

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 424 642**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.02.2005 E 05713510 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2013 EP 1713806**

54 Título: **Compuestos y composiciones como inhibidores de la proteína quinasa**

30 Prioridad:

14.02.2004 US 544944 P

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

07.10.2013

73 Titular/es:

**IRM LLC (100.0%)
P.O. Box HM 2899
Hamilton, HM LX, BM**

72 Inventor/es:

**CHOI, HA-SOON;
WANG, ZHICHENG;
GRAY, NATHANAEL SCHIANDER;
GU, XIANG-JU;
HE, XIAOHUI;
HE, YUN;
JIANG, TAO;
LIU, YI;
RICHMOND, WENDY;
SIM, TAEBO y
YANG, KUNYONG**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 424 642 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos y composiciones como inhibidores de la proteína quinasa

Antecedentes de la invención

Campo de la Invención

5 La invención provee una clase novedosa de compuestos, las composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos y tales compuestos para su uso para tratar o prevenir enfermedades o trastornos asociados con actividad de la quinasa anormal o desregulada, particularmente enfermedades o trastornos que involucran la activación anormal de las FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 y c-Met quinazas.

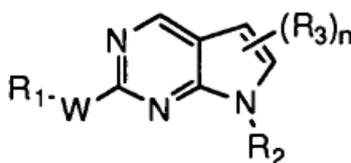
Antecedentes

10 Las proteínas quinazas representan una gran familia de proteínas, que desempeñan un papel central en la regulación de una amplia variedad de procesos celulares y mantienen el control sobre la función celular. Una lista parcial, no limitante de estas quinazas incluyen: receptor de la tirosina quinazas, tales como quinasa del receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF-R), la quinasa del receptor para el factor de la célula madre, c-kit, el receptor del factor de crecimiento del nervio, trkB, c-Met, y el receptor del factor de crecimiento de fibroblasto, FGFR3; no-receptor de las tirosinas quinazas tales como Abl y la fusión quinasa BCR-Abl, quinasa de adhesión focal (FAK), Fes, Lck y Syk; y serina/treonina quinazas tales como b-RAF, MAP quinazas (por ejemplo, MKK6) y SAPK2β. La actividad de la quinasa aberrante se ha observado en muchos estados de la enfermedad incluyendo trastornos proliferativos malignos y benignos así como enfermedades que resultan de la activación no adecuada del sistema nervioso e inmune. WO 03/074530 A1 describe ciertos derivados bicíclicos de la piridina y la pirimidina.

Los compuestos novedosos de esta invención inhiben la actividad de una o más proteínas quinazas y por lo tanto, se espera que sean útiles en el tratamiento de enfermedades asociadas con la quinasa.

Resumen de la invención

En un aspecto, la presente invención provee los compuestos de Fórmula Ia:



Ia

25 en la cual:
n es 0 o 1;
w se selecciona de -NR₄- y -O-; en donde R₄ se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁₋₆;
R₁ se selecciona de arilo C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄, heteroarilo C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄, cicloalquilo C₃₋₁₂-alquilo C₀₋₄ y heterocicloalquilo C₃₋₈-alquilo C₀₋₄; en donde cualquier arilalquilo, heteroarilalquilo,
30 cicloalquilalquilo o heterocicloalquilalquilo de R₁ opcionalmente se sustituye por 1 a 3 radicales independientemente seleccionados de halo, nitro, ciano, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo C₅₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₂, heterocicloalquilo C₃₋₈, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆-halo-sustituido, alcoxi C₁₋₆-halo-sustituido, -XNR₅R₅, -XNR₅XNR₅R₅, -XNR₅XOR₅, -XOR₅, -XSR₅, -XS(O)R₅, -XS(O)₂R₅, -XC(O)NR₅R₅, -XOXR₆ y -XC(O) R₆; en donde X es un enlace o alquileo C₁₋₆; R₅ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₆ y cicloalquilo C₃₋₁₂-alquilo C₀₋₄; y R₆ se selecciona de heterocicloalquilo C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ y heteroarilo C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄ opcionalmente sustituido por 1 a 3 radicales seleccionados de alquilo C₁₋₆ y -C(O)OH; en donde cualquier sustituyente de arilo, heteroarilo, cicloalquilo o heterocicloalquilo de R₁ además es opcionalmente sustituido por 1 a 5 radicales independientemente seleccionados de alquilo C₁₋₆ y alcoxi C₁₋₆;

5 R₂ se selecciona de arilo C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄ y heteroarilo C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄; en donde cualquier arilalquilo o heteroarilalquilo de R₂ opcionalmente se sustituye por 1 a 3 radicales independientemente seleccionados de halo, nitro, ciano, alquilo C₁₋₆, alqueno C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆- halo sustituido, heteroarilo C₃₋₈-alquilo C₀₋₄, -XNR₅R₅, -XOR₅, -XSR₅, -XS(O)₂NR₅R₅, -XC(O)OR₅, -XOC(O)R₅, -XC(O)NR₅XNR₅R₅, -XC(O)NR₅XC(O)OR₅, -XC(O)NR₅XNR₅C(O)R₅, -XC(O)NR₅XNR₅C(O)OR₅, -XC(O)NR₅XOR₅, -XC(O)N(XOR₅)₂, -XNR₅C(O)R₅, -XC(O)NR₅R₆, -XC(O)R₆, -XR₇, -XR₆ y -XC(O)NR₅XR₇; en donde X es un enlace o alqueno C₁₋₆; y R₅ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₆ y cicloalquilo C₃₋₁₂-alquilo C₀₋₄; R₆ se selecciona de heterocicloalquilo C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ y heteroarilo C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄ opcionalmente sustituido por 1 a 3 radicales seleccionados de alquilo C₁₋₆ y -C(O)OH; y R₇ es ciano;

10 R₃ se selecciona de halo, hidroxilo, -C(O)OH y -C(O)OCH₃; y las sales farmacéuticamente aceptables de tales compuestos.

En un segundo aspecto, la presente invención provee una composición farmacéutica que contiene un compuesto de Fórmula I o una sal de este farmacéuticamente aceptable, en mezcla con uno o más excipientes apropiados.

15 En un tercer aspecto, la presente invención provee el uso de un compuesto de Fórmula I, en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad en un animal en la cual la actividad de la quinasa, particularmente actividad de FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 y/o c-Met, contribuye a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

En un cuarto aspecto, la presente invención provee un proceso de preparación de los compuestos de Fórmula I y las sales de estos farmacéuticamente aceptables.

20 Descripción detallada de la invención

Definiciones

"Alquilo" como un grupo y como un elemento estructural de otros grupos, por ejemplo alcoxi y alquilo halo sustituido, puede ser tanto de cadena lineal como ramificada. Alcoxi C₁₋₄ incluye, metoxi, etoxi, y similares. Alquilo halo sustituido incluye trifluorometil, pentafluoroetil, y similares.

25 "Ariolo" significa una estructura de anillo aromático monocíclico o bicíclico fusionado que contiene seis a diez átomos de carbono en el anillo. Por ejemplo, el ariolo puede ser fenilo o naftilo, preferiblemente fenilo. "Arieno" significa un radical divalente derivado de un grupo ariolo. "Heteroarilo" es como se define para ariolo donde uno o más de los miembros del anillo son un heteroátomo. Por ejemplo, el heteroarilo incluye piridilo, indolilo, indazolilo, quinoxalinilo, quinolinilo, benzofuranilo, benzopirano, benzotiofuranilo, benzo[1,3] dioxol, imidazolilo, benzoimidazolilo, pirimidinilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, tienilo, etc.

30 "Cicloalquilo" significa una estructura de anillo saturado o parcialmente insaturado, monocíclico, policíclico en puente o bicíclico fusionado que contiene el número indicado de átomos en el anillo. Por ejemplo, cicloalquilo C₃₋₁₀ incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, etc. "Heterocicloalquilo" significa cicloalquilo, como se define en esta solicitud, a condición de que uno o más de los carbonos en el anillo indicado, se reemplacen por una fracción seleccionada de -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- o -S(O)₂-, en donde R es hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o un grupo protector nitrógeno. Por ejemplo, heterocicloalquilo C₃₋₈ como se utiliza en esta solicitud, para describir los compuestos de la invención incluyen morfolino, pirrolidinil, piperazinil, piperidinil, piperidinilona, 1,4-dioxa-8-aza-espiro[4.5]dec-8-il, 1,1-dioxo-116-tiomorfolin-4-il, etc.

40 "Halógeno" (o halo) preferiblemente representa cloro o flúor, pero también puede ser bromo o yodo. "Tratar", "curar" y "tratamiento" se refiere a un método para aliviar o disminuir una enfermedad y/o sus síntomas acompañantes.

Descripción de las Modalidades Preferidas

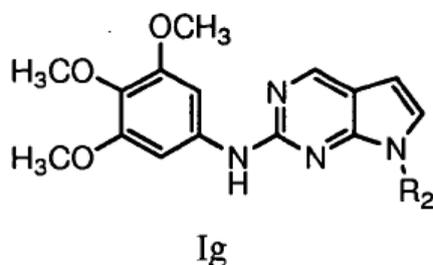
Los compuestos de esta invención son útiles en la inhibición de las quinasas y se ilustran por un compuesto de Fórmula I como se detalla en el Resumen de la Invención.

45 En otra modalidad, R₁ se selecciona de arilo C₆₋₁₀-alquilo C₀₋₄ y heteroarilo C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄; en donde cualquier arilalquilo y heteroarilalquilo de R₁ opcionalmente se sustituye por 1 a 3 radicales independientemente seleccionados de halo, nitro, heteroarilo C₅₋₁₀, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆- halo sustituido, -XNR₅R₅, -XOR₅, -XSR₅, -XNR₅XNR₅R₅, -XNR₅XOR₅, -XC(O)NR₅R₅, -XOXR₆ y -XC(O)R₆; en donde X es un enlace o alqueno C₁₋₆; R₅ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₆ y cicloalquilo C₃₋₁₂-alquilo C₀₋₄; y R₆ se selecciona de heterocicloalquilo C₃₋₈-alquilo C₀₋₄ y heteroarilo C₅₋₁₀-alquilo C₀₋₄ opcionalmente sustituido por 1 a 3 radicales seleccionados de alquilo C₁₋₆ y -C(O)OH; en donde cualquier heteroarilo sustituyente de R₁, además es opcionalmente sustituido por 1 a 5 radicales alquilo C₁₋₆.

En otra modalidad, W se selecciona de -NH- y -O-; y R₁ se selecciona de fenilo, bencilo, 5,6,7,8-tetrahidro-naftalenil, benzo[1,3]dioxolil, 1H-indazol-7-il, indan-4-il y 1H-indolil; en donde cualquier arilalquilo y heteroarilalquilo de R₁ opcionalmente se sustituye por 1 a 3 radicales independientemente seleccionados de metoxi, metilo, amino, halo, hidroximetilo, hidroxil, quinoxalinilo, etilo, piridinilo, metoxi-fenilo, piperazinil-carbonilo, etil-(2-hidroxi-etilo)-amino 2-(4-metil-piperazin-1-il)-etoxi, formamilo, isopropilo, metil-sulfanilo, tri-fluoro-metilo, etoxi, 3-isopropilaminopropilamino, dimetil-amino, morfolino, ciclopropil-metoxi, butoxi, cicloheptil-oxi y 1,4,5,7-tetrametil-pirrolo [3,4-d]piridazinil.

En otra modalidad, R₂ se selecciona de piridinilo, fenilo, tiazolil, piridinil-metilo, piridinil-etilo, tiofenilo, bencilo, quinolinil, 7-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-naftalenil, naftil y pirimidinil; en donde cualquier arilalquilo o heteroarilalquilo de R₂ opcionalmente se sustituye por 1 a 3 radicales independientemente seleccionados de halo, nitro, ciano, metilo, propil-sulfamoil, metil-sulfamoil, metoxi, metil-carboxi, 2-dimetilamino-etil-formamilo, carboxi, amino, cianoetilo, ciano-metilo, etenil, tri-fluoro-metilo, hidroxil-metilo, etilo, metil-sulfanilo, butilo, isobutilo, carboxi-metilformamidil, 1-carboxi-etil-formamidilo, carboxi-etilo, amino-etil-formamidilo, amino-propil-formamidilo, dimetilamino-etil-formamidilo, dimetil-amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-butil-formamidilo, metil-formamidilo, etil-formamidilo, etil-formamidil-metilo, 2-(2-dimetilamino-etilcarbamoil)-etilo, 2-(2-dimetilamino-formamidilo)-etilo, 2-(amino-etil-formamidilo)-etilo, 2-(amino-propil-formamidilo)-etilo, 2-(propil-formamidilo)-etilo, amino-propil-formamidil-metilo, 2-(metil-amino-carbamoil)-etilo, 2-(etil-amino-carbamoil)-etilo, morfolino-etil-formamidilo, morfolino-carbonil-metilo, amino-etil-formamidil-metilo, ciclobutil-formamidilo, metil-formamidil-metilo, dimetil-formamidil-metilo, hidroxil-etil-formamidil-metilo, hidroxil-propil-formamidil-metilo, N,N-bis-(3-hidroxi-propil)-formamidilo, ciclopentil-formamidilo, isobutil-formamidilo, isobutil-formamidil-metilo, ciclopentil-formamidilmetil, ciano-etil-formamidilo, ciano-metil-formamidilo, pirrolidinil-etil-formamidilo, 2-(isobutil-formamidilo)-etilo, 1H-tetrazolil, 2-(1H-tetrazol-5-il)-etilo, 2-(1H-tetrazol-5-il)-metilo, 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)-metilo, acetil-amino, ciclopropil-formamidil-metilo, hidroxil-etil-formamidilo, hidroxil-propil-formamidilo, propil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidilo, acetil-amino-etil-formamidilo, 1-metil-piperidin-4-il-formamidilo, morfolino-carboniletilo, metoxi-carbonil-metilo, metoxi-carbonil-etil-formamidilo, metoxi-carbonil-etil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidil-metilo, acetil-amino-etil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidil-metilo, metoxicarbonil-etilo, ácido 1-formil-pirrolidin-2-il-carboxílico, (1-carboxi-3-metil-butilo)-formamidilo, 2-(metoxicarbonilmetil-formamidilo)-etilo, 1-carboxi-(2,2-dimetil-propil)-formamidilo, 3-tert-butoxicarbonil-amino-propil-formamidilo, acetoxi-metilo y 1-carboxi-etil-formamidilo.

