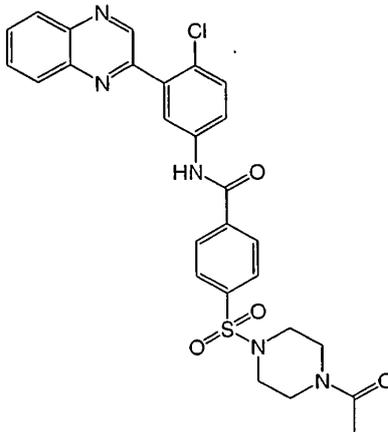


5

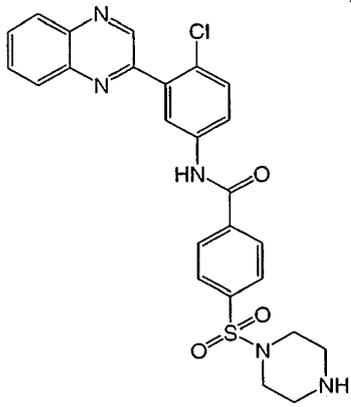
79



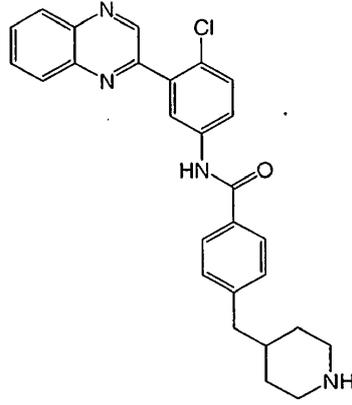
80



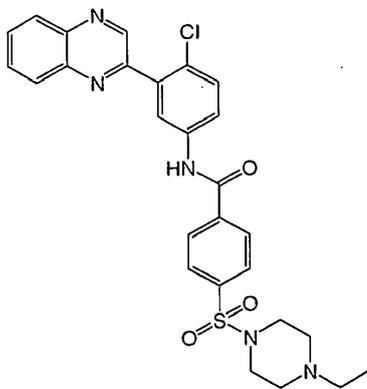
81



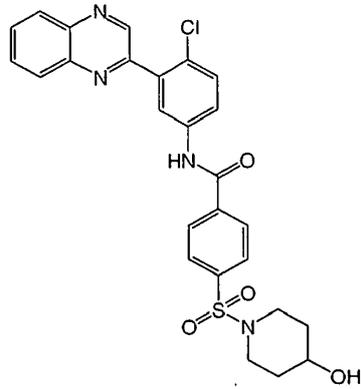
82



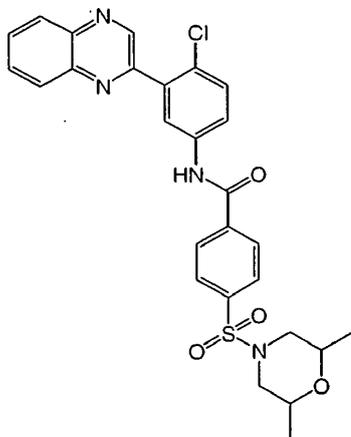
83



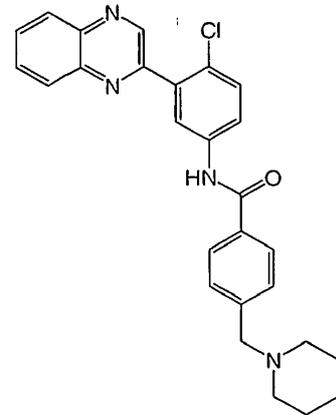
84



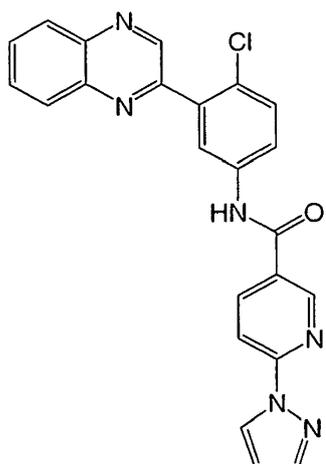
85



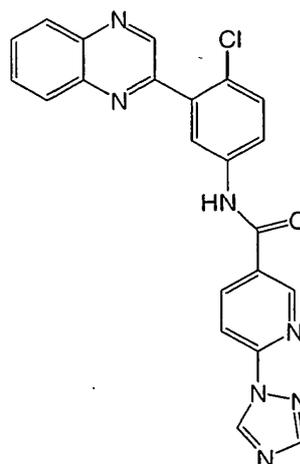
86



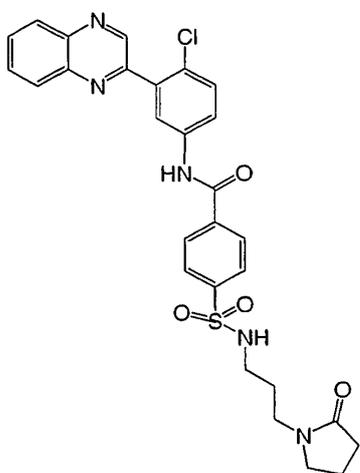
87



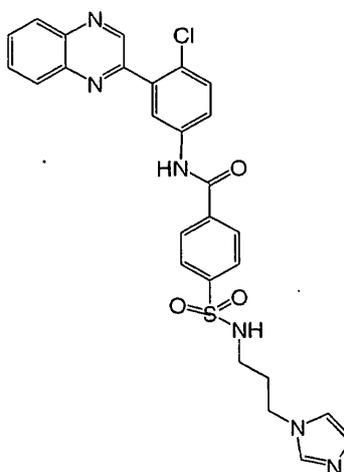
88



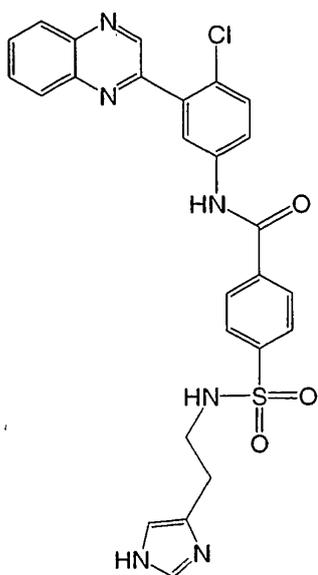
89



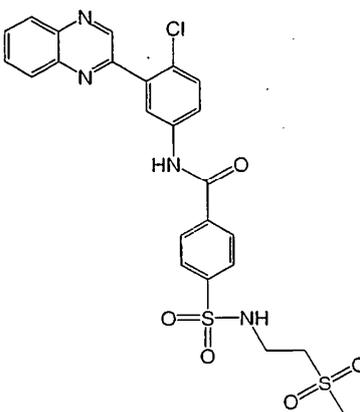
90



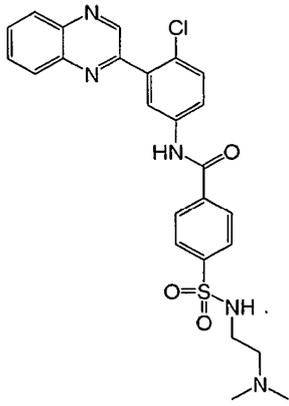
91



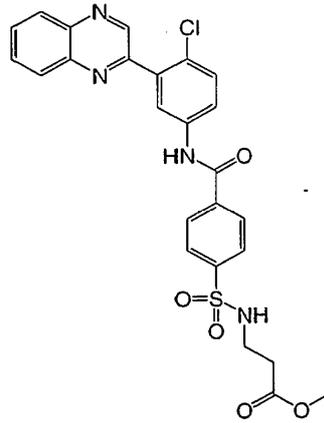
92



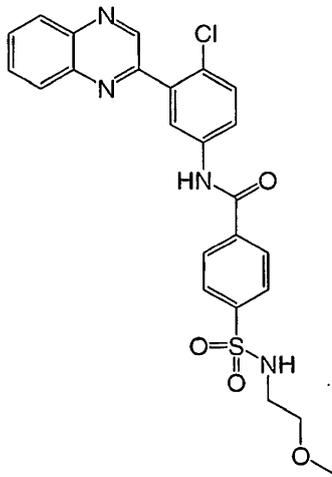
93



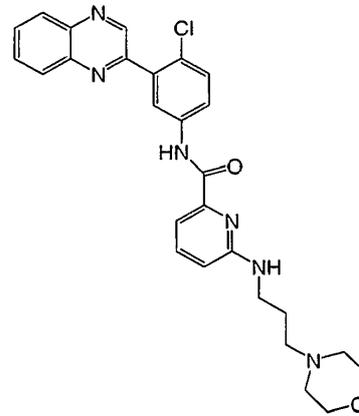
94



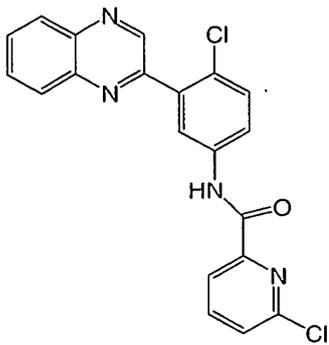
95



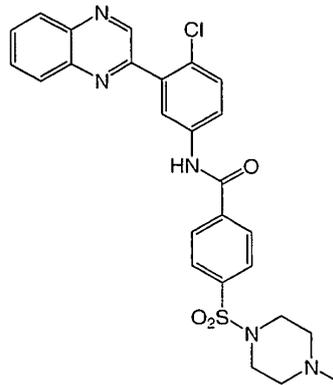
96



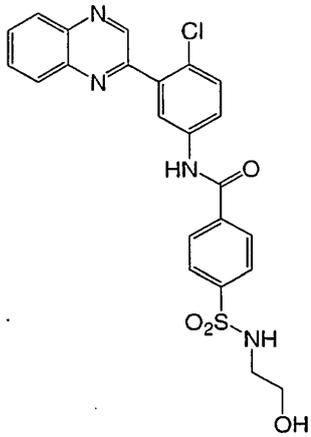
97



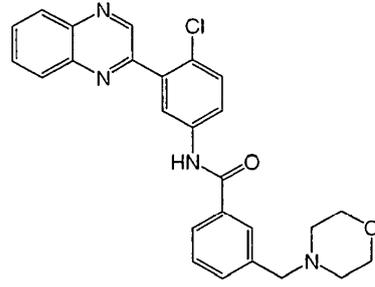
98



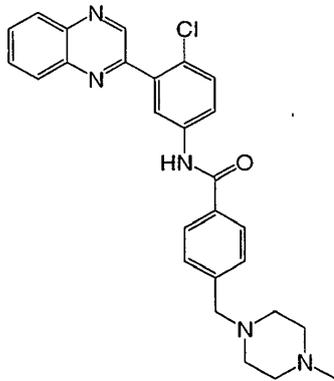
99



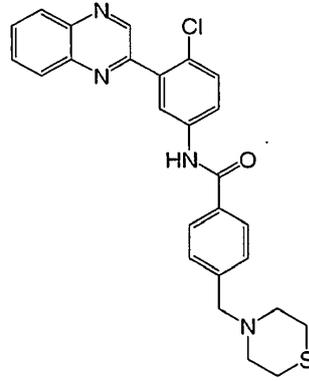
100



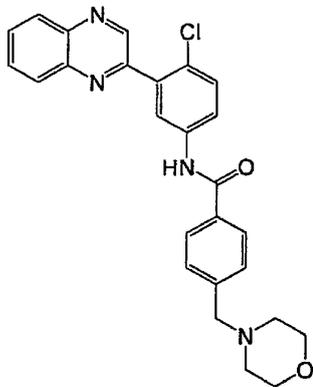
101



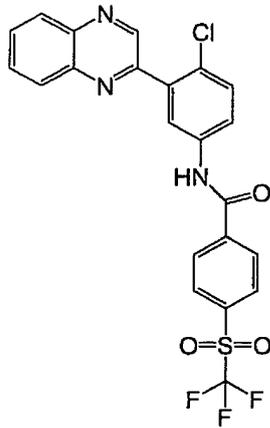
102



103

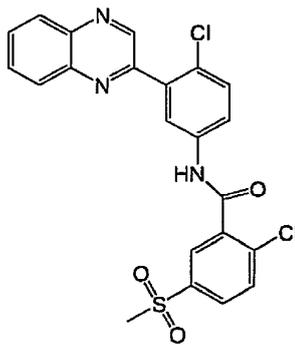


104

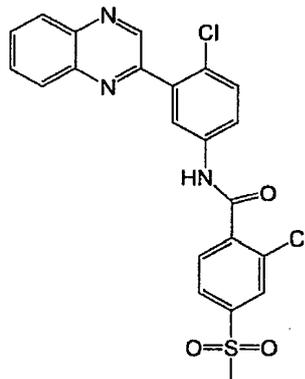


5

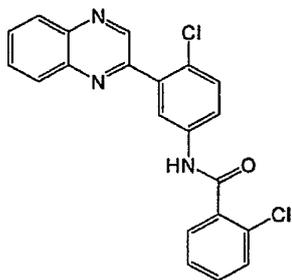
105



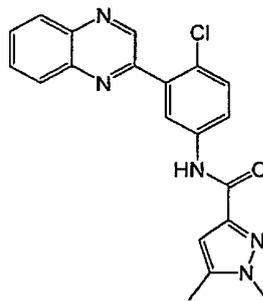
106



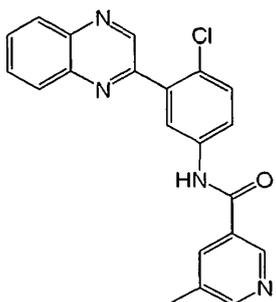
109



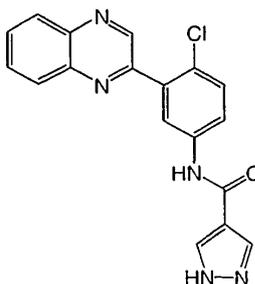
110



111

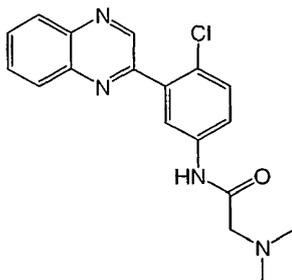


112



5

113



10

Los compuestos de la invención pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos. En consecuencia, los compuestos pueden existir como diastereoisómeros, enantiómeros o sus mezclas. La síntesis de los compuestos puede emplear racematos, diastereoisómeros o enantiómeros como materiales de partida o como productos intermedios. Los compuestos diastereoisómeros se pueden separar por métodos cromatográficos o de cristalización. Análogamente, las mezclas enantioméricas se pueden separar usando las mismas técnicas u otras conocidas en el área. Cada uno de los átomos de carbono asimétricos puede estar en la configuración R o S y ambas configuraciones están comprendidas por el alcance de la invención.

15

20

25

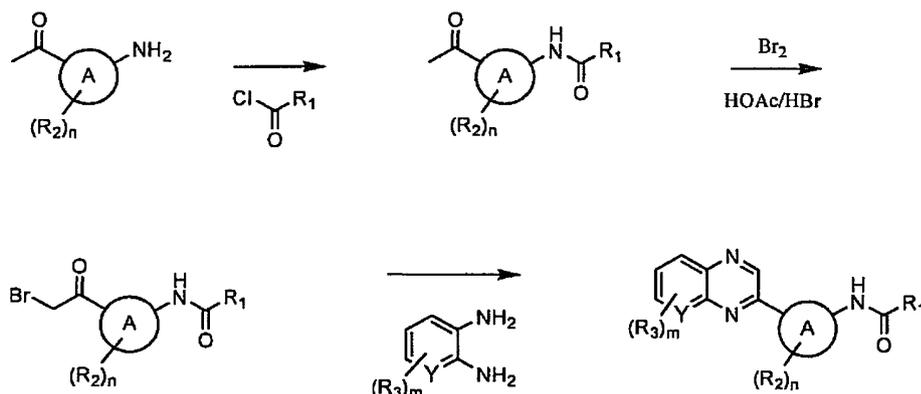
30