En otra modalidad son los compuestos de Fórmula Ig:



en la cual R₂ se selecciona de piridinilo, fenilo, tiazolilo, piridinil-metilo, piridinil-etilo, tiofenilo, bencilo, quinolinilo, 7-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-naftalenilo, naftilo y pirimidinilo; en donde cualquier arilalquilo o heteroarilalquilo de R₂ opcionalmente se sustituye por 1 a 3 radicales independientemente seleccionados de halo, nitro, ciano, metilo, propil-sulfamoil, metilsulfamoil, metoxi, metil-carboxi, 2-dimetilamino-etil-formamilo, carboxi, amino, ciano-etilo, ciano-metilo, etenil, tri-fluoro-metilo, hidroxil-metilo, etilo, metil-sulfanilo, butilo, isobutilo, carboxi-metil-formamidilo, 1-carboxi-etilformamidilo, carboxi-etilo, amino-etil-formamidilo, amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-etil-formamidilo, dimetil-amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-butil-formamidilo, metil-formamidilo, etil-formamidilo, etil-formamidil-metilo, 2-(2-dimetilamino-etilcarbamoil)-etilo, 2-(2-dimetilamino-formamidilo)-etilo, 2-(amino-etil-formamidilo)-etilo, 2-(amino-propil-formamidilo)-etilo, 2-(propil-formamidilo)-etilo, amino-propil-formamidil-metilo, 2-(metilamino-carbamoil)-etilo, 2-(etil-amino-carbamoil)-etilo, morfolino-etil-formamidilo, morfolino-carbonil-metilo, amino-etil-formamidil-metilo, ciclobutil-formamidilo, metil-formamidil-metilo, dimetil-formamidil-metilo, hidroxil-etil-formamidil-metilo, hidroxil-propil-formamidil-metilo, N,N-bis-(3-hidroxi-propil)-formamidilo, ciclopentilformamidilo, isobutil-formamidilo, isobutil-formamidil-metilo, ciclopentil-formamidil-metilo, ciano-etil-formamidilo, ciano-metil-formamidilo, pirrolidinil-etil-formamidilo, 2-(isobutil-formamidilo)-etilo, 1H-tetrazolil, 2-(1H-tetrazol-5-il)-etilo, 2-(1H-tetrazol-5-il)-metilo, 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)-metilo, acetil-amino, ciclopropil-formamidil-metilo, hidroxil-etil-formamidilo, hidroxil-propil-formamidilo, propil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidilo, acetilamino-etil-formamidilo, 1-metil-piperidin-4-il-formamidilo, morfolino-carbonil-etilo, metoxi-carbonil-metilo, metoxi-carbonil-etil-formamidilo, metoxi-carbonil-etil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidilmetilo, metoxi-carbonil-metil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidil-metilo, acetil-amino-etil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-etilo, ácido 1-formil-pirrolidin-2-il-carboxílico, (1-carboxi-3-metil-butilo)-formamidilo, 2-(metoxicarbonil-

metil-formamidil)-etilo, 1-carboxi-(2,2-dimetil-propil)-formamidilo, 3-tert-butoxicarbonil-amino-propil-formamidilo, acetoxi-metilo y 1-carboxietil-formamidilo.

Los compuestos preferidos de Fórmula I, se detallan en los Ejemplos y la Tabla I, *infra*.

Farmacología y Utilidad

- 5 Los compuestos de la invención modulan la actividad de las proteínas tirosina quinasas y, como tales, son útiles para tratar enfermedades o trastornos en los cuales las proteínas tirosina quinasas, particularmente FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt- 3, JAK2 y c-Met quinasas, contribuyen a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

10 La quinasa de adhesión focal (FAK), un no-receptor de la proteína-tirosina quinasa, se localiza en los sitios de contacto de la matriz extracelular del sustrato celular (ECM) que funcionan como parte de una red asociada con el citoesqueleto de proteínas de señalización (Schlaepfer, et al., Prog. Diophys., Mol., 1999, 71, 435-478. In adherent cells, FAK is often associated with integrins at focal adhesions (Schlaepfer, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1992, 89, 5192- 5196). La fosforilación de FAK resulta en la activación de la ruta de la proteína quinasa activada por mitógeno. La sobreexpresión de FAK se involucra en la progresión del cáncer. Altos niveles de FAK se correlacionan con la invasividad y el potencial metastásico en tumores de colon (Weiner, T.M., et al., Lancet, 1993, 342, 1024-1025), de tumores de mama (Owens, L.V., et al., Cancer Res., 1995, 55, 2752-2755) y cánceres orales (Kornberg, L. J., Head Neck, 1998, 20, 634-639). El papel de FAK en la migración celular ha dado lugar a la especulación de que puede ser importante en otras enfermedades tales como disfunciones de desarrollo embrionario y trastornos angiogénicos (Kornberg, L. J., Head Neck, 1998,20,634-639).

20 Abelson tirosina quinasa (i.e. Abl, c-Abl) se involucra en la regulación del ciclo celular, en la respuesta celular al estrés genotóxico, y en la trasmisión de información sobre el entorno celular a través de la señalización de la integrina. En general, parece que la proteína Abl cumple una función compleja como un módulo celular que integra las señales de diversas fuentes extracelulares e intracelulares y que influye las decisiones en relación con el ciclo celular y la apoptosis. Abelson tirosina quinasa incluye los sub-tipos derivados tales como la fusión quimérica (oncoproteína) BCR-Abl con actividad de la tirosina quinasa desregulada o la v-Abl. BCR-Abl es crítica en la patogénesis de 95% de leucemia mielógena crónica (LMC) y 10% de leucemia linfocítico aguda. STI-571 (Gleevec) es un inhibidor de la tirosina quinasa BCR-Abl oncogénica y se utiliza para el tratamiento de leucemia mieloide crónica (LMC). Sin embargo, algunos pacientes en la etapa de crisis blástica de LMC son resistentes a STI-571 debido a mutaciones en la quinasa BCR-Abl. Hasta la fecha más de 22 mutaciones se han reportado siendo las más comunes G250E, E255V, T315I, F317L y M351T.

35 Los compuestos de la presente invención inhiben quinasa abl, especialmente quinasa v-abl. Los compuestos de la presente invención también inhiben la quinasa BCR-Abl de tipo salvaje y las mutaciones de quinasa BCR-Abl y por lo tanto son apropiados para el tratamiento de enfermedades tumorales y cáncer positivo a Bcr-abl, tales como leucemias (especialmente leucemia mieloide crónica y leucemia linfoblástica aguda, dónde especialmente se encuentran mecanismos apópticos de acción), y también muestra efectos en el subgrupo de células madre leucémicas así como potencial para la purificación de estas células *in vitro* después de la eliminación de dichas células (por ejemplo, extracción de la médula ósea) y reimplantación de las células una vez que se han limpiado de células cancerosas (por ejemplo, reimplantación de células de médula ósea purificadas).

40 El PDGF (Factor de Crecimiento derivado de las plaquetas) es un factor de crecimiento que ocurre muy frecuentemente, el cual juega un papel importante tanto en el crecimiento normal y también en la proliferación celular patológica, tal como se ve en la carcinogénesis y en las enfermedades de las células del músculo liso de los vasos sanguíneos, por ejemplo en la aterosclerosis y trombosis. Los compuestos de la invención pueden inhibir la actividad del receptor de PDGF (PDGFR) y por lo tanto, son apropiados para el tratamiento de enfermedades tumorales, tales como gliomas, sarcomas, tumores de próstata, y tumores del colon, de mama, y de ovario.

45 Los compuestos de la presente invención, se pueden utilizar no solo como una sustancia inhibidora del tumor, por ejemplo en cáncer de pulmón de célula pequeña, pero también como un agente para tratar trastornos proliferativos no-malignos, tales como aterosclerosis, trombosis, psoriasis, escleroderma y fibrosis, así como para la protección de las células madre, por ejemplo para combatir el efecto hemotóxico de agentes quimioterapéuticos, tales como 5-fluoruracil, y en asma. Los compuestos de la invención especialmente se pueden utilizar para el tratamiento de enfermedades, que responden a una inhibición de la quinasa del receptor de PDGF.

55 Los compuestos de la presente invención muestran efectos útiles en el tratamiento de trastornos que surgen como resultado del trasplante, por ejemplo, trasplante alogénico, especialmente rechazo del tejido, tales como especialmente bronquiolitis obliterante (OB), i.e. un rechazo crónico de trasplantes pulmonar alogénico. En contraste con los pacientes sin OB, aquellos con OB por lo general muestran una concentración de PDGF elevada en fluidos de lavado broncoalveolar.

Los compuestos de la presente invención también son efectivos en enfermedades asociadas con la migración y la proliferación de células del músculo liso vascular (dónde PDGF y PDGF-R por lo general también juegan un papel), tales como restenosis y aterosclerosis. Estos efectos y las consecuencias de estos para la proliferación o migración de células del músculo liso vascular *in vitro* e *in vivo* se pueden demostrar, mediante la administración de los compuestos de la presente invención, y también mediante la investigación de su efecto en el engrosamiento de la íntima vascular después de una lesión mecánica *in vivo*.

Los compuestos de la presente invención también inhiben los procesos celulares que involucran el factor de células madre (SCF, también conocido como el ligando c-kit o factor steel), tales como inhibición del receptor de SCF (kit) autofosforilación y activación estimulada de SCF de MAPK quinasa (proteína quinasa activada por mitógeno). Las células MO7e son una línea celular de leucemia promegacariocítica humana, que depende de SCF para la proliferación. Los compuestos de la invención pueden inhibir la autofosforilación del receptor de SCFs.

La ruta de señalización Ras-Raf-MEK-ERK media la respuesta celular a señales de crecimiento. Ras muta a una forma oncogénica en ~15% de cáncer humano. La familia Raf pertenece a la serina/treonina proteína quinasa y esta incluye tres miembros, A-Raf, B-Raf y c-Raf (o Raf-1). El enfoque en Raf que es un objetivo del fármaco se ha centrado en la relación de Raf como un efector desde su origen de Ras. Sin embargo, los datos recientes sugieren que B-Raf puede tener un papel prominente en la formación de ciertos tumores sin necesidad de un alelo Ras activado (Nature 417, 949 - 954 (01 Jul 2002). En particular, se han detectado mutaciones B-Raf en un gran porcentaje de melanomas malignos.

Los tratamientos médicos existentes para el melanoma se limitan en su efectividad, especialmente para melanomas de etapa tardía. Los compuestos de la presente invención también inhiben los procesos celulares que involucran b-Raf quinasa, proporcionando una nueva oportunidad terapéutica para el tratamiento de cánceres humanos, especialmente para melanoma.

Los compuestos de la presente invención también muestran inhibición poderosa de la actividad de la tirosina quinasa de quinasa de linfoma anaplásico (ALK) y la proteína de fusión de NPM-ALK. Esta proteína tirosina quinasa resulta de una fusión de genes de nucleofosmina (NPM) y la quinasa de linfoma anaplásico (ALK), haciendo que la actividad de la proteína de la tirosina quinasa de ALK ligando-independiente. NPM-ALK juega un papel clave en la transmisión de la señal en un número de células hematopoyéticas y otras células humanas que conducen a enfermedades hematológicas y neoplásicas, por ejemplo en linfoma anaplásico de células grandes (ALCL) y linfomas de no-Hodgkin (NHL), específicamente en ALK+ NHL o Alkomas, en tumores miofibroblásticos inflamatorios (IMT) y neuroblastomas (Duyster, J. et al., 2001, Oncogene 20, 5623-5637). Además de NPM-ALK, otras fusiones de genes se han identificado en enfermedades hematológicas y neoplásicas humanas; principalmente TPM3-ALK (una fusión de tropomiosina no muscular con ALK). La inhibición de actividad de la tirosina quinasa ALK se puede demostrar utilizando métodos conocidos, por ejemplo utilizando el dominio quinasa recombinante de la ALK en analogía al ensayo VEGF-R quinasa descrito en J. Wood et al. Cancer Res. 60, 2178-2189 (2000).

Flt3 es un miembro del familia del receptor de tirosina quinasa (RTK) del tipo III. Flt3 (tirosina quinasa similar a fms) también se conoce como FLk-2 (quinasa 2 de hígado fetal). La expresión aberrante del gen Flt3 se ha documentado tanto en leucemias de adultos como de niños incluyendo leucemia mieloide aguda (LMA), la LMA con mielodisplasia trilineaje (LMA/SMDT), leucemia linfoblástica aguda (LLA), y síndrome mielodisplásico (SMD). La activación de mutaciones del receptor de Flt3 se ha encontrado en aproximadamente 35% de pacientes con leucemia mieloblástica aguda (LMA), y se asocian con un pronóstico pobre. La mutación más común involucra la duplicación en marco dentro del dominio juxtamembrana, con un 5-10% adicional de pacientes que tienen una mutación puntual en asparagina 835. Ambas de estas mutaciones se asocian con la activación constitutiva de la actividad de la tirosina quinasa de Flt3, y dan lugar a las señales de viabilidad y proliferación en la ausencia de ligando. Se ha demostrado que los pacientes que expresan la forma mutante del receptor tienen una menor probabilidad de curación. Por lo tanto, existe evidencia acumulada de un papel de actividad de la quinasa Flt3 (mutada) hiperactivada en leucemias humanas y el síndrome mielodisplásico. Esto ha llevado al solicitante a la búsqueda de nuevos inhibidores del receptor de Flt3 como un posible enfoque terapéutico en estos pacientes, para quienes las actuales terapias farmacológicas ofrecen poca utilidad, y para aquellos pacientes que han fracasado previamente con las actuales terapias farmacológicas disponibles y/o las terapias de trasplante de célula madre.

Por lo general, las leucemias resultan de una lesión genética adquirida (no hereditaria) en el ADN de las células hematopoyéticas inmaduras en la médula ósea, los ganglios linfáticos, bazo, u otros órganos de la sangre y el sistema inmune. Los efectos son: el crecimiento acelerado y bloqueo en la maduración de células, resultando en la acumulación de células llamadas "blastos leucémicos", que no funcionan como células sanguíneas normales; y una incapacidad para producir células de la médula normales, conduciendo a una deficiencia de glóbulos rojos (anemia), plaquetas y glóbulos blancos normales. Las células blásticas normalmente se producen por la médula ósea y usualmente se convierten en células sanguíneas maduras, que comprenden aproximadamente 1 por ciento de todas las células madre. En la leucemia, los blastos no maduran apropiadamente y se acumulan en la médula ósea. En la leucemia mieloide aguda (LMA), estos se llaman mieloblastos mientras que en la leucemia linfoblástica aguda (LLA) estos se conocen como linfoblastos. Otra leucemia es la leucemia de linaje mixto (LLM).

El término "LMA con mielodisplasia trilineaje (LMA/SMDT)" se refiere a una forma poco común de leucemia caracterizada por un cuadro dishematopoyético que acompaña la leucemia aguda, una respuesta pobre a la quimioterapia de inducción, y una tendencia a la recaída con síndrome mielodisplásico puro.

5 El término "Síndrome Mielodisplásico (SMD)" se refiere a un grupo de trastornos de sangre, en el cual la médula ósea deja de funcionar normalmente, resultando en una deficiencia en el número de células sanguíneas sanas. En comparación con la leucemia, en la cual un tipo de célula sanguínea se produce en grandes números, cualquiera y algunas veces todos los tipos de células sanguíneas se afectan en SMD. Al menos 10,000 nuevos casos ocurren anualmente en los Estados Unidos. Hasta un tercio de los pacientes diagnosticados con SMD va a desarrollar la leucemia mieloide aguda. Por esta razón la enfermedad algunas veces se refiere como preleucemia. El síndrome mielodisplásico algunas veces también se llama mielodisplasia dismielopoyesis o leucemia oligoblástica. SMD también se conoce como leucemia latente cuando un elevado número de células blásticas permanece en la médula ósea.

15 El síndrome mielodisplásico, como la leucemia, resulta de una lesión genética al ADN de una célula única en la médula ósea. Ciertas anomalías en los cromosomas están presentes en pacientes con SMD. Estas anomalías se llaman translocaciones, que ocurren cuando una parte de un cromosoma se rompe y se convierte unido a una parte rota de un cromosoma diferente. Los mismos defectos se encuentran frecuentemente en leucemia mieloide aguda. Sin embargo, SMD difiere de la leucemia porque todas las células sanguíneas del paciente son anormales y todos son derivados de la misma célula madre dañada. En pacientes con leucemia, la médula ósea contiene una mezcla de células sanguíneas sanas y enfermas.

20 La LMA y los síndromes mielodisplásicos avanzados actualmente se tratan con altas dosis de fármacos de quimioterapia citotóxica tal como arabinosida de citosina y daunorubicina. Este tipo de tratamiento induce aproximadamente el 70% de pacientes para entrar en una remisión hematológica. Sin embargo, más de la mitad de los pacientes que entran en remisión después recaerán a pesar de la administración de quimioterapia durante largos periodos de tiempo. Casi todos los pacientes ya sea que entren en remisión inicialmente, o que vuelven a caer luego después de obtener la remisión, en última instancia mueren a causa de leucemia. El trasplante de médula ósea puede curar hasta el 50-60% de pacientes que se someten al procedimiento, pero solo aproximadamente un tercio de todos los pacientes con LMA o SMD son elegibles para recibir un trasplante. Fármacos nuevos y efectivos se necesitan urgentemente para tratar los pacientes que no logran entrar en remisión con terapias estándar, los pacientes que recaen después, y los pacientes que no son elegibles para el trasplante de célula madre. Además, un fármaco nuevo efectivo podría ser adicionado a la terapia estándar con la expectativa razonable que dará lugar a una quimioterapia de la inducción mejorada para todos los pacientes.

35 De conformidad con lo anterior, la presente invención además describe un método para prevenir o tratar cualquiera de las enfermedades o los trastornos descritos anteriormente en un sujeto con necesidad de dicho tratamiento, método que comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad efectiva terapéuticamente (*Véase, "Administration and Pharmaceutical Compositions", infra*) de un compuesto de Fórmula I o una sal de este farmacéuticamente aceptable. Para cualquiera de los usos anteriores, la dosificación necesaria variará dependiendo del modo de administración, la condición particular que se trata y el efecto deseado.

Administración y Composiciones Farmacéuticas

40 En general, los compuestos de la invención serán administrados en cantidades terapéuticamente efectivas a través de cualquiera de los modos usuales y aceptables conocidos en la técnica, ya sea solos o en combinación con uno o más agentes terapéuticos. Una cantidad efectiva terapéuticamente puede variar ampliamente dependiendo de la severidad de la enfermedad, la edad y la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto utilizado y otros factores. En general, se indica que resultados satisfactorios se obtienen sistémicamente a dosificaciones diarias de aproximadamente 0.03 a 2.5mg/kg por peso corporal. Una dosificación diaria indicada en los mamíferos más grandes, por ejemplo humanos, está en el rango de aproximadamente 0.5mg a aproximadamente 100mg, se administra convenientemente, por ejemplo en dosis divididas hasta cuatro veces al día o en forma retardada. Las formas de dosificación unitaria apropiadas para administración oral comprenden de aprox. 1 a 50mg de ingrediente activo.

50 Los compuestos de la invención se pueden administrar como composiciones farmacéuticas mediante cualquier ruta convencional, en particular por vía enteral, por ejemplo, por vía oral, por ejemplo, en la forma de comprimidos o cápsulas, o por vía parenteral, por ejemplo, en la forma de suspensiones o soluciones inyectables, por vía tópica, por ejemplo, en la forma de lociones, geles, ungüentos o cremas, o en una forma nasal o de supositorio. Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención en forma libre o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable en asociación con al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable se puede fabricar de una manera convencional mediante métodos de mezcla, granulación o recubrimiento. Por ejemplo, las composiciones orales pueden ser comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el ingrediente activo junto con a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina; b) lubricantes, por ejemplo, sílica, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o de calcio y/o

polietilenglicol; para comprimidos también c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona; si se desea d) desintegrantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico o su sal sódica, o mezclas efervescentes; y/o e) absorbentes, colorantes, sabores y edulcorantes. Las composiciones inyectables pueden ser suspensiones o soluciones isotónicas acuosas, y los supositorios se pueden preparar a partir de suspensiones o emulsiones grasas. Las composiciones se pueden esterilizar y/o contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsificantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o soluciones reguladoras. Además, también pueden contener otras sustancias valiosas terapéuticamente. Las formulaciones apropiadas para aplicaciones transdérmicas incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención con un portador. Un portador puede incluir solventes farmacológicamente aceptables absorbibles para ayudar al paso a través de la piel del huésped. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en la forma de un vendaje que comprende un miembro de soporte, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una barrera que controla la velocidad para suministrar el compuesto a la piel del huésped a una velocidad controlada y predeterminada durante un periodo prolongado de tiempo, y los medios para asegurar el dispositivo a la piel. También se pueden utilizar formulaciones transdérmicas de la matriz. Las formulaciones apropiadas para aplicación tópica, por ejemplo, a la piel y los ojos, preferiblemente son soluciones acuosas, ungüentos, cremas o geles bien-conocidos en la técnica. Tales pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes potenciadores de la tonicidad, soluciones reguladoras y conservantes.

Los compuestos de la invención se pueden administrar en cantidades terapéuticamente efectivas en combinación con uno o más agentes terapéuticos (combinaciones farmacéuticas). Por ejemplo, efectos sinérgicos pueden ocurrir con otras sustancias inmunomoduladoras, anti-inflamatorias o cualquier sustancia utilizada en el tratamiento de las enfermedades mencionadas anteriormente, por ejemplo cuando se utiliza en combinación con ciclosporina, rapamicina, o ascomicina, o análogos inmunosupresores de estos, por ejemplo ciclosporina A (CsA), ciclosporina G, FK-506, rapamicina, o compuestos comparables, corticosteroides, ciclofosfamida, azatioprina, metotrexato, brequinar, leflunomida, mizoribina, ácido micofenólico, micofenolato de mofetilo, 15-deoxispergualina, anticuerpos inmunosupresores, especialmente anticuerpos monoclonales para receptores de leucocito, por ejemplo MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD25, CD28, B7, CD45, CD58 o sus ligandos, u otros compuestos inmunomoduladores, tales como CTLA41g. Cuando los compuestos de la invención se administran en conjunto con otras terapias, las dosificaciones de los compuestos co-administrados por supuesto variarán dependiendo del tipo de co-fármaco empleado, del fármaco específico empleado, de la condición a ser tratada y así sucesivamente.

La invención también provee una combinación farmacéutica, por ejemplo un kit, que comprende a) un primer agente que es un compuesto de la invención como se revela en este documento, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, y b) al menos un co-agente. El kit puede contener las instrucciones para su administración.

Se entiende que los términos "co-administración" o "administración combinada" o similares como se utilizan en este documento abarcan la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un solo paciente, y tienen la intención de incluir regímenes de tratamiento en los cuales los agentes no se administran necesariamente por la misma ruta de administración o en el mismo tiempo.

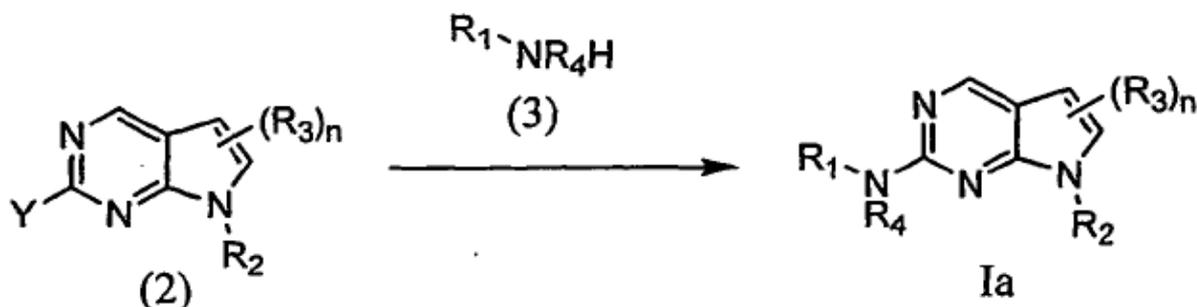
El término "combinación farmacéutica" como se utiliza en este documento significa un producto que resulta de la mezcla o combinación de más de un ingrediente activo e incluye combinaciones tanto fijas como no-fijas de los ingredientes activos. El término "combinación fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo un compuesto de Fórmula I y un co-agente, se administran ambos a un paciente simultáneamente en la forma de una dosificación o entidad única. El término "combinación no-fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo un compuesto de Fórmula I y un co-agente, se administran ambos a un paciente como entidades separadas ya sea simultáneamente, al mismo tiempo o secuencialmente con límites de tiempo no específicos, en donde dicha administración provee niveles terapéuticamente efectivos de los 2 compuestos en el cuerpo del paciente. Lo último también aplica a la terapia de cóctel, por ejemplo la administración de 3 o más ingredientes activos.