La invención también abarca los profármacos de los compuestos descritos antes. Los profármacos adecuados incluyen grupos protectores de amino y grupos protectores de carboxi conocidos y que son liberados, por ejemplo hidrolizados, para producir el compuesto original en condiciones fisiológicas. Una clase particular de profármacos son los compuestos en los cuales un átomo de nitrógeno en un grupo amino, amidino, aminoalquileoamino, iminoalquileoamino o guanidino está sustituido con un grupo hidroxilo (OH), un grupo alquilcarbonilo (-CO-R), un grupo alcoxicarbonilo (-CO-OR), un grupo aciloxialquil-alcoxicarbonilo (-COO-R-O-CO-R) donde R es un grupo monovalente o divalente y según se definieron antes o un grupo que tiene la fórmula -C(O)-O-CP1P2-haloalquilo, donde P1 y P2 son iguales o diferentes y son H, alquilo inferior, alcoxi inferior, ciano, halo- alquilo o arilo inferior. Los profármacos se pueden preparar haciendo reaccionar los compuestos de la invención descritos antes con un compuesto acilo activado, para unir un átomo de nitrógeno del compuesto de la invención al carbonilo del compuesto acilo activado. Los compuestos carbonilo activados adecuados contienen un buen grupo saliente unido al carbono del carbonilo e incluyen haluros de acilo, acilaminas, sales de acilpiridinio, acilalcóxidos, en particular acilfenóxidos como p-nitrofenoxiacilo, dinitrofenoxiacilo, fluorofenoxiacilo y difluorofenoxiacilo. Las reacciones son generalmente exotérmicas y se llevan a cabo en solventes inertes a temperaturas reducidas como aproximadamente -78 a 50 °C. Las reacciones habitualmente se llevan a cabo en presencia de una base inorgánica como carbonato de potasio o bicarbonato de sodio, o una base orgánica como una amina, incluidas piridina, trietilamina, etc. Una manera de preparar profármacos se describe en USSN 08/843,369 presentada el 15 abril de 1997 (correspondiente a la publicación PCT WO9846576).

## Síntesis

Los compuestos de la invención se preparan usando técnicas de síntesis orgánica corrientes con materiales de partida y reactivos comerciales. Se comprenderá que los procedimientos de síntesis empleados en la preparación de los compuestos de la invención dependerán de los sustituyentes particulares presentes en un compuesto y que pueden ser necesarios diversos procedimientos de protección y desprotección como es común en la síntesis orgánica. Los compuestos de la invención en los cuales X es  $\text{NR}_4\text{C}(\text{O})$  se pueden preparar según el esquema general 1.