Procesos para Fabricar los compuestos de la Invención

La presente invención también incluye los procesos para la preparación de compuestos de la invención. En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger grupos funcionales reactivos, por ejemplo grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxi, cuando estos se desean en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Se pueden utilizar grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica estándar, por ejemplo, ver T.W. Greene and P. G. M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

Los compuestos de Fórmula I, en la cual W es $-NR_4-$, se pueden preparar procediendo como en el siguiente Esquema de Reacción I:

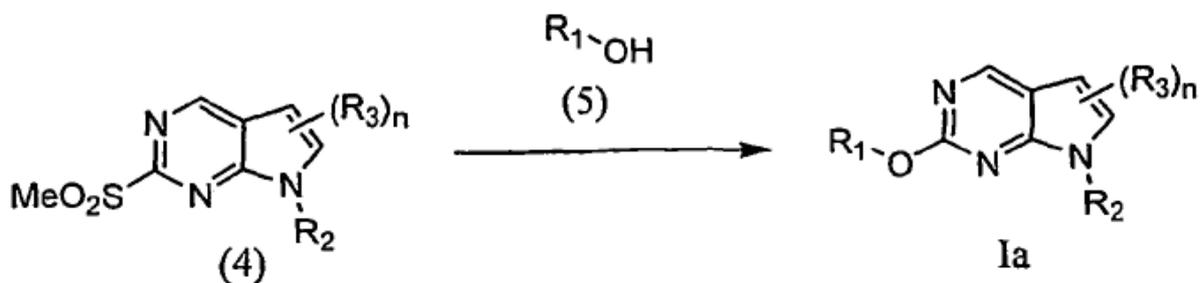
Esquema de Reacción I



- 5 en el cual R₁, R₂, R₃, R₄ y n son como se definen para la Fórmula I, en el Resumen de la Invención y Y es un grupo saliente tal como halógeno (por ejemplo cloro, y similares). Un compuesto de Fórmula Ia se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de fórmula 2 con un compuesto de fórmula 3, en la presencia de una base apropiada (por ejemplo, butóxido terciario de potasio y diisopropil etil amina, y similares), un solvente apropiado (por ejemplo, 1,4-dioxano y butanol, y similares). La reacción se lleva a cabo de 50 a 130°C y para completarse puede tomar hasta 4 horas. De forma similar, utilizando materiales iniciales apropiados, la reacción con un compuesto de
- 10 fórmula 3 da lugar a los compuestos de Fórmula Ib, Ic, Id y Ie.

Los compuestos de Fórmula I, en la cual W es -O-, se pueden preparar procediendo como en el siguiente Esquema de Reacción II:

Esquema de Reacción II



- 15 en el cual R₁, R₂, R₃, R₄ y n son como se definen para la Fórmula I, en el Resumen de la Invención. Un compuesto de Fórmula Ia se puede preparar mediante la reacción de un compuesto de la fórmula 4 con un compuesto de la fórmula 5, en la presencia de un solvente apropiado (por ejemplo, DMSO, y similares) y una base apropiada (por ejemplo, butóxido terciario de potasio, y similares). La reacción se lleva a cabo de 50 a 130 °C y para completarse puede tomar hasta 4 horas.

- 20 Las descripciones detalladas de la síntesis de un compuesto de Fórmula I, se pueden encontrar en los Ejemplos, *infra*.

Procesos Adicionales para Fabricar los compuestos de la Invención

- 25 Un compuesto de la invención se puede preparar como una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable mediante la reacción de la forma de base libre del compuesto con un ácido orgánico o inorgánico farmacéuticamente aceptable. De forma alternativa, una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención se puede preparar mediante la reacción la forma de ácido libre del compuesto con una base orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable. De forma alternativa, las formas de sal de los compuestos de la invención se pueden preparar utilizando sales de los materiales iniciales o intermedios.

5 Las formas de ácido libre o base libre de los compuestos de la invención se pueden preparar a partir de la correspondiente forma de sal de adición de ácido o sal de adición de base, respectivamente. Por ejemplo un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de ácido se puede convertir en la correspondiente base libre mediante el tratamiento con una base apropiada (por ejemplo, solución de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio, y similares). Un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de base se puede convertir en el correspondiente ácido libre mediante el tratamiento con un ácido apropiado (por ejemplo, ácido clorhídrico, etc.)

10 Los compuestos de la invención en forma no-oxidada se pueden preparar a partir de N-óxidos de compuestos de la invención mediante el tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenil fosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro, o similares) en un solvente orgánico inerte apropiado (por ejemplo acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso, o similares) de 0 a 80°C.

15 Los profármacos derivados de los compuestos de la invención se pueden preparar mediante métodos conocidos por aquellos expertos en la técnica (por ejemplo, para otros detalles ver Saulnier et al., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, p.1985). Por ejemplo, se puede preparar profármacos apropiados mediante la reacción de un compuesto no-derivatizado de la invención con un apropiado agente de carbamilación (por ejemplo, 1,1-aciloxialquilcarbonocloridato, paranitrofenil carbonato, o similares).

Los derivados protegidos de los compuestos de la invención se pueden realizar por métodos conocidos por aquellos expertos en la técnica. Una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación se pueden encontrar en T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3rd edition, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

20 Los compuestos de la presente invención se pueden preparar convenientemente, o formar durante el proceso de la invención, como solvatos (por ejemplo, hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención se pueden preparar convenientemente por recristalización a partir de una mezcla de solvente orgánico/acuoso, utilizando solventes orgánicos tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.

25 Los compuestos de la invención se puede preparar como sus estereoisómeros individuales mediante la reacción de una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución activo ópticamente para formar un par de compuestos diastereoisoméricos, separando los diastereómeros y recuperando los enantiómeros puros ópticamente. Mientras que la resolución de enantiómeros se puede llevar a cabo utilizando derivados diastereoméricos covalentes de los compuestos de la invención, se prefieren los complejos disociables (por ejemplo, sales diastereoméricas cristalinas). Los diastereómeros tienen distintas propiedades físicas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y se pueden separar fácilmente mediante el aprovechamiento de estas diferencias. Los diastereoisómeros se pueden separar por cromatografía, o preferiblemente, por técnicas de separación/resolución basadas en las diferencias de la solubilidad. A continuación, el enantiómero ópticamente puro se recupera, junto con el agente de resolución, por cualquier medio práctico que no diera lugar a la racemización. Una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de estereoisómeros de compuestos a partir de la mezcla racémica se puede encontrar en Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.

35

En resumen, los compuestos de Fórmula I, se pueden preparar mediante un proceso, que involucra:

- (a) el de los esquemas de reacción I o II; y
- (b) opcionalmente la conversión de un compuesto de la invención en una sal farmacéuticamente aceptable;
- 40 (c) opcionalmente la conversión de una forma de sal de un compuesto de la invención en una forma de no-sal;
- (d) opcionalmente la conversión de una forma no-oxidada de un compuesto de la invención en un N-óxido farmacéuticamente aceptable;
- (e) opcionalmente la conversión de una forma N-óxido de un compuesto de la invención en su forma no-oxidada;
- 45 (f) opcionalmente la resolución de un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros;
- (g) opcionalmente la conversión de un compuesto no-derivatizado de la invención en un profármaco derivado farmacéuticamente aceptable; y
- (h) opcionalmente la conversión de un profármaco derivado de un compuesto de la invención en su forma no-derivatizada.

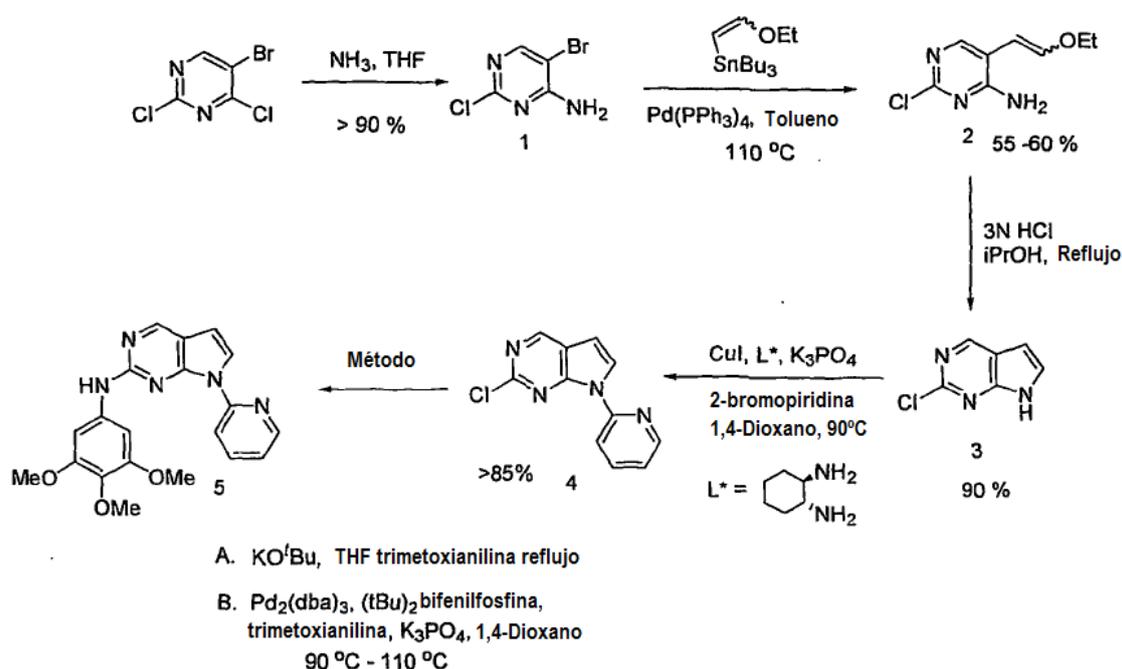
En la medida que la producción de los materiales iniciales no se describe particularmente, los compuestos son conocidos o se pueden preparar de forma análoga a los métodos conocidos en la técnica o como se revela en los Ejemplos a continuación.

- 5 Un experto en la técnica apreciará que las transformaciones anteriores son solo representativas de los métodos para la preparación de los compuestos de la presente invención, y que los otros métodos bien conocidos se pueden utilizar de forma similar.

Ejemplos

- 10 La presente invención además se ejemplifica, pero no se limita, por los siguientes ejemplos que ilustran la preparación de los compuestos de Fórmula I (Ejemplos) e intermedios (Referencias) de acuerdo con la invención. Los compuestos 61, 62, 63, 66, 67, 68 y 179 se proveen para propósitos de referencia.

Ejemplo 1



- 15 Síntesis de 5-Bromo-2-cloropirimidin-4-ilamina (1): Una solución de 5-bromo-2,4-dicloropirimidina (25g, 110 mmol) en 200 mL de THF se trata con 47 mL de amoníaco (330 mmol, solución 7.0M en metanol). Después de agitar, durante 15 horas, la solución se concentra bajo presión reducida y se purifica mediante filtración corta (SiO₂, Hexanos : Acetato de etilo / 1:1) para producir 21g (92 %) de 1 como un sólido de color blanco.

- 20 Síntesis de 2-Cloro-5-(2-etoxivinil)-pirimidin-4-ilamina (2): Un matraz de fondo redondo de 500 mL se carga con 5-bromo-2-cloropirimidin-4-ilamina (1) (10g, 48 mmol), tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (2.8g, 2.5 mmol), y tolueno (200 mL). Se adiciona tributil-(2-etoxivinil)-estannano (22g, 60 mmol) y la reacción se calienta a 110°C con agitación, durante aproximadamente 15 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la solución se diluye con 100 mL de acetato de etilo y se lava con agua y salmuera. El extracto orgánico se seca, sobre Na₂SO₄, se filtra, y concentra bajo presión reducida. La purificación por cromatografía de columna (SiO₂, Hexano : Acetato de etilo / 5 :1) provee 2 (4.4 g, 46%) como un sólido de color amarillo.

- 25 Síntesis de 2-Cloro-7H-pirrolo-[2,3-d]pirimidina 3: Un matraz de fondo redondo de 500 mL se cargó con 2-Cloro-5-(2-etoxivinil)-pirimidin-4-ilamina 2 (4.4g, 20 mmol). Se adiciona isopropanol (200 mL) seguido por 25 mL de ácido clorhídrico concentrado. La solución se calienta a 90°C y se agita por dos horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la solución se concentra bajo presión reducida luego se basifica a pH 9 con NaHCO₃ acuoso saturado. La capa acuosa se extrae con acetato de etilo, y los extractos orgánicos se combinan y lavan con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera. Los extractos orgánicos se secan sobre Na₂SO₄, se filtran, y concentran bajo presión reducida.
- 30 La purificación, mediante filtración corta (SiO₂, Hexanos:Acetato de etilo / 1:1) provee 3 (3.1g, 92%) como un sólido de color blanco.

Síntesis de 2-Cloro-7-piridin-2-il-7H-pirrolo-[2,3-d]pirimidina 4: Una suspensión de 2-cloro-7H-pirrolo-[2,3-d]pirimidina 3 (0.53g, 3.5 mmol), 2-bromopiridina (0.66 mL, 1.1g, 6.9 mmol), yoduro de cobre(I) (0.20g, 1.0 mmol), *trans*-1,2-diaminociclohexano (0.12 mL, 0.11g, 1.0 mmol), y fosfato de potasio (2.2 g, 10 mmol) en 10 mL de 1,4- dioxano se calienta a 100°C y se agita, durante cuatro horas. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo, y se lava con agua y salmuera. El extracto orgánico se secó sobre MgSO₄, se filtró, y concentró bajo presión reducida. La purificación por cromatografía de columna (SiO₂, Hexano:Acetato de etilo / 5:1) proporcionó 4 (0.69g, 87%), como un sólido de color blanco.

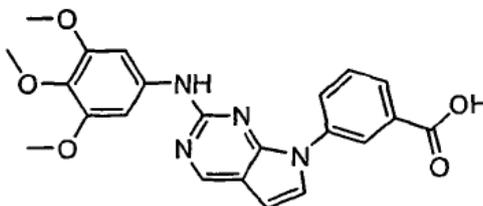
Síntesis de (7-Piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il)-(3,4,5-trimetoxifenil)-amina (5):

Método 1. A una solución de 2-cloro-7-piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina en 1,4-dioxano se le adiciona 3,4,5-trimetoxi anilina (3 equivalentes) seguido por la adición gota a gota de solución de *tert*-butoxido de potasio (1.0 M en tetrahidrofurano, 3 equivalentes). Después de la adición, la mezcla de reacción se calienta a 80°C durante 2 horas. El solvente se elimina después de enfriar a temperatura ambiente. La purificación por HPLC de fase reversa provee (7-piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il)-(3,4,5- trimetoxi-fenilo)-amina como un sólido de color blanco.

Método 2. Un matraz de fondo redondo cargado con 2-cloro-7-piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina, 0.1 equivalentes de tri(dibencilidenoacetona)dipaladio(0), 0.2 equivalentes de bifenil-2-il-di-*tert*-butil-fosfano, 3 equivalentes de fosfato de potasio y 1.5 equivalentes de 3,4,5-trimetoxi anilina se purgó con nitrógeno seguido por la adición de 1,4-dioxano. La suspensión se calentó a 110°C, durante 18 horas. La filtración a través de una almohadilla de Celite eliminó el sólido. El filtrado se diluye con acetato de etilo, y se lava con agua y salmuera. Después de secar sobre sulfato de magnesio, el producto se concentra y se purifica mediante cromatografía (acetato de etilo: hexanos 1:1) para proveer la 7-piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-2-il)-(3,4,5-trimetoxi-fenilo)-amina como un sólido de color blanco.

Ejemplo 2

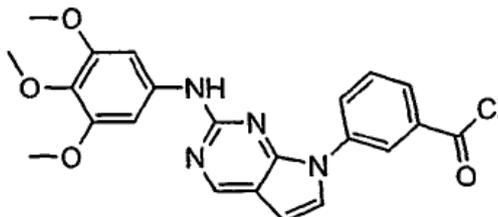
Ácido 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]- benzoico



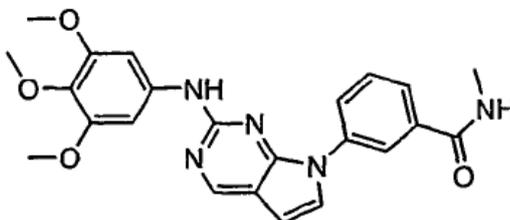
Una solución de metil éster del ácido 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]- benzoico en hidróxido de sodio 1N (metanol: agua 1:1) se agita a temperatura ambiente durante 15 horas. La acidificación con ácido clorhídrico 1N a pH 6 provee un precipitado. La filtración y el lavado con agua provee el ácido 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]- benzoico como un sólido de color blanco.

Ejemplo 3

3-[2-(3,4,5-Trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzoil cloruro



Un matraz de fondo redondo seco cargado con ácido 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]- benzoico se purgó con nitrógeno, diclorometano y se le adicionan unas pocas gotas de N,N'-dimetilformamida. Se adiciona gota a gota una solución de cloruro de oxalil (2.0 M en diclorometano). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 30 minutos, lo que resulta en una solución de 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzoil cloruro.

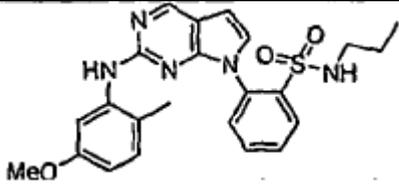
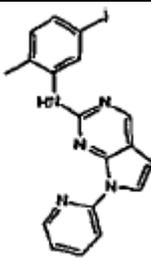
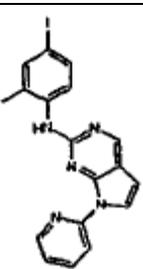
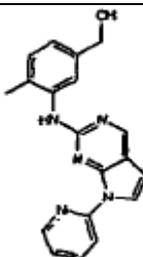
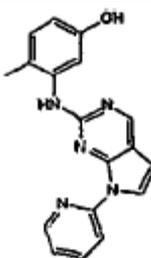
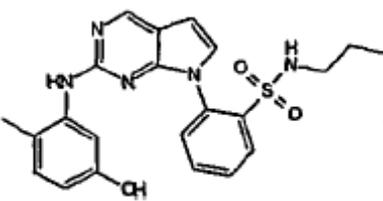
Ejemplo 4*N*-Metil-3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzamida

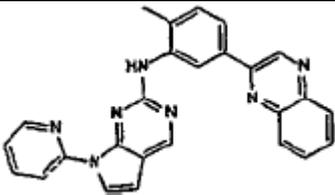
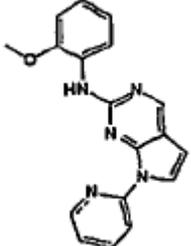
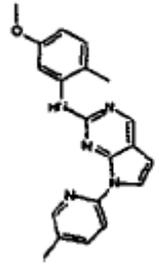
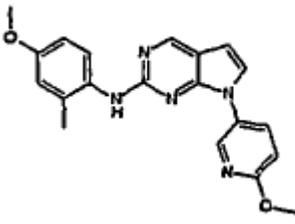
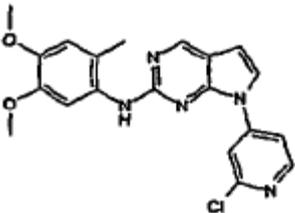
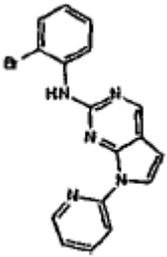
5 A una solución de 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzoil cloruro en diclorometano se le adicionan 5 equivalentes de solución de metilamina (2.0 M en tetrahidrofurano). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la reacción se apaga con agua. La eliminación del solvente seguido por purificación con HPLC de fase reversa provee la *N*-metil-3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzamida, como un sólido de color blanco.

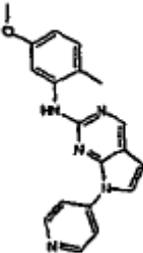
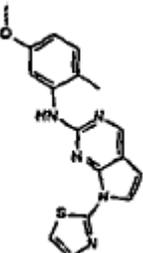
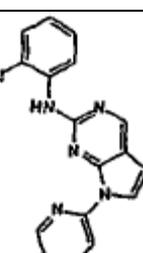
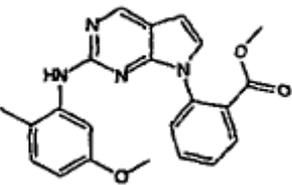
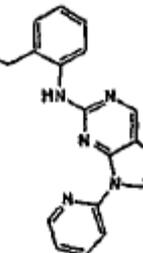
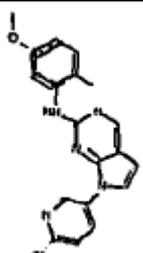
10 Mediante la repetición de los procedimientos descritos en los anteriores ejemplos, utilizando materiales iniciales apropiados, se obtienen los siguientes compuestos de Fórmula I, como se identifica en la Tabla 1.

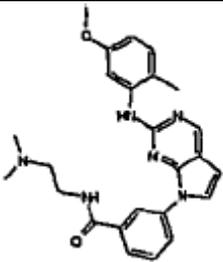
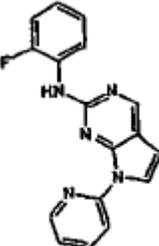
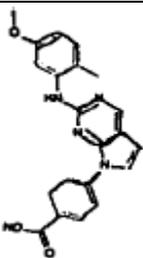
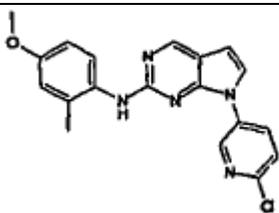
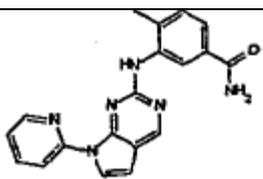
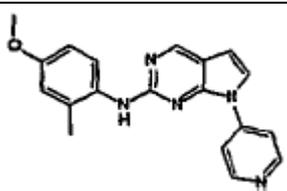
Tabla 1

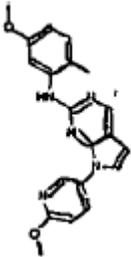
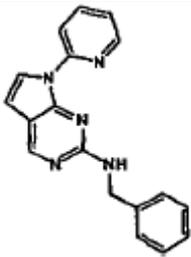
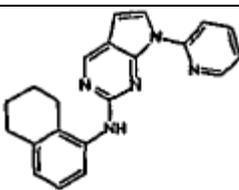
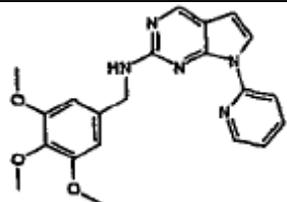
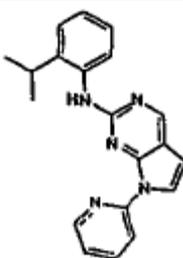
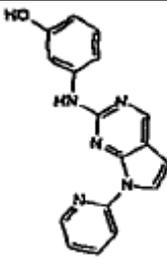
Número de Compuesto	Estructura	Datos Físicos ¹ H NMR y MS (m/z)
1		MS (m/z) 332.3 (M+1)
2		MS (m/z) 332.2 (M+1)
3		MS (m/z) 302.2 (M+1)
4		MS (m/z) 376.3 (M+1)

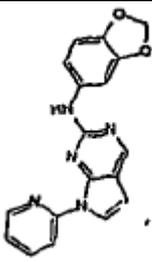
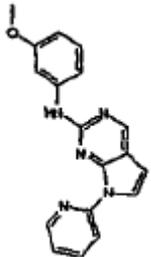
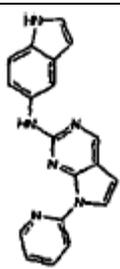
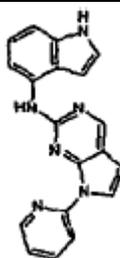
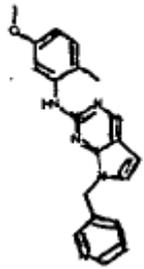
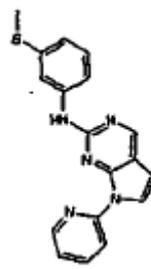
5		MS (<i>m/z</i>) 452.2 (M+1)
6		MS (<i>m/z</i>) 428.1 (M+1)
7		MS (<i>m/z</i>) 428.1 (M+1)
8		MS (<i>m/z</i>) 332.2 (M+1)
9		¹ H NMR 400 MHz (CDCl ₃) δ 8.68 (s, 1H), 8.32 (m, 2H), 8.05 (d, 1H), 7.73 (m, 1H), 7.14 (m, 1H), 6.80 (d, 1H), 6.62 (d, 1H), 6.36 (d, 1H), 6.23 (m, 1H); MS (<i>m/z</i>) 318.2 (M+1).
10		¹ H NMR 400 MHz (CDCl ₃) δ 10.35 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.07 (dd, 1H), 7.70 (m, 2H), 7.37 (dd, 1H), 7.24 (d, 1H), 7.10 (d, 1H), 6.94 (d, 1H), 6.68 (d, 1H), 6.52 (dd, 1H), 5.28 (b, 1H), 3.02 (m, 2H), 2.16 (s, 3H), 1.27 (m, 2H), 0.76 (t, 3H); MS (<i>m/z</i>) 438.2 (M+1).