Esquema 1



El material de partida amina se acila mediante el cloruro de ácido adecuado  $\text{C1-C}(\text{O})\text{-R}_1$  y el compuesto resultante se alfa-broma después con  $\text{Br}_2$  en una mezcla de ácidos acético y bromhídrico. El producto intermedio alfa-bromocetona se convierte luego en el producto final quinoxalina o 5-azaquinoxalina mediante reacción con la 1,2-fenilendiamina o 2,3-pirindindiamina adecuada, en presencia de una base como acetato de sodio. Se puede usar el mismo esquema para preparar los compuestos tiamida de la invención, es decir X es  $\text{NR}_4\text{C}(\text{S})$ , empleando un cloruro de tio ácido adecuado  $\text{C1-C}(\text{S})\text{-R}_1$  en el paso de acilación. Los materiales de partida y los reactivos en este esquema de síntesis y los subsiguientes son comerciales o se pueden preparar usando materiales de partida comerciales mediante técnicas de química orgánica establecidas.

Los compuestos de la invención inhiben la señalización hedgehog y son útiles para el tratamiento de cánceres asociados con señalización hedgehog aberrante, por ejemplo cuando Patched no reprime, o lo hace inadecuadamente, a Smoothed (Ptc fenotipo de pérdida de la función) y/o cuando Smoothed es activo independientemente de la represión de Patched (Smo fenotipo de ganancia de la función). Los ejemplos de esos tipos de cáncer incluyen carcinoma basocelular, tumores neuroectodérmicos como meduloblastoma, meningioma, hemangioma, glioblastoma, adenocarcinoma pancreático, carcinoma epidermoide pulmonar, condrosarcoma, carcinoma de mama, rhabdomyosarcoma, cáncer esofágico, cáncer de estómago, cáncer de vías biliares, carcinoma renal y carcinoma tiroideo. Los compuestos de la invención se pueden administrar antes, concomitantemente, o luego de la administración de otros tratamientos anticancerígenos como radioterapia o quimioterapia. Los compuestos quimioterápicos citostáticos adecuados incluyen, pero no exclusivamente, (i) antimetabolitos, como citarabina, fludarabina, 5-fluoro-2'-desoxiuridina, gemcitabina, hidroxiaurea o metotrexato; (ii) agentes de fragmentación del ADN, como bleomicina, (iii) agentes de entrecruzamiento del ADN como clorambucilo, cisplatino, ciclofosfamida, o mostaza de nitrógeno; (iv) agentes intercalantes como adriamicina (doxorubicina) o mitoxantrona; (v) inhibidores de la síntesis de proteínas, como L-asparaginasa, cicloheximida, puromicina o toxina diftérica; (vi) venenos de topoisomerasa I, como camptotecina o topotecán; (vii) venenos de topoisomerasa II, como etopósido (VP-16) o tenipósido; (viii) agentes dirigidos a los microtúbulos, como colcemid, colchicina, paclitaxel, vinblastina o vincristina; (ix) inhibidores de las cinasas como flavopiridol, estaurosporina, STI571 (CPG 57148B) o UCN-01 (7-hidroxiestaurosporina); (x) varios agentes en investigación como tioplatino, PS-341, fenilbutirato, ET-18-OCH<sub>3</sub> o inhibidores de la farnesil transferasa, (L-739749, L-744832); polifenoles como quercetina, resveratrol, piceatanol, galato de epigallocatequina, teaflavinas, flavanoles, procianidinas, ácido betulínico y sus derivados; (xi) hormonas como los glucocorticoides o fenretinida; (xii) antagonistas hormonales, como tamoxifeno, finasteride o antagonistas de la LHRH. En una realización particular, los compuestos de la presente invención se administran concomitantemente con un compuesto citostático seleccionado del grupo que consiste en cisplatino, doxorubicina, taxol, taxotere y mitomicina C.

Otra clase de compuestos activos que se pueden utilizar en la presente invención son los capaces de sensibilizar para que se produzca, o inducir, apoptosis, uniéndose a los receptores de muerte ("agonistas de los receptores de muerte"). Dichos agonistas de los receptores de muerte incluyen ligandos de los receptores de muerte como el factor

de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), el factor de necrosis tumoral  $\beta$  (TNF- $\beta$ , linfotoxina- $\alpha$ ), LT- $\beta$  (linfotoxina- $\beta$ ), TRAIL (Apo2L, ligando DR4), ligando CD95 (Fas, APO-1), ligando TRAMP (DR3, Apo-3), ligando DR6, así como fragmentos y derivados de cualquiera de dichos ligandos. En una realización particular, el ligando del receptor de muerte es TNF- $\alpha$ . En otra realización particular el ligando del receptor de muerte es Apo2L/TRAIL. Además, los agonistas de los receptores de muerte comprenden anticuerpos agonistas para los receptores de muerte como el anticuerpo anti-CD95, el anticuerpo anti-TRAIL-R1 (DR4), el anticuerpo anti-TRAIL-R2 (DR5), el anticuerpo anti-TRAIL-R3, el anticuerpo anti-TRAIL-R4, el anticuerpo anti-DR6, el anticuerpo anti-TNF-RI y el anticuerpo anti-TRAMP (DR3) así como fragmentos y derivados de cualquiera de dichos anticuerpos.

A efectos de sensibilizar las células para apoptosis, los compuestos de la presente invención también se pueden usar en combinación con radioterapia. El término "radioterapia" se refiere al uso de radiación electromagnética o de partículas en el tratamiento de neoplasias. La radioterapia se basa en el principio de que altas dosis de radiación dirigidas a un área determinada provocarán la muerte de las células que se reproducen tanto en el tumor como en los tejidos normales. El régimen de dosificación de la radiación se define generalmente en términos de dosis de radiación absorbida (rad), tiempo y fraccionamiento, y debe ser cuidadosamente definido por los oncólogos. La cantidad de radiación que recibe un paciente dependerá de diversas consideraciones entre otras la ubicación del tumor con respecto a otros órganos del cuerpo y el grado de diseminación del tumor. Se proporcionan ejemplos de radioterápicos en, pero no limitados a la radioterapia y es conocido en el área (Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, in Principles I and Practice of Oncology, 24875 (Devita et al., 4ª ed., vol 1, 1993). Los recientes avances en radioterapia incluyen radiación conformal tridimensional con haces externos, radioterapia de intensidad modulada (IMRT), radiocirugía estereotáctica y braquiterapia (radioterapia intersticial), esta última coloca la fuente de radiación directamente en el tumor como "semillas" implantadas. Estas nuevas modalidades de tratamiento suministran dosis mayores de radiación al tumor, lo que colabora para incrementar su eficacia en comparación con la radioterapia estándar con haces externos.

La radiación ionizante con radionúclidos emisores beta es considerada la más útil para aplicaciones radioterápicas debido a la transferencia lineal de energía (LET) moderada de la partícula ionizante (electrón) y su alcance intermedio (normalmente de varios milímetros de tejido). Los rayos gamma suministran una dosis de niveles inferiores a distancias mucho mayores. Las partículas alfa representan el otro extremo, suministran una dosis de energía de transferencia lineal muy alta, pero tienen un alcance extremadamente limitado y deben, por lo tanto, estar en contacto íntimo con las células del tejido que se va a tratar. Además, los emisores alfa son generalmente metales pesados, lo que limita las reacciones químicas posibles y presenta riesgos indebidos de fuga de los radionúclidos de la zona que se va a tratar. Según el tumor que se va a tratar se pueden concebir todo tipo de emisores dentro del ámbito de la presente invención. Además, la presente invención abarca tipos de radiación no ionizante como por ejemplo, radiación ultravioleta (UV), luz visible de alta energía, radiación de microondas (terapia de hipertermia), radiación infrarroja (IR) y láseres. En una realización particular de la presente invención se aplica radiación UV.

Los compuestos de la invención inhiben la angiogénesis y por lo tanto son útiles en el tratamiento de enfermedades o afecciones mediadas por angiogénesis como tumores, en particular tumores sólidos como de colon, pulmón, páncreas, ovario, mama y glioma. Además, los compuestos de la invención son útiles para tratar la degeneración macular por ejemplo la degeneración macular húmeda relacionada con la edad. Los compuestos de la invención también son útiles para tratar enfermedades inflamatorias/inmunitarias como Crohn, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome de Sjögren, asma, rechazo de trasplante de órganos, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, artritis psoriásica, psoriasis y esclerosis múltiple. Los compuestos de la invención también son útiles como depilatorios.

La invención también incluye composiciones farmacéuticas o medicamentos que contienen los compuestos de la invención y un vehículo, diluyente o excipiente terapéuticamente inerte, así como métodos de uso de los compuestos de la invención para preparar dichas composiciones y medicamentos. Normalmente, los compuestos de la invención que se utilizan en los métodos de la invención se formulan mezclándolos a temperatura ambiente al pH adecuado y en el grado de pureza deseado, con vehículos fisiológicamente aceptables, es decir vehículos que no sean tóxicos para los destinatarios en las dosis y concentraciones empleadas, en una forma farmacéutica de administración. El pH de la formulación depende principalmente del uso particular y la concentración del compuesto, pero puede variar entre aproximadamente 3 y aproximadamente 8. Una formulación especial es un tampón de acetato a pH 5. El compuesto inhibidor para usar en la invención puede estar en una formulación estéril. El compuesto se puede almacenar como una composición sólida, aunque son aceptables las formulaciones liofilizadas o las soluciones acuosas.