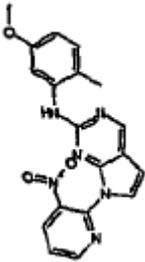
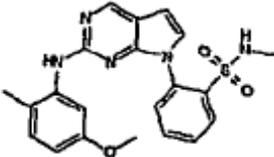
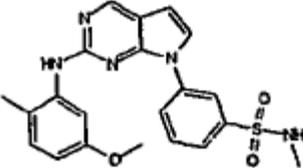
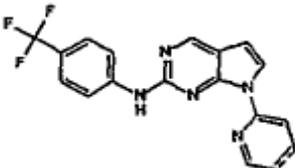
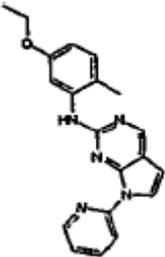
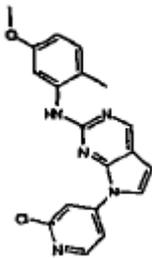
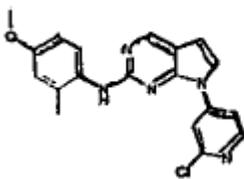
11		MS (<i>m/z</i>) 430.2 (M+1).
12		MS (<i>m/z</i>) 418.2 (M+1).
13		MS (<i>m/z</i>) 436.2 (M+1).
14		MS (<i>m/z</i>) 362.3 (M+1).
15		MS (<i>m/z</i>) 396.2 (M+1).
16		MS (<i>m/z</i>) 366.1 (M+1).

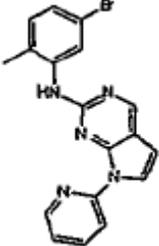
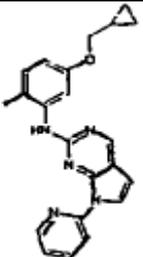
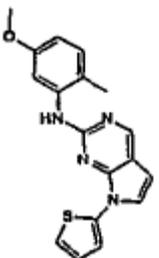
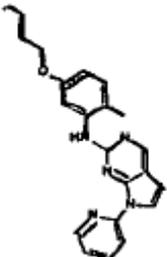
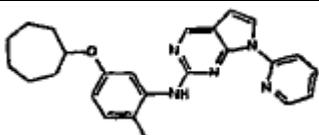
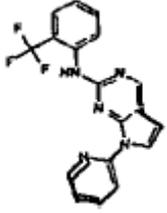
17		MS (<i>m/z</i>) 332.3 (M+1).
18		MS (<i>m/z</i>) 338.3 (M+1).
19		MS (<i>m/z</i>) 306.2 (M+1).
20		MS (<i>m/z</i>) 389.2 (M+1).
21		MS (<i>m/z</i>) 316.2 (M+1).
22		MS (<i>m/z</i>) 366.1 (M+1).

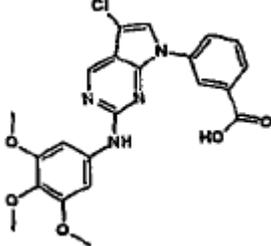
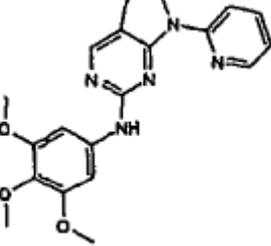
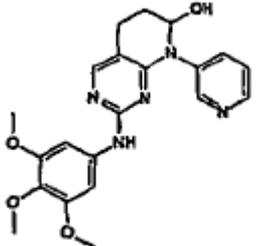
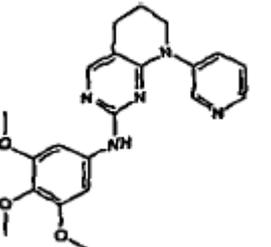
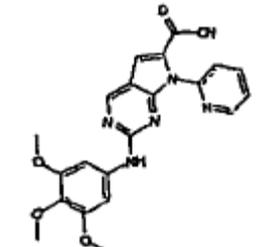
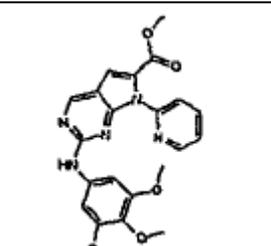
23		MS (<i>m/z</i>) 445.2 (M+1).
24		MS (<i>m/z</i>) 306.1 (M+1).
25		MS (<i>m/z</i>) 375.2 (M+1).
26		MS (<i>m/z</i>) 366.1 (M+1).
27		MS (<i>m/z</i>) 345.2 (M+1).
28		MS (<i>m/z</i>) 332.1 (M+1).

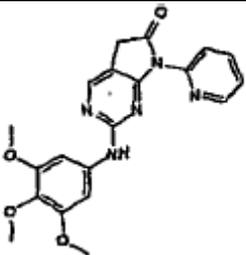
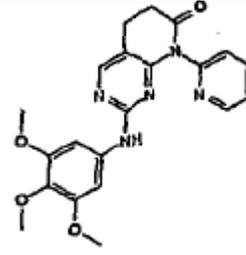
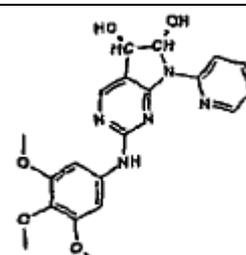
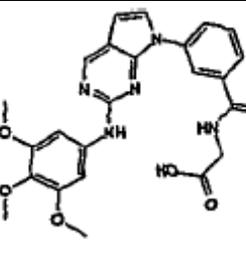
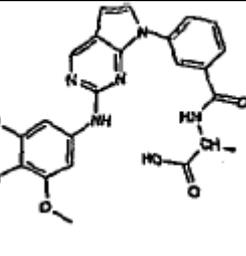
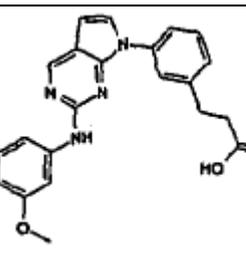
29		MS (<i>m/z</i>) 362.2 (M+1).
30		MS (<i>m/z</i>) 302.1 (M+1).
31		MS (<i>m/z</i>) 342.2 (M+1).
32		MS (<i>m/z</i>) 392.2 (M+1).
33		MS (<i>m/z</i>) 330.2 (M+1).
34		MS (<i>m/z</i>) 304.1 (M+1).

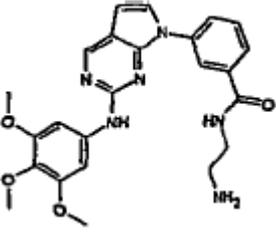
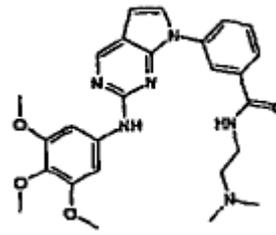
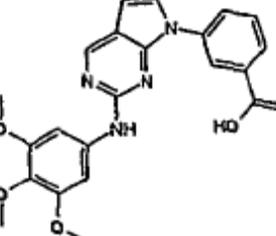
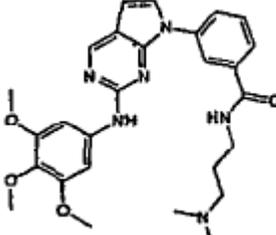
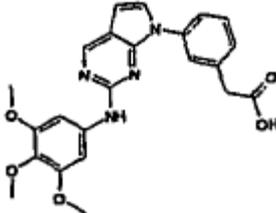
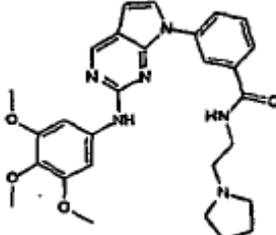
35		MS (<i>m/z</i>) 332.1 (M+1).
36		MS (<i>m/z</i>) 318.1 (M+1).
37		MS (<i>m/z</i>) 327.1 (M+1).
38		MS (<i>m/z</i>) 327.1 (M+1).
39		MS (<i>m/z</i>) 346.2 (M+1).
40		MS (<i>m/z</i>) 334.1 (M+1).

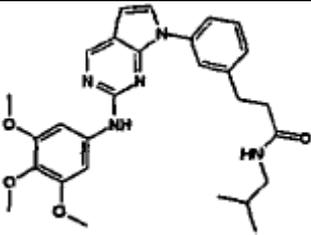
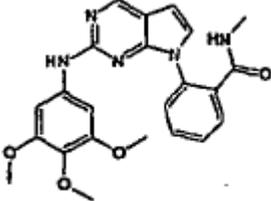
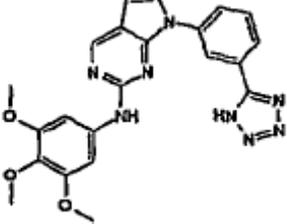
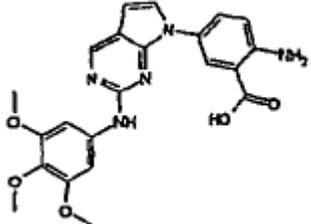
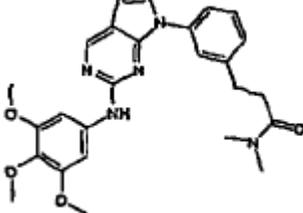
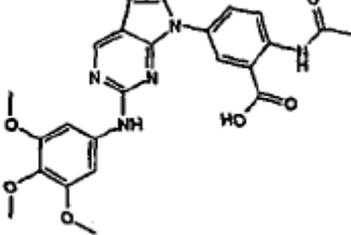
41		MS (<i>m/z</i>) 377.1 (M+1).
42		MS (<i>m/z</i>) 424.2 (M+1).
43		MS (<i>m/z</i>) 424.2 (M+1).
44		MS (<i>m/z</i>) 356.1 (M+1).
45		MS (<i>m/z</i>) 346.2 (M+1).
46		MS (<i>m/z</i>) 366.1 (M+1).
47		MS (<i>m/z</i>) 366.1 (M+1).

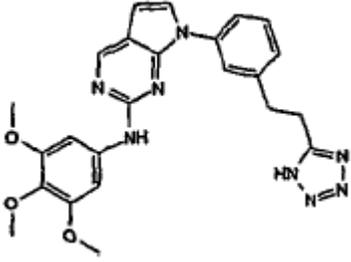
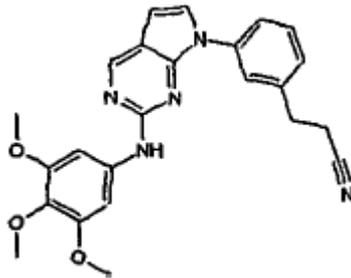
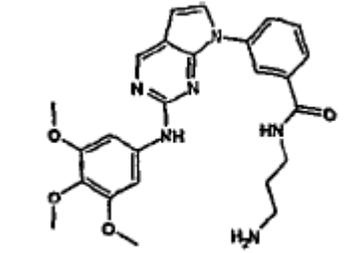
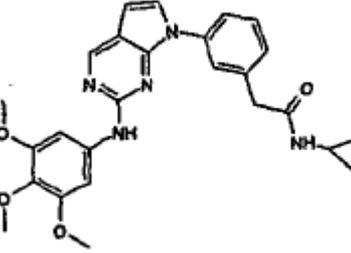
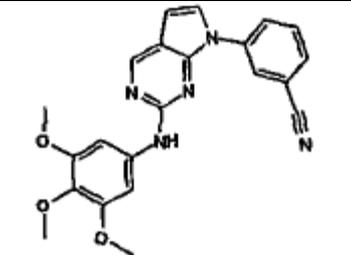
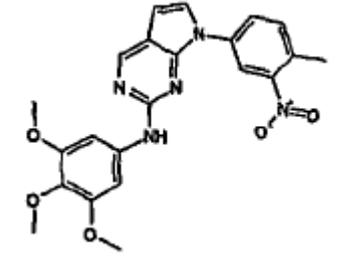
48		MS (<i>m/z</i>) 380.1 (M+1).
49		MS (<i>m/z</i>) 372.2 (M+1).
50		MS (<i>m/z</i>) 337.1 (M+1).
51		MS (<i>m/z</i>) 374.2 (M+1).
52		MS (<i>m/z</i>) 414.2 (M+1).
53		MS (<i>m/z</i>) 356.1 (M+1).

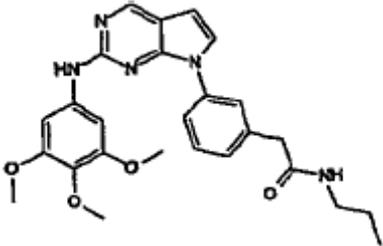
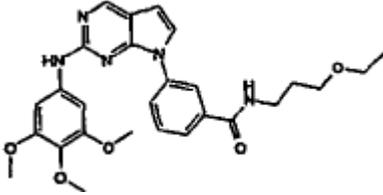
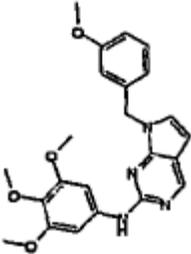
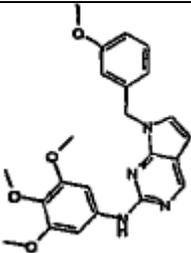
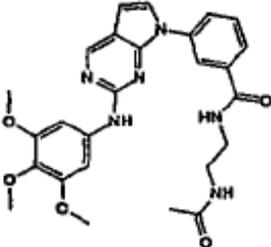
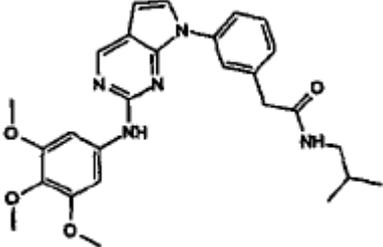
60		MS (<i>m/z</i>) 375.2 (M+1).
61		MS (<i>m/z</i>) 379.9 (M+1).
62		MS (<i>m/z</i>) 410.5 (M+1).
63		MS (<i>m/z</i>) 394.4 (M+1).
64		MS (<i>m/z</i>) 422.1 (M+1).
65		MS (<i>m/z</i>) 436.2 (M+1).