La composición de la invención se formulará, dosificará y administrará de manera congruente con la buena práctica médica. Los factores a considerar en este contexto incluyen el trastorno particular que se está tratando, el mamífero particular en tratamiento, el estado clínico de cada paciente, la causa del trastorno, el sitio de administración del medicamento, el método de administración, el cronograma de la administración, y otros factores conocidos por los médicos. La "cantidad eficaz" del compuesto que se va a administrar se regirá por dichas consideraciones, y es la cantidad mínima necesaria para disminuir la vía de señalización hedgehog o de lo contrario es la cantidad mínima

necesaria para causar la reducción en tamaño, volumen o masa de un tumor que es sensible a la señalización hedgehog, o una reducción en el aumento de tamaño, volumen o masa de tal tumor. Alternativamente "cantidad eficaz" del compuesto significa la cantidad necesaria para reducir el número de células malignas o la tasa de aumento del número de células malignas. Alternativamente, "cantidad eficaz" es la cantidad del compuesto de la invención requerida para aumentar la supervivencia de los pacientes afectados por un tumor sensible a la vía anti-hedgehog. Dicha cantidad puede ser inferior a la cantidad que es tóxica para las células normales, o el mamífero como un todo. Con respecto a las indicaciones no neoplásicas, "cantidad eficaz" significa la cantidad de compuesto de la invención necesaria para disminuir la gravedad de la indicación particular o sus síntomas.

Generalmente, la cantidad farmacéuticamente eficaz inicial del compuesto de la invención administrada por vía parenteral, por dosis, estará en el rango de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 100 mg/kg, por ejemplo de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal del paciente por día, por ejemplo de aproximadamente 0.3 a aproximadamente 15 mg/kg/día. Las formas farmacéuticas orales, como comprimidos y cápsulas, pueden contener de aproximadamente 25 a aproximadamente 1000 mg del compuesto de la invención.

El compuesto de la invención se puede administrar por cualquier medio adecuado, incluidas la administración oral, tópica, transdérmica, parenteral, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal y, si se desea para el tratamiento local, la administración intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. Un ejemplo de una forma farmacéutica oral adecuada es un comprimido que contenga aproximadamente 25 mg, 50 mg, 100 mg, 250 mg o 500 mg del compuesto de la invención combinado con aproximadamente 90-30 mg de lactosa anhidra, aproximadamente 5-40 mg de croscarmelosa sódica, aproximadamente 5-30 mg de polivinilpirrolidona (PVP) K30 y aproximadamente 1-10 mg de estearato de magnesio. Los ingredientes en polvo se mezclan primero entre sí y luego con una solución de PVP. La composición resultante se puede secar, granular, mezclar con el estearato de magnesio y comprimir en forma de comprimidos, utilizando equipos convencionales. Una formulación en aerosol se puede preparar disolviendo el compuesto, por ejemplo 5-400 mg, de la invención en una solución amortiguadora adecuada, por ejemplo un tampón de fosfato, agregando, si se desea, un tonificador por ejemplo una sal como cloruro de sodio. Normalmente la solución se filtra, por ejemplo, utilizando un filtro de 0.2 micras, para eliminar las impurezas y los contaminantes. Las formulaciones tópicas incluyen ungüentos, cremas, lociones, polvos, soluciones, pesarios, pulverizaciones, aerosoles y cápsulas. Los ungüentos y las cremas se pueden formular con una base acuosa u oleosa con la adición de espesantes y/o gelificantes y/o solventes adecuados. Dichas bases pueden incluir agua y/o un aceite como parafina líquida o un aceite vegetal como el aceite de arachís o aceite de ricino o un solvente como un polietilenglicol. Los espesantes que se pueden usar incluyen parafina blanda, estearato de aluminio, alcohol cetosteárico, polietilenglicoles, cera microcristalina y cera de abejas. Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleosa y pueden contener uno o más emulsionantes, estabilizantes, dispersantes, suspendientes o espesantes. Los polvos para aplicación externa se pueden preparar con ayuda de cualquier base en polvo adecuada por ejemplo, talco, lactosa o almidón. Las gotas se pueden formular con una base acuosa o no acuosa y contener también uno o más dispersantes, solubilizantes o suspendientes.

#### 40 Ejemplos

La invención se comprenderá más plenamente por referencia a los ejemplos siguientes. Éstos, sin embargo, no se deben interpretar como limitantes del alcance de la invención. Las abreviaturas utilizadas en este documento son las siguientes:

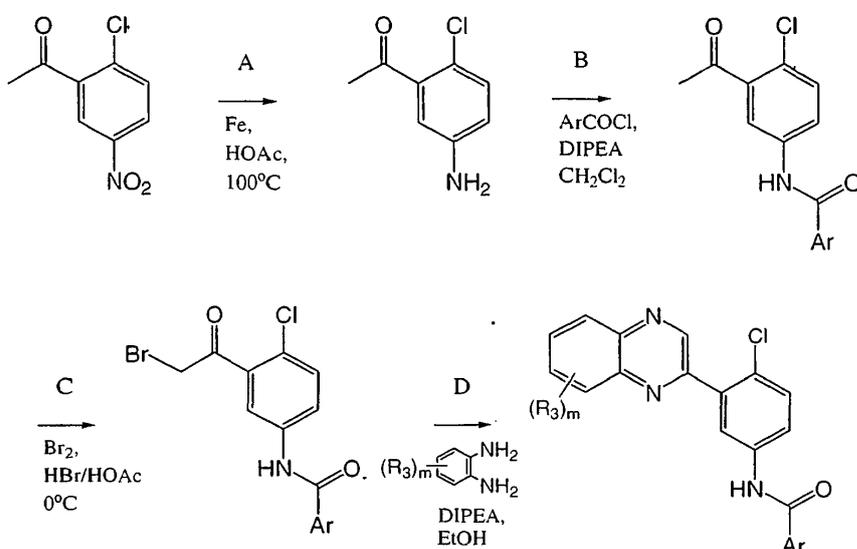
45 DIPEA: diisopropiletilamina;  
 DMAP: 4-dimetilaminopiridina;  
 DME: 1,2-dimetoxietano;  
 DMF: dimetilformamida  
 50 EDC: 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida;  
 HATU: hexafluorofosfato de O-(7-azobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio;  
 HOAc: ácido acético  
 HOBt: hidroxibenzotriazol  
 NBS: N-bromosuccinamida;  
 55 ROESY: espectroscopía de marco giratorio y efecto de Overhauser  
 TASF: difluorotrimetilsilicato de tris(dimetilamino)sulfonio;  
 THF: tetrahidrofurano

60 A menos que se indique lo contrario todo los reactivos se obtuvieron comercialmente. Las reacciones se realizaron utilizando material de vidrio secado en estufa en atmósfera de nitrógeno. Las soluciones y los líquidos sensibles al aire y la humedad se transfirieron a través de una jeringa o cánula de acero inoxidable. Las soluciones orgánicas se concentraron a presión reducida (aprox. 15 mm Hg) por evaporación rotatoria. A menos que se indique lo contrario todos los solventes utilizados se obtuvieron comercialmente. La purificación cromatográfica de los productos se realizó usando un equipo Isco CombiFlash Companion y medios. Los tiempos de reacción se indican sólo a título

ilustrativo. El curso de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina (TLC) y cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS). La cromatografía en capa fina (TLC) se realizó en placas de gel de sílice 60 F<sub>254</sub> de EM Science (250 μm). La visualización del cromatograma desarrollado se realizó por extinción de fluorescencia. La LC-MS se llevó a cabo en un equipo Shimadzu 10AD LC en una columna Phenomenex (50 x 4.6 mm, 5 μm) operando a 3 mL/min. Se usó un detector Shimadzu SPD-10A que monitoreó a 214 y 254 nm. Se realizó espectrometría de masas con un solo cuadrupolo en un espectrómetro de masas Applied Biosystems. Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR) se obtuvieron en un espectrómetro Varian Inova que funcionó a 400 MHz para <sup>1</sup>H y se refirieron internamente a tetrametilsilano (TMS) en partes por millón (ppm). Los datos para <sup>1</sup>H NMR se registraron de la manera siguiente: desplazamiento químico δ (ppm), multiplicidad (s, singulete bs, singulete ancho; d, doblete; t, triplete; q, cuarteto; quint, quinteto; sext, sexteto; hept, hepteto; m, multiplete; bm, multiplete ancho), e integración. La estructura y la pureza de todos los productos finales se evaluaron por al menos una de las técnicas siguientes: LC-MS, NMR, TLC.

#### Ejemplo 1 Procedimiento general

Los compuestos de los ejemplos 2-11 se prepararon de acuerdo con el procedimiento general siguiente



A: procedimiento de reducción

20 A una solución en agitación magnética del nitroaromático adecuado (1 eq) en 10 ml de HOAc se le agregó hierro en polvo de 325 mesh (10 eq) en una sola porción. La suspensión resultante se calentó a 120 °C durante 30 minutos y después se vertió sobre hielo. La solución resultante se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> saturado (3 x 10 ml), se secaron con MgSO<sub>4</sub> sólido anhidro y después se concentraron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna por desorción súbita para obtener la anilina deseada.

B: procedimiento de acilación

30 A una solución en agitación magnética de la anilina adecuada (1 eq) en 20 ml de diclorometano se le agregó diisopropiletamina (2.1 eq), seguido del cloruro de ácido adecuado (1.4 eq) en una sola porción. La reacción se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. La solución resultante se agitó otras 3 h y después se detuvo mediante adición de 30 ml de HCl 1 N. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> saturado (1 x 20 ml), se secaron con MgSO<sub>4</sub> sólido anhidro y después se concentraron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna por desorción súbita para obtener la amida deseada.

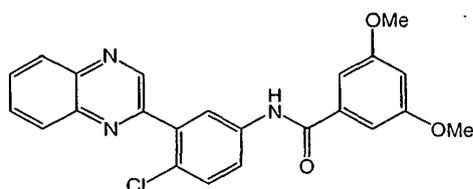
C: procedimiento de bromación

40 A una solución en agitación magnética de la acetofenona adecuada (1 eq) en 1 ml de benceno a 0 °C se le agregó lentamente 1 ml de HBr al 30% en HOAc, manteniendo la temperatura. Después se le agregó Br<sub>2</sub> (1.1 eq) gota a gota y la solución resultante se agitó a 0 °C durante 1 h. La reacción se vertió sobre hielo, la solución se neutralizó con NaHCO<sub>3</sub> sólido y después se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron con MgSO<sub>4</sub> sólido anhidro y después se concentraron. La α-bromoacetofenona resultante se utilizó en la reacción siguiente sin purificación.

D: procedimiento de formación de quinoxalina.

A una solución en agitación magnética de la  $\alpha$ -bromoacetofenona adecuada (1 eq) en 5 ml de etanol se le agregó la 1,2-fenilendiamina adecuada (2.7 eq), seguida de DIPEA (3.4 eq). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche en atmósfera de aire. La reacción se concentró, después se purificó por cromatografía de fase reversa en una columna C-18 usando un gradiente de 0 a 90% de  $\text{CH}_3\text{CN}$  en agua, ambos conteniendo 0.05% de TFA. Las fracciones que contenían el producto se liofilizaron para obtener un polvo.

Ejemplo 2 *N*-(4-cloro-3-(quinoxalin-3-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida



El procedimiento A se llevó a cabo con 2'-cloro-5'-nitro-acetofenona (0.22 g, 1.1 mmol) y hierro en polvo (0.64 g, 11 mmol). El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna por desorción súbita en gel de sílice eluyendo con EtOAc:hexanos (0:1 a 1:0) para obtener la 2'-cloro-5'-amino-acetofenona deseada.

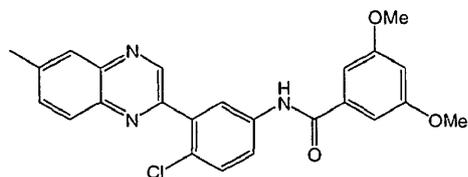
A una solución en agitación magnética de 2'-cloro-5'-amino-acetofenona (0.72 g, 4.2 mmol) en 20 ml de diclorometano se le agregó diisopropiletilamina (2.2 ml, 12.6 mmol) y cloruro de 3,5-dimetoxibenzoilo (1.39 g, 6.9 mmol) en una sola porción. La reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y se le agregó una segunda porción de cloruro de 3,5-dimetoxibenzoilo (1.26 g, 6.3 mmol), seguido de diisopropiletilamina (1.0 ml, 5.7 mmol). La solución resultante se agitó otras 3 h y después se detuvo mediante adición de 30 ml de HCl 1 N. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3  $\times$  30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con  $\text{NaHCO}_3$  saturado (1  $\times$  20 ml), se secaron con  $\text{MgSO}_4$  sólido anhidro y después se concentraron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna por desorción súbita en gel de sílice eluyendo con EtOAc:hexanos (0:1 a 2:5) para obtener la *N*-(3-acetil-4-clorofenil)-3,5-dimetoxibenzamida deseada.

El procedimiento C se llevó a cabo utilizando *N*-(3-acetil-4-clorofenil)-3,5-dimetoxibenzamida (0.1 g, 0.3 mmol) y  $\text{Br}_2$  (0.017 ml, 0.33 mmol) para obtener *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-3,5-dimetoxibenzamida.

El procedimiento D se llevó a cabo usando *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-3,5-dimetoxibenzamida (0.029 g, 0.07 mmol), 1,2-fenilendiamina (0.021 g, 0.19 mmol) y DIPEA (0.042 ml, 0.24 mmol) para obtener *N*-(4-cloro-3-(quinoxalin-3-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida como un polvo marrón claro.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{EDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  9.26 (s, 1H), 8.15-8.18 (m, 2H), 7.91-7.92 (m, 2H), 7.80-7.82 (m, 2H), 7.54 (d, 1H), 6.96 (d, 2H), 6.61 (t, 1H), 3.83 (s, 6H) ppm; MS (Q1) XXX (M) $^+$

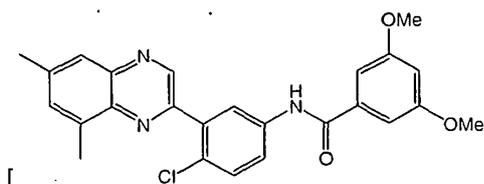
Ejemplo 3 *N*-(4-cloro-3-(6-metilquinoxalin-2-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida



El procedimiento D se llevó a cabo utilizando *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-3,5-dimetoxibenzamida (0.045 g, 0.11 mmol), 4-metil-1,2-fenilendiamina (0.022 g, 0.18 mmol) y DIPEA (0.06 ml, 0.34 mmol). La *N*-(4-cloro-3-(6-metilquinoxalin-2-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida resultante fue un polvo claro y consistió en una mezcla de los productos 6- y 7-metilados.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  9.21 (s, 1H), 8.08 (d, 1H), 7.90-7.96 (m, 3H), 7.68 (d, 1H), 7.56 (d, 1H), 6.98 (d, 2H), 6.64 (t, 1H), 3.83 (s, 6H) ppm; MS (Q1) 434.3 (M) $^+$ .

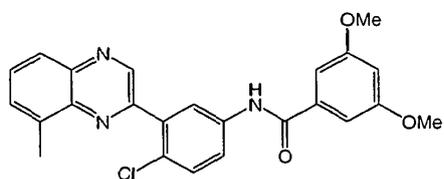
Ejemplo 4 *N*-(4-cloro-3-(5,7-dimetilquinoxalin-3-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida



El procedimiento D se llevó a cabo utilizando *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-3,5-dimetoxibenzamida (0.044 g, 0.11 mmol), 3,5-dimetil-1,2-fenilendiamina (0.020 g, 0.18 mmol) y DIPEA (0.06 ml, 0.34 mmol). La *N*-(4-cloro-3-(5,7-dimetilquinoxalin-3-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida resultante fue un polvo claro cuya regioquímica se determinó análogamente al ejemplo 10.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  9.22 (s, 1H), 7.95 (d, 1H), 7.86-7.90 (m, 2H), 7.78 (br s, 1H), 7.56 (d, 1H), 7.51 (br s, 1H), 6.79-7.00 (m, 2H), 6.62-6.66 (m, 1H), 3.86 (s, 6H), 2.82 (s, 3H), 2.59 (s, 3H) ppm; MS (Q1) 448.0 ( $\text{M}$ ) $^+$ .

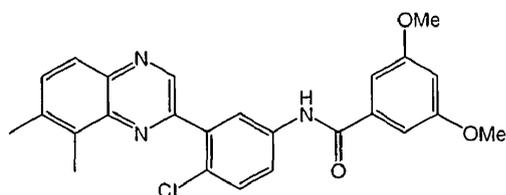
Ejemplo 5 *N*-(4-cloro-3-(5-metilquinoxalin-3-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida



El procedimiento D se llevó a cabo utilizando *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-3,5-dimetoxibenzamida (0.023 g, 0.06 mmol), 2,3-diaminotolueno (0.027 g, 0.22 mmol) y DIPEA (0.05 ml, 0.30 mmol). La *N*-(4-cloro-3-(5-metilquinoxalin-3-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida fue un polvo claro cuya regioquímica se determinó análogamente al ejemplo 10.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  9.26 (s, 1H), 8.00-8.03 (m, 1H), 7.96 (d, 1H), 7.89-7.91 (m, 1H), 7.85 (dd, 1H), 7.65-7.74 (m, 2H), 7.514(d, 1H), 6.96-7.98 (m, 2H), 6.61-6.62 (m, 1H), 3.83 (s, 6H), 2.85 (s, 3H) ppm; MS (Q1) 434.0 ( $\text{M}$ ) $^+$ .

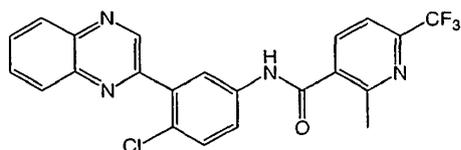
Ejemplo 6 *N*-(4-cloro-3-(5,6-dimetilquinoxalin-3-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida



El procedimiento D se llevó a cabo utilizando *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-3,5-dimetoxibenzamida (0.034 g, 0.08 mmol), 3,4-dimetilbenceno-1,2-diamina (0.017 g, 0.12 mmol) y DIPEA (0.042 ml, 0.24 mmol). La *N*-(4-cloro-3-(5,6-dimetilquinoxalin-3-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida fue un polvo claro cuya regioquímica se determinó análogamente al ejemplo 10.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  9.26 (s, 1H), 8.00-8.03 (m, 1H), 7.96 (d, 1H), 7.89-7.91 (m, 1H), 7.85 (dd, 1H), 7.65-7.74 (m, 2H), 7.514(d, 1H), 6.96-7.98 (m, 2H), 6.61-6.62 (m, 1H), 3.83 (s, 6H), 2.85 (s, 3H) ppm; MS (Q1) XXX ( $\text{M}$ ) $^+$ .

Ejemplo 7 *N*-(4-cloro-3-(quinoxalin-3-il)fenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida



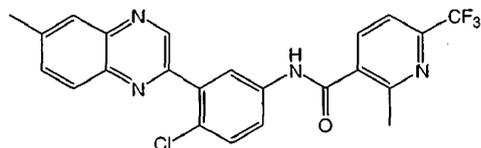
El procedimiento B se llevó a cabo utilizando 1-(5-amino-2-clorofenil)etanona (0.4 g, 2.4 mmol), trietilamina (0.7 ml, 5.0 mmol) y cloruro de 2-metil-6-(trifluorometil)piridina-3-carbonilo (0.76 g, 3.4 mmol).