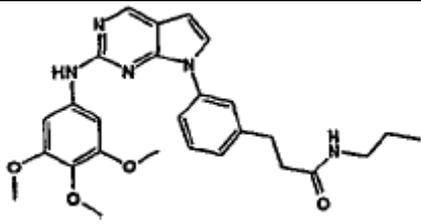
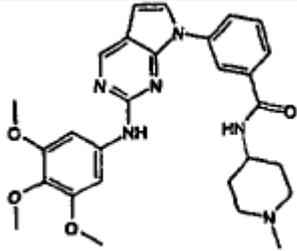
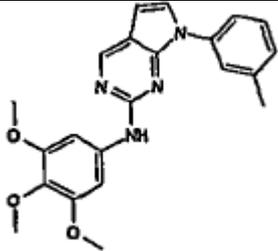
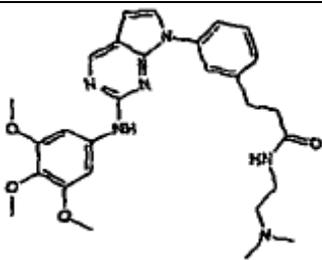
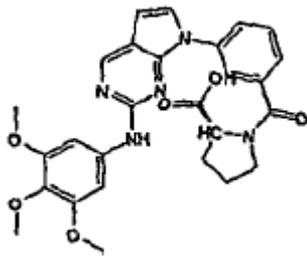
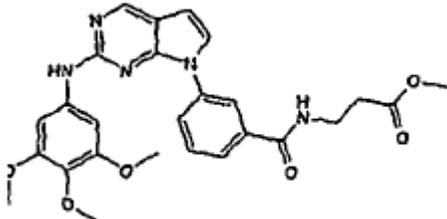
66		MS (<i>m/z</i>) 394.4 (M+1).
67		MS (<i>m/z</i>) 408.4 (M+1).
68		MS (<i>m/z</i>) 412.2 (M+1).
69		MS (<i>m/z</i>) 477.8 (M+1).
70		MS (<i>m/z</i>) 492.2 (M+1).
71		¹ H NMR 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) δ 9.31 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.39 (t, 1H), 7.21 (m, 1H), 7.13 (s, 2H), 6.61 (d, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.53 (d, 9H), 2.85 (m, 2H), 2.54 (m, 2H); MS (<i>m/z</i>) 449.0 (M+1).

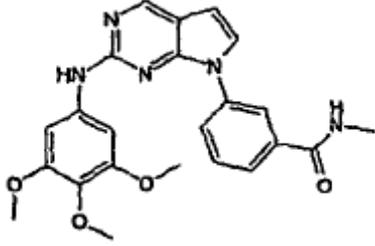
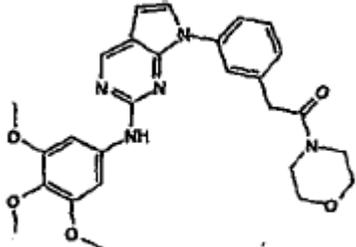
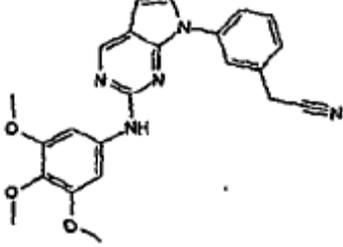
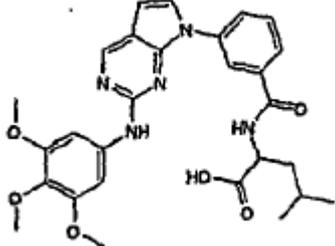
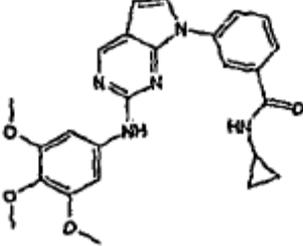
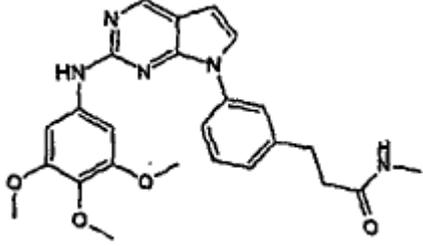
72		MS (<i>m/z</i>) 463.2 (M+1).
73		MS (<i>m/z</i>) 491.2 (M+1).
74		¹ H NMR 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) δ 9.30 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.13 (m, 1H), 8.02 (m, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.59 (t, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.61 (d, 1H), 5.77 (s, 1H), 3.48 (d, 9H); MS (<i>m/z</i>) 421.1 (M+1).
75		MS (<i>m/z</i>) 505.3 (M+1).
76		¹ H NMR 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) δ 9.35 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 7.73 (d, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.53 (d, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.28 (d, 1H), 7.19 (s, 2H), 6.67 (d, 1H), 3.59 (m, 11H); MS (<i>m/z</i>) 435.2 (M+1).
77		MS (<i>m/z</i>) 516.3 (M+1).

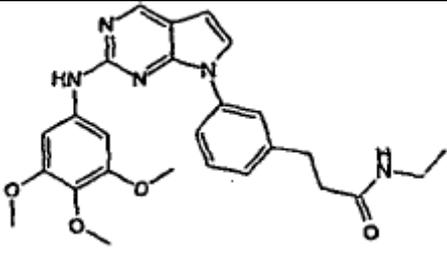
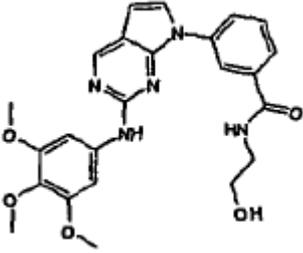
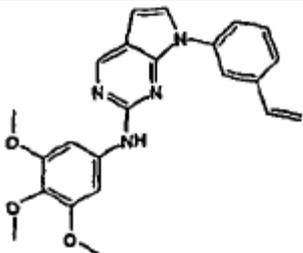
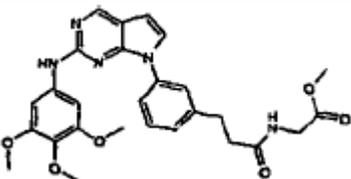
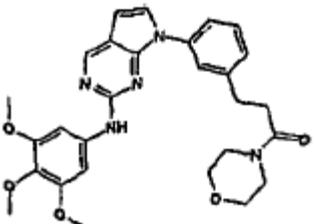
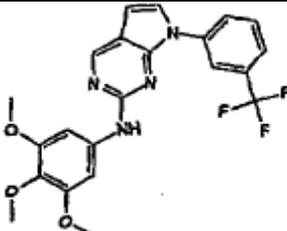
78		MS (<i>m/z</i>) 504.3 (M+1).
79		MS (<i>m/z</i>) 434.2 (M+1).
80		¹ H NMR 400 MHz (MeOH- <i>d</i> ₄) δ 8.76 (s, 1H), 8.57 (t, 1H), 8.10 (m, 1H), 8.02 (m, 1H), 7.77 (m, 2H), 6.97 (s, 2H), 6.86 (d, 1H), 3.69 (d, 9H); MS (<i>m/z</i>) 445.2 (M+1).
81		MS (<i>m/z</i>) 436.2 (M+1).
82		MS (<i>m/z</i>) 476.2 (M+1).
83		¹ H NMR 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆) δ 11.17 (s, 1H), 9.53 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.72 (m, 1H), 8.33 (d, 1H), 8.17 (m, 1H), 7.71 (d, 1H), 7.32 (s, 2H), 6.81 (d, 1H), 3.72 (d, 9H), 2.33 (s, 3H); MS (<i>m/z</i>) 478.2 (M+1).

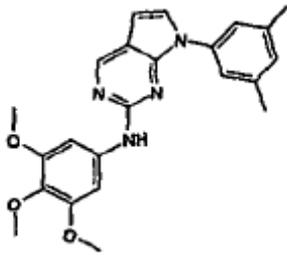
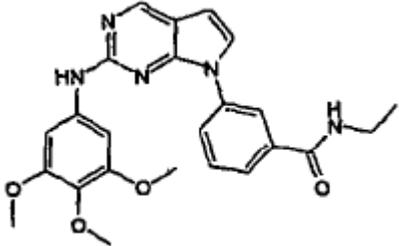
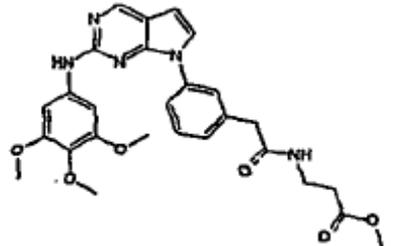
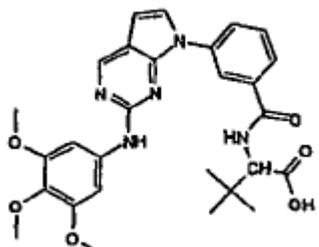
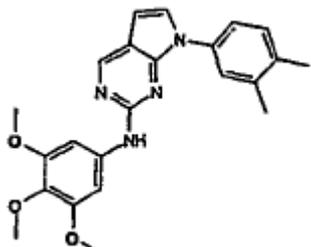
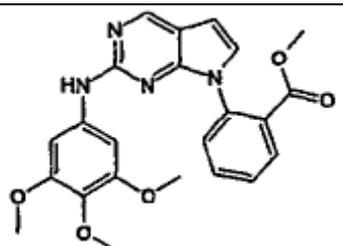
84		$^1\text{H NMR}$ 400 MHz (CDCl_3) δ 11.6 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.69 (m, 1H), 7.46 (m, 2H), 7.33 (m, 1H), 7.25 (m, 1H), 6.73 (m, 3H), 3.98 (s, 3H), 3.66 (d, 6H), 3.09 (m, 2H), 2.92 (m, 2H); MS (m/z) 473.3 (M+1).
85		$^1\text{H NMR}$ 400 MHz (CDCl_3) δ 8.74 (s, 1H), 7.70 (m, 1H), 7.49 (t, 1H), 7.27 (d, 1H), 7.23 (m, 1H), 6.98 (d, 2H), 6.61 (d, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.77 (s, 6H), 3.07 (m, 2H), 2.70 (m, 2H); MS (m/z) 430.2 (M+1).
86		MS (m/z) 477.2 (M+1).
87		MS (m/z) 474.2 (M+1).
88		$^1\text{H NMR}$ 400 MHz (CDCl_3) δ 8.67 (s, 1H), 8.02 (m, 2H), 7.55 (m, 2H), 7.16 (d, 1H), 6.86 (s, 2H), 6.56 (d, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.72 (s, 6H); MS (m/z) 402.1 (M+1).
89		MS (m/z) 436.1 (M+1).

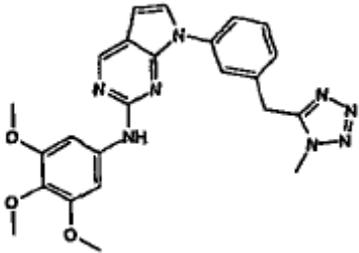
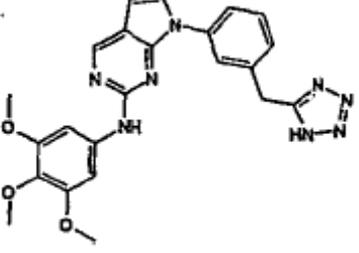
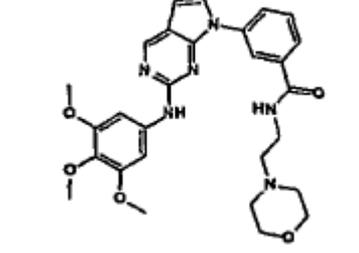
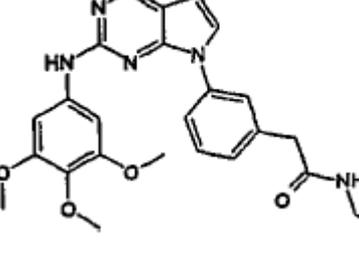
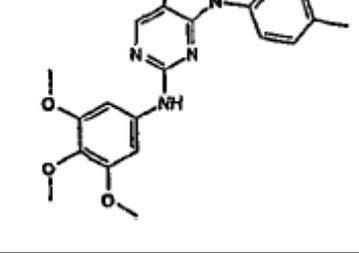
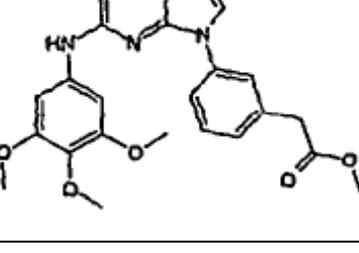
90		MS (<i>m/z</i>) 476.2 (M+1).
91		MS (<i>m/z</i>) 506.3 (M+1).
92		MS (<i>m/z</i>) 421.2 (M+1).
93		MS (<i>m/z</i>) 421.2 (M+1).
94		MS (<i>m/z</i>) 505.3 (M+1).
95		MS (<i>m/z</i>) 490.2 (M+1).