El procedimiento C se llevó a cabo utilizando *N*-(3-acetil-4-clorofenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida (0.1 g, 0.3 mmol) y  $\text{Br}_2$  (0.017 ml, 0.33 mmol) para obtener *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-3,5-dimetoxibenzamida.

El procedimiento D se llevó a cabo utilizando *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida (0.029 g, 0.07 mmol), 1,2-fenilendiamina (0.021 g, 0.19 mmol) y DIPEA (0.042 ml, 0.24 mmol) para obtener *N*-(4-cloro-3-(quinoxalin-3-il)fenil)-3,5-dimetoxibenzamida como un polvo marrón claro.

5  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  9.30 (s, 1H), 8.17-8.24 (m, 2H), 7.95-8.00 (m, 2H), 7.84-7.90 (m, 3H), 7.59-7.64 (m, 3H), 2.81 (s, 3H) ppm; MS (Q1) 443.1 ( $\text{M}^+$ ).

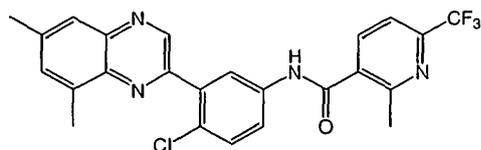
Ejemplo 8 *N*-(4-cloro-3-(6-metilquinoxalin-2-il)fenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida



10 El procedimiento D se llevó a cabo utilizando *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida (0.042 g, 0.10 mmol), 4-metil-1,2-fenilendiamina (0.025 g, 0.20 mmol) y DIPEA (0.052 ml, 0.30 mmol). La *N*-(4-cloro-3-(6-metilquinoxalin-2-il)fenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida fue un polvo claro y consistió en una mezcla de los productos 6- y 7-metilados.

15  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  9.22 (s, 1H), 8.09 (d, 1H), 7.86-7.98 (m, 4H), 7.77 (br s, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.56-7.62 (m, 2H), 2.80 (s, 3H), 2.64 (s, 3H) ppm; MS (Q1) 457.1 ( $\text{M}^+$ ).

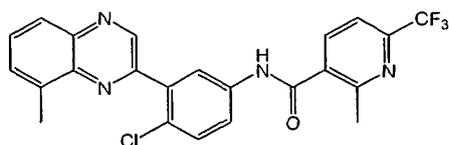
20 Ejemplo 9 *N*-(4-cloro-3-(5,7-dimetilquinoxalin-3-il)fenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida



25 El procedimiento D se llevó a cabo utilizando *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida (0.038 g, 0.09 mmol), 3,5-dimetil-1,2-fenilendiamina (0.029 g, 0.26 mmol) y DIPEA (0.052 ml, 0.30 mmol). La *N*-(4-cloro-3-(5,7-dimetilquinoxalin-3-il)fenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida fue un polvo claro cuya regioquímica se determinó análogamente al ejemplo 10.

30  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}$ , 400 MHz)  $\delta$  11.05 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.22 (d, 1H), 7.92 (d, 1H), 7.81-7.86 (m, 1H), 7.77 (d, 1H), 7.68 (d, 1H), 7.57 (br s, 1H), 6.81 (d, 1H), 2.66 (s, 3H), 2.51 (s, 3H); MS (Q1) XXX ( $\text{M}^+$ ).

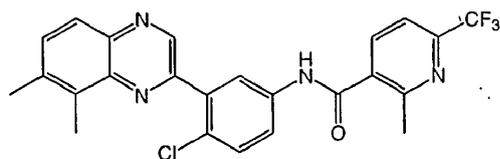
Ejemplo 10 *N*-(4-cloro-3-(5-metilquinoxalin-3-il)fenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida



35 El procedimiento D se llevó a cabo utilizando *N*-(3-(2-bromoacetil)-4-clorofenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida (0.026 g, 0.06 mmol), 2,3-diaminotolueno (0.018 g, 0.15 mmol) y DIPEA (0.05 ml, 0.30 mmol). La *N*-(4-cloro-3-(5-metilquinoxalin-3-il)fenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida fue un polvo cuya regioquímica se determinó por observación de la transferencia de la magnetización del metilo de quinoxalina al protón en la posición 2 del anillo central fenilo y la no transferencia al protón en la posición 2 de la quinoxalina durante el transcurso de un experimento ROESY.

40  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  9.26 (s, 1H), 8.00-8.03 (m, 1H), 7.96 (d, 1H), 7.89-7.91 (m, 1H), 7.85 (dd, 1H), 7.65-7.74 (m, 2H), 7.514(d, 1H), 6.96-7.98 (m, 2H), 6.61-6.62 (m, 1H), 3.83 (s, 6H), 2.85 (s, 3H) ppm; MS (Q1) 457.1 ( $\text{M}^+$ ).

45 Ejemplo 11 *N*-(4-cloro-3-(5,6-dimetilquinoxalin-3-il)fenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida

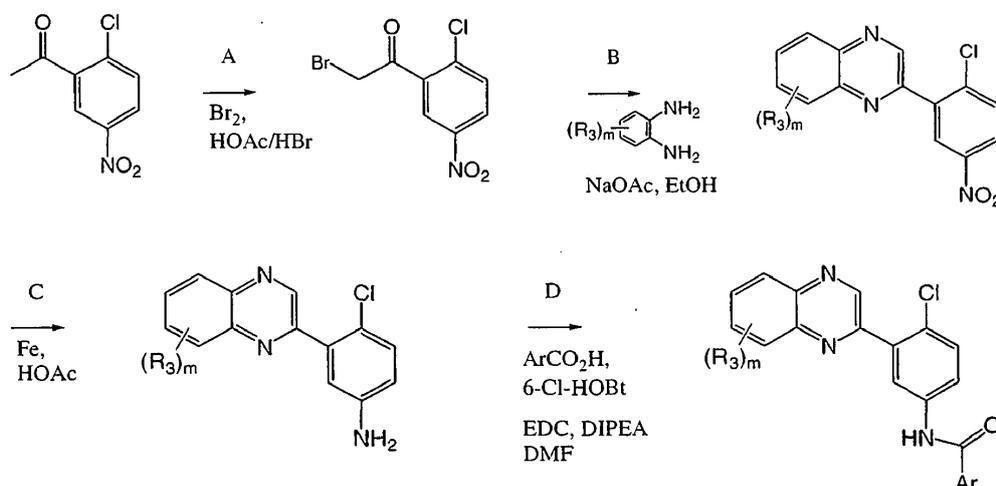


El procedimiento D se llevó a cabo utilizando *N*-(3-(2-bromoacetyl)-4-clorofenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida (0.018 g, 0.04 mmol), 3,4-dimetilbenceno-1,2-diamina (0.01 g, 0.07 mmol) y DIPEA (0.052 ml, 0.3 mmol). La *N*-(4-cloro-3-(5,6-dimetilquinoxalin-3-il)fenil)-6-(trifluorometil)-2-metilpiridina-3-carboxamida fue un polvo claro cuya regioquímica se determinó análogamente al ejemplo 10.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  9.18 (s, 1H), 7.89-7.98 (m, 3H), 7.83-7.87 (m, 1H), 7.68 (br s, 1H), 7.64 (d, 1H), 7.64-7.61 (m, 2H), 2.78 (s, 3H), 2.75 (s, 3H), 2.54 (s, 3H) ppm; MS (Q1) 471.3 (M) $^+$ .

#### Ejemplo 12 Procedimiento general

El compuesto del ejemplo 13 se preparó de acuerdo con el procedimiento general siguiente.



A: procedimiento de bromación

A una solución en agitación magnética de la acetofenona adecuada (1 eq) en 40 ml de benceno a 0 °C se le agregaron lentamente 40 ml de HBr al 30% en HOAc, manteniendo la temperatura. Después se le agregó  $\text{Br}_2$  (1.05 eq) gota a gota y la solución resultante se agitó a 0 °C durante 15 min. La reacción se vertió sobre hielo y después se extrajo con EtOAc (3  $\times$  30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron con  $\text{MgSO}_4$  sólido anhidro y después se concentraron. La alfa-bromoacetofenona cruda resultante se purificó mediante cromatografía en columna por desorción súbita.

B: procedimiento de formación de quinoxalina

A una solución en agitación magnética de la alfa-bromoacetofenona adecuada (1 eq) en 200 ml de etanol se le agregó la 1,2-fenilendiamina adecuada (2.4 eq), seguido de la adición de acetato de sodio sólido (3 eq). La solución resultante se calentó a reflujo y se agitó durante toda la noche en atmósfera de aire. El producto formado precipitó, la reacción se filtró al vacío y los sólidos se lavaron con 50 ml de etanol frío seguido de lavado con 50 ml de HCl 0.1 N. El producto se usó sin purificación adicional.

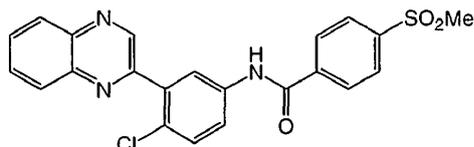
C: procedimiento de reducción

A una suspensión en agitación magnética del nitroaromático adecuado (1 eq) en 100 ml de HOAc se le agregó hierro en polvo de 325 mesh (3 eq) en una sola porción. La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, tiempo durante el cual los productos orgánicos se disolvieron completamente formando una solución roja oscura. Después la reacción se vertió sobre hielo y la solución resultante se extrajo con EtOAc (3  $\times$  200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con  $\text{NaHCO}_3$  saturado (3  $\times$  200 ml), se secaron con  $\text{MgSO}_4$  sólido anhidro y después se concentraron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna por desorción súbita para obtener la anilina deseada.

D: procedimiento de acilación

5 A una solución en agitación magnética del ácido adecuado (1.05 eq) en 20 ml de DMF se le agregó EDC (2.0 eq) y DIPEA (2.0 eq), seguido de 6-cloro-hidroxibenzotriazol (2 eq). La solución resultante se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente, después se le agregó la anilina adecuada y se continuó agitando durante toda la noche a temperatura ambiente. La reacción se diluyó con 100 ml de agua y se extrajo con EtOAc (3 × 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 × 100 ml), se secaron con MgSO<sub>4</sub> sólido anhidro y después se concentraron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna por desorción súbita para obtener la amida deseada.

10 Ejemplo 13 N-(4-cloro-3-quinoxalin-2-il-fenil)-4-metanosulfonil-benzamida



15 El procedimiento A se llevó a cabo con 2'-cloro-5'-nitro-acetofenona (4.0 g, 20 mmol) y bromo (1.13 ml, 22 mmol). El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna por desorción súbita en gel de sílice eluyendo con EtOAc:hexanos (0:1 a 1:4) para obtener la 2-bromo-2'-cloro-5'-nitroacetofenona deseada (5.4 g, 19.2 mmol).

20 El procedimiento B se llevó a cabo con 2-bromo-2'-cloro-5'-nitroacetofenona (14.16 g, 50 mmol), 1,2-fenilendiamina (13.1 g, 120 mmol) y NaOAc (12.4, 150 mmol) para dar la 2-(2-cloro-5-nitro-fenil)-quinoxalina deseada (8.6 g, 30 mmol).

El procedimiento C se llevó a cabo utilizando quinoxalina (8.6 g, 30 mmol) y Fe (5.2 g, 90 mmol) para obtener anilina (5.3 g, 20.7 mmol).

25 El procedimiento D se llevó a cabo utilizando ácido 4-(metilsulfonil)benzoico (102 mg, 0.49 mmol), EDC (186 mg, 0.93 mmol), DIPEA (0.16 ml, 0.93 mmol), 6-cloro-hidroxibenzotriazol (162 mg, 0.93 mmol) y anilina (119 mg, 0.46 mmol). El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna por desorción súbita en gel de sílice eluyendo con EtOAc:hexanos (0:1 a 3:2) para obtener la 4-cloro-3-quinoxalin-2-il-fenilamina deseada (104 mg, 0.24 mmol).

30 <sup>1</sup>H NMR (D<sub>6</sub>-DMSO, 300 MHz) δ 10.81 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.23-8.15 (m, 4H), 8.11-8.00 (m, 3H), 7.97-7.90 (m, 2H), 7.69 (s, 1H), 3.30 (s, 3H) ppm; MS (Q1) 438.0 (M)<sup>+</sup>.

35 Ejemplo 14 ensayos de inhibición de la señalización hedgehog

Líneas celulares reporteras de ratón - células 10T1/2-GliLuc [s12] (derivadas de la línea celular C3H10T1/2 ATCC N° CCL-226); fibroblastos embrionarios de ratón); medio de cultivo: medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) complementado con 10% de suero de feto bovino (SFB), 10 unidades/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomycin, glutamina 2 mM y HEPES 10 mM.

Líneas celulares reporteras humanas - células HEPM-GliLuc [MZ24] - (derivadas de HEPM: mesénquima palatal embrionario humano, ATCC N° CRL-1486); medio de cultivo: medio mínimo esencial (MEM; con sales de Earle) complementado con 10-20% de suero de feto bovino (FBS), 10 unidades/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomycin, glutamina 2 mM y HEPES 10 mM de pH 7.2.

45 Sonic hedgehog - conjugado octilado N-terminal de SHh humana recombinante.

Placas de microtitulación (MTP) - para el ensayo de luciferasa las células se distribuyen en placas de microtitulación de 96 pocillos (blancas, fondo plano, Clear-View).

Medio del ensayo de luciferasa - DMEM complementado con 0,5% de SFB, 10 unidades/mL de penicilina, 100 µg/ml de estreptomycin, glutamina 2 mM y HEPES 10 mM de pH 7.2.

Mezcla PBS/Ca/Mg - solución salina amortiguada con fosfato (PBS) complementada con CaCl<sub>2</sub> 0.5 mM y MgCl<sub>2</sub> 1 mM.

Procedimiento del ensayo

60 Las células genéticamente modificadas para contener un gen reportero de luciferasa s12 y MZ24 dirigidas por el promotor Gli sensible a hedgehog se mantuvieron en placas de cultivo tisular en el medio de cultivo a 37 °C y 5% de

CO<sub>2</sub>. Los cultivos celulares se pasaron a sub-confluencia cada 3-4 días. (1:20 a 1:40 para s12; 1:3 a 1:10 para MZ24). Las células se recolectaron y diluyeron en medio de cultivo de modo que pudieran ser distribuidas en una placa de microtitulación a razón de 10 000-20 000 células (s12), o 20 000-30 000 células (MZ24), por 100 µl, por pocillo. Las células se volvieron a incubar durante ~24-48 horas a 37 °C y 5% de CO<sub>2</sub>.

5 Tras ~24-48 horas de incubación se reemplazó el medio de cultivo por el medio del ensayo de luciferasa (100 µl por pocillo), con y sin conjugado Sonic hedgehog-octilo, a una concentración de 0.1-0.3 µg/ml (s12) o 0.5-1.0 µg/ml (MZ24), y los compuestos de prueba. Las células se volvieron a incubar otras 24 h.

10 Las placas de microtitulación se sometieron al kit del ensayo del gen reportero luciferasa (LucLite™), con modificaciones al procedimiento del fabricante donde el medio se eliminó y el sustrato se reconstituyó con PBS/Ca/Mg:tampón de lisis 1:1 en lugar de tampón de lisis solo. En resumen, PBS/Ca/Mg se mezcló en relación 1:1 con tampón de lisis y se agregaron 10 ml a cada vial de sustrato (de los 1000 del kit del ensayo ). Después el medio del ensayo de las placas de microtitulación se descartó y se agregaron 100 µl de esta mezcla del sustrato a cada pocillo. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 20-30 minutos y después se determinaron las unidades relativas de luz (RLU) que representan el nivel de expresión relativo del gen reportero luciferasa con un lector Topcount (Packard) o un lector Analyst (Molecular Devices).

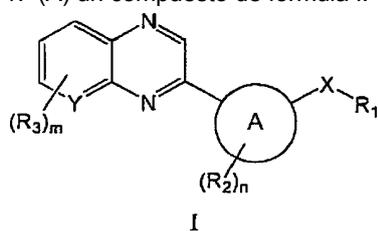
15 La tabla 1 representa los valores promedio de CI<sub>50</sub> para compuesto particulares probados según los procedimientos descritos antes, utilizando líneas celulares reporteras de ratón [s12] o humanas [MZ24] Gli que indican la inhibición de la vía de señalización hedgehog.

Tabla 1:

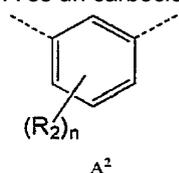
compuesto	CI <sub>50</sub> (µM)	compuesto	CI <sub>50</sub> (µM)
6	<1	7	<1
15	<1	18	<1
19	<1	24	<1
27	<1	31	<1
33	<1	34	<1
35	<1	36	<1
37	<1	38	<1
39	<1	40	<1
41	<1	42	<1
43	<1	44	<1
45	<1	46	<1
47	<1	48	<1
50	<1	51 1	<1
52	<1	53	<1
54	<1	55	<1
56	<1		

REIVINDICACIONES

1. (A) un compuesto de fórmula I:



5 donde  
A es un carbociclo de



X es NR<sub>4</sub>C(O), donde R<sub>4</sub> es H o alquilo;  
Y es N, CH o CR<sub>3</sub>;

10 R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, arilo o un heterociclo cada uno de los cuales está  
opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo, haloalquilo o alcoxi; y  
dicho cicloalquilo, arilo y heterociclo están opcionalmente sustituidos con -(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-(Q)<sub>u</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-Z donde Q es C(O),  
S(O), SO<sub>2</sub>, C(O)O, OC(O), NR<sub>4</sub>C(O), NR<sub>4</sub>C(S), NR<sub>4</sub>SO, NR<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>, NR<sub>4</sub>C(O)NH, NR<sub>4</sub>C(S)NH, C(O)NR<sub>4</sub> o C(S)NR<sub>4</sub>; y Z  
15 es hidroxilo, amino, halógeno, alquilsulfonilo, alcoxi, alcoxycarbonilo, haloalquilo, un carbociclo, un heterociclo, o un  
carbociclo o heterociclo sustituido con hidroxilo, halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo, haloalquilo,  
hidroxialquilo, alcoxi o alcoxialcoxi; y s y t son independientemente 0 a 5 y u es 0 o 1; donde alquilo significa un  
grupo hidrocarburo alifático, ramificado o lineal, saturado o insaturado, que tiene hasta 12 átomos de carbono;  
20 cicloalquilo significa un anillo mono-, bi- o tricíclico que tiene 3 a 14 átomos de carbono; arilo significa un grupo  
aromático carbocíclico, fusionado o no, que tiene hasta 14 átomos de carbono; heterociclo significa cualquier anillo  
mono-, bi- o tricíclico, saturado o insaturado, aromático (heteroarilo) o no aromático que tiene una cantidad de  
átomos en el anillo de 5 a 14, donde los átomos son de carbono y al menos un heteroátomo (nitrógeno, azufre u  
oxígeno),

25 R<sub>2</sub> es halógeno, hidroxilo, alquilo, acilo o alcoxi cada uno opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino,  
nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo o alcoxi;

R<sub>3</sub> es halógeno, hidroxilo, alquilo, acilo o alcoxi cada uno opcionalmente sustituido con hidroxilo, halógeno, amino,  
nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo o alcoxi;

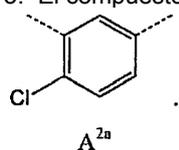
30 m es 0-3;

n es 1;

y sus sales y solvatos.