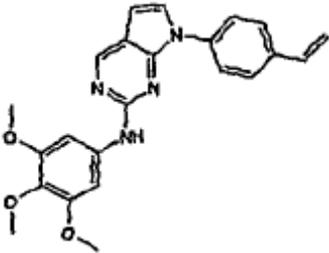
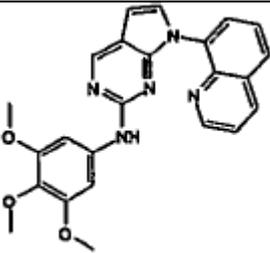
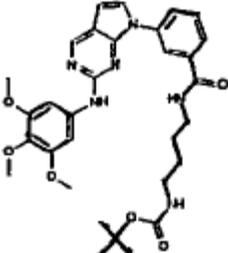
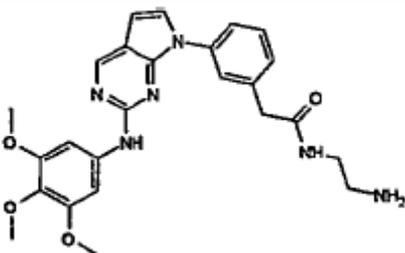
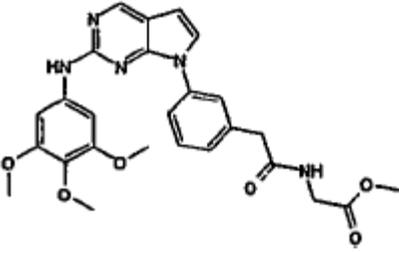
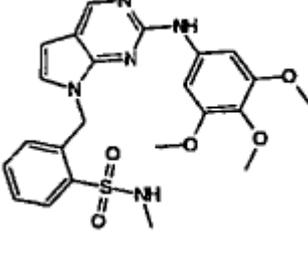
96		MS (<i>m/z</i>) 490.2 (M+1).
97		MS (<i>m/z</i>) 517.3 (M+1).
98		MS (<i>m/z</i>) 391.2 (M+1).
99		MS (<i>m/z</i>) 519.3 (M+1).
100		MS (<i>m/z</i>) 518.2 (M+1).
101		MS (<i>m/z</i>) 506.2 (M+1).

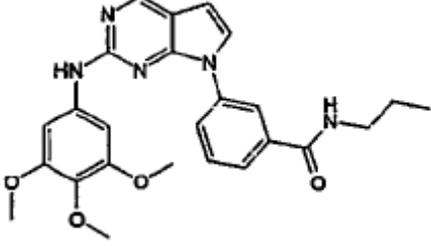
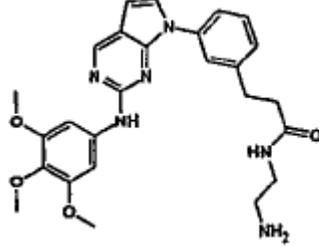
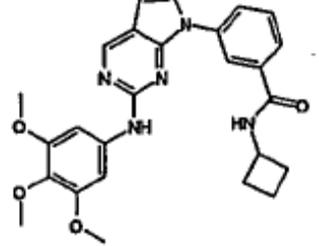
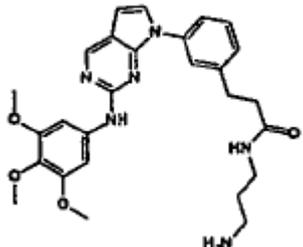
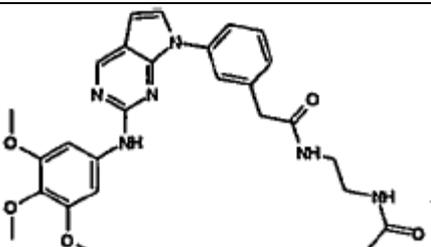
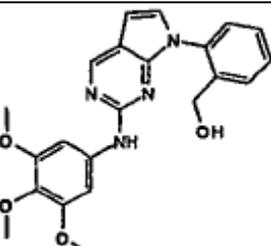
102		MS (<i>m/z</i>) 434.2 (M+1).
103		MS (<i>m/z</i>) 504.2 (M+1).
104		¹ H NMR 400 MHz (CDCl ₃) δ 8.87 (s, 1H), 7.92 (m, 1H), 7.86 (m, 1H), 7.66 (t, 1H), 7.48 (m, 1H), 7.39 (d, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.09 (s, 2H), 6.75 (d, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.88 (s, 6H); MS (<i>m/z</i>) 415.9 (M+1).
105		MS (<i>m/z</i>) 534.2 (M+1).
106		MS (<i>m/z</i>) 460.2 (M+1).
107		MS (<i>m/z</i>) 462.2 (M+1).

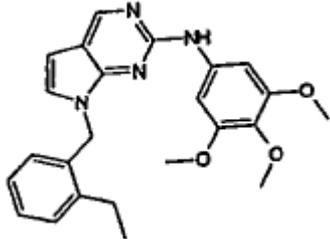
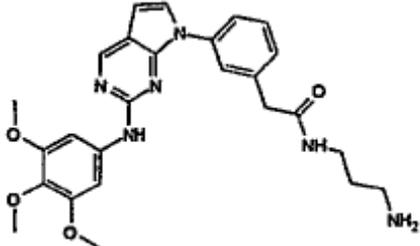
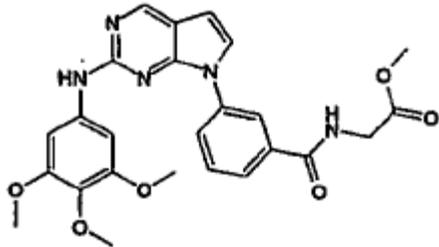
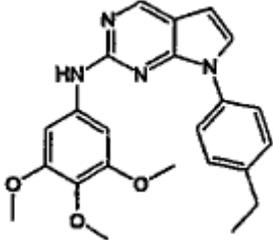
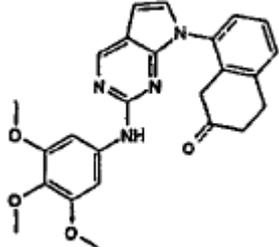
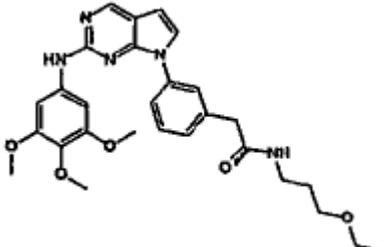
108		MS (<i>m/z</i>) 476.2 (M+1).
109		MS (<i>m/z</i>) 464.2 (M+1).
110		MS (<i>m/z</i>) 445.1 (M+1).
111		MS (<i>m/z</i>) 520.2 (M+1).
112		MS (<i>m/z</i>) 517.2 (M+1).
113		MS (<i>m/z</i>) 403.2 (M+1).

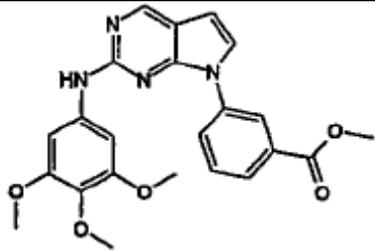
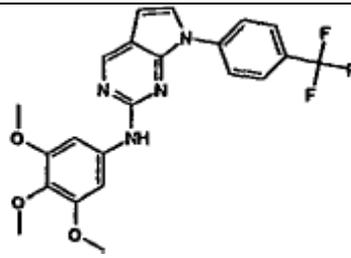
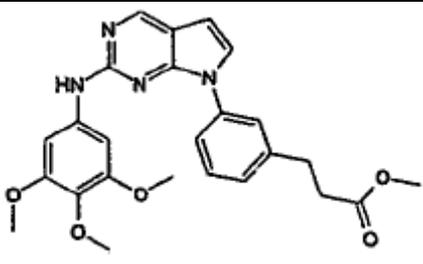
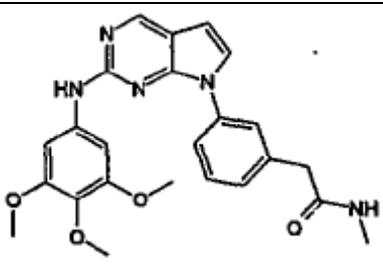
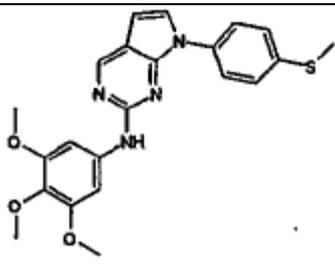
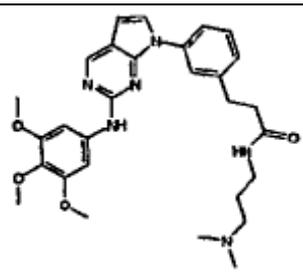
114		MS (<i>m/z</i>) 405.2 (M+1).
115		MS (<i>m/z</i>) 478.2 (M+1).
116		MS (<i>m/z</i>) 520.2 (M+1).
117		MS (<i>m/z</i>) 534.2 (M+1).
118		MS (<i>m/z</i>) 405.2 (M+1).
119		MS (<i>m/z</i>) 419.2 (M+1).

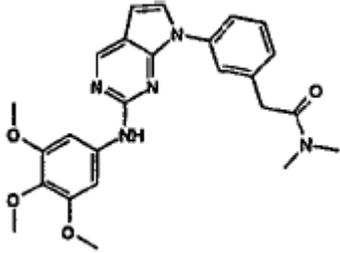
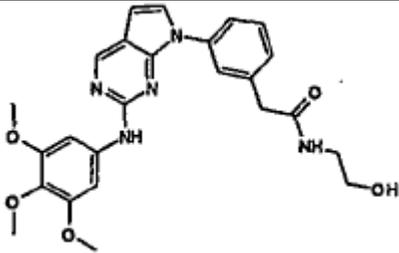
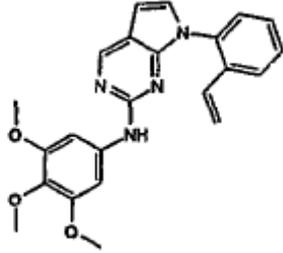
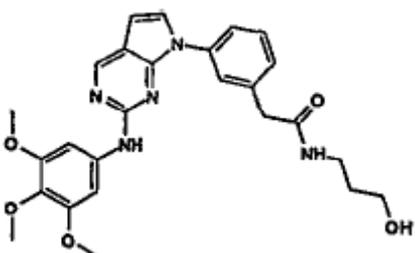
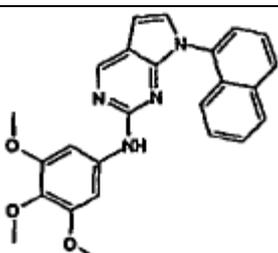
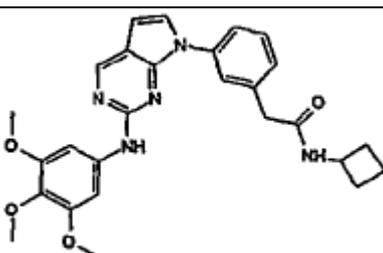
120		$^1\text{H NMR}$ 400 MHz (MeOH- d_4) δ 8.61 (s, 1H), 7.64 (m, 2H), 7.49 (d, 1H), 7.43 (t, 1H), 7.22 (d, 1H), 6.90 (s, 2H), 6.63 (d, 1H), 4.31 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 3.56 (s, 6H); MS (m/z) 473.5 (M+1).
121		$^1\text{H NMR}$ 400 MHz (MeOH- d_4) δ 8.62 (s, 1H), 7.65 (m, 1H), 7.63 (m, 1H), 7.54 (d, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.26 (m, 1H), 6.86 (s, 2H), 6.069 (d, 1H), 4.31 (s, 2H), 3.63 (s, 3H), 3.58 (s, 6H); MS (m/z) 415.9 (M+1). MS (m/z) 459.2 (M+1).
122		MS (m/z) 533.2 (M+1).
123		MS (m/z) 462.2 (M+1).
124		MS (m/z) 391.2 (M+1).
125		$^1\text{H NMR}$ 400 MHz (CDCl $_3$) δ 8.78 (s, 1H), 7.71 (m, 1H), 7.56 (m, 1H), 7.44 (t, 1H), 7.27 (m, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.13 (b, 1H), 6.95 (s, 2H), 6.57 (d, 1H), 3.80 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.70 (m, 9H); MS (m/z) 449.3 (M+1).

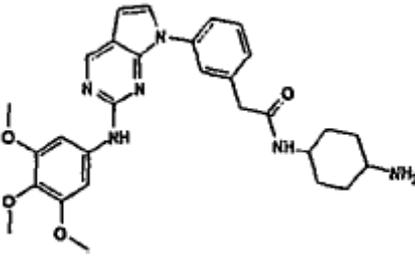
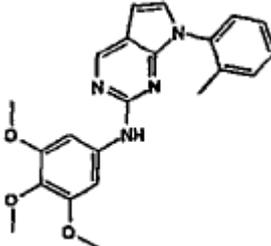