35 2. El compuesto de la reivindicación 1, donde R<sub>2</sub> es Cl o Me.

3. El compuesto de la reivindicación 1, donde A es A<sup>2a</sup>



40 4. El compuesto de la reivindicación 1, donde R<sub>4</sub> es H o Me.

5. El compuesto de la reivindicación 4, donde R<sub>4</sub> es H.

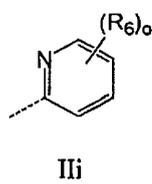
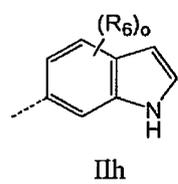
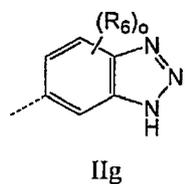
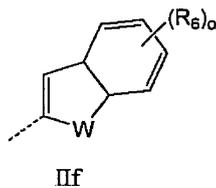
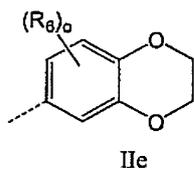
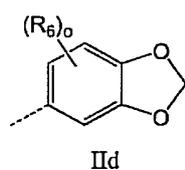
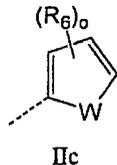
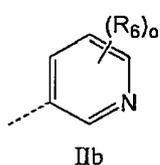
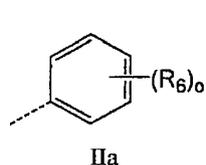
45 6. El compuesto de la reivindicación 1, donde R<sub>3</sub> es Me o F.

7. El compuesto de la reivindicación 1, donde R<sub>3</sub> es Me y m es 1 o 2.

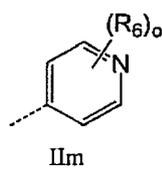
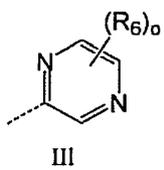
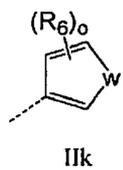
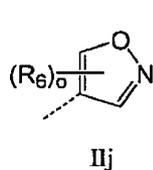
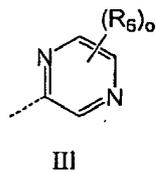
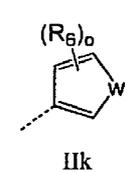
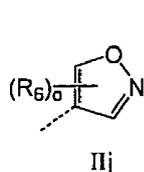
8. El compuesto de la reivindicación 1, donde  $R_3$  es F y m es 1 o 2.

9. El compuesto de la reivindicación 1, donde m es 0.

5 10. El compuesto de la reivindicación 1, donde  $R_1$  se selecciona del grupo que consiste en la fórmula IIa - IIm;



10



15

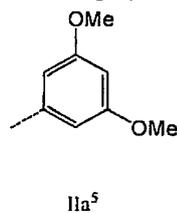
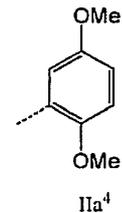
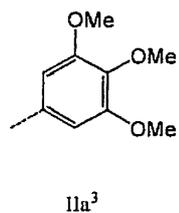
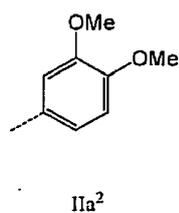
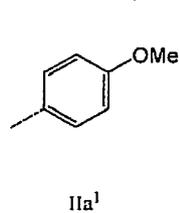
donde W es O, S o  $NR_7$  donde  $R_7$  es H o alquilo;  $R_6$  es halógeno, amino, nitro, alquilo, acilo, alquilsulfonilo o alcoxi; y o es 0-3.

20

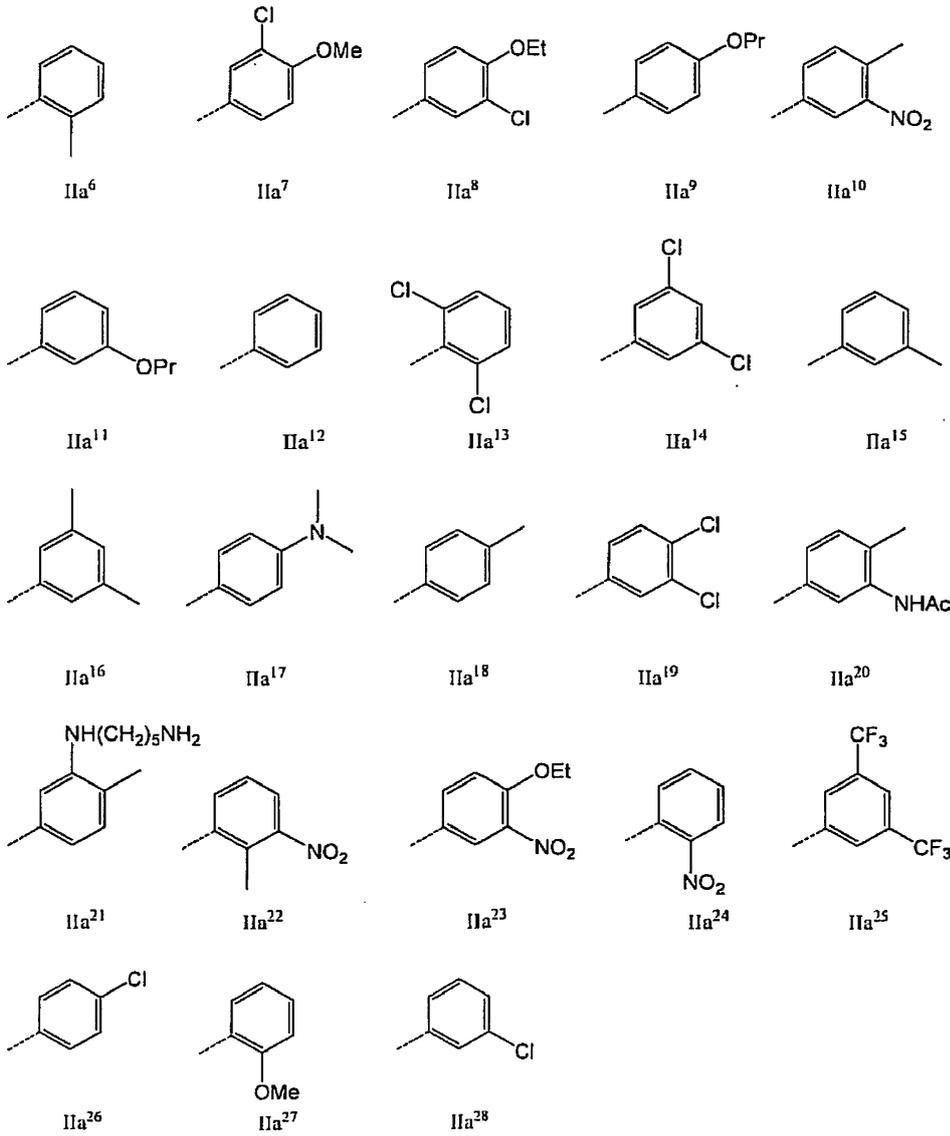
11. El compuesto de la reivindicación 10, donde  $R_1$  es el grupo de fórmula IIa.

12. El compuesto de la reivindicación 11, donde  $R_6$  es alcoxi y o es 1 o 2.

13. El compuesto de la reivindicación 11, donde  $R_1$  se selecciona del grupo de las fórmulas IIa<sup>1</sup> - IIa<sup>28</sup>:



25



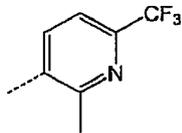
5

10

14. El compuesto de la reivindicación 10, donde R<sub>1</sub> es el grupo de fórmula IIb.

15. El compuesto de la reivindicación 14, donde R<sub>6</sub> es alquilo o haloalquilo.

16. El compuesto de la reivindicación 14, donde R<sub>1</sub> es el grupo de fórmula IIb<sup>1</sup>



15

IIb<sup>1</sup>

17. El compuesto de la reivindicación 14, donde R<sub>3</sub> es H, Me o F.

18. El compuesto de la reivindicación 14, donde R<sub>3</sub> es H.

20

19. Una composición que contiene un compuesto de la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20. Una composición que contiene una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 para usar en el tratamiento del cáncer en un mamífero.

25

21. La composición de la reivindicación 20, donde dicho cáncer es carcinoma basocelular, meduloblastoma,

adenocarcinoma pancreático, carcinoma microcítico de pulmón, carcinoma de mama, rhabdomiosarcoma, cáncer esofágico, cáncer de estómago, cáncer de las vías biliares.

- 5 22. Una composición que contiene la cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 para usar en la inhibición de la angiogénesis en un mamífero.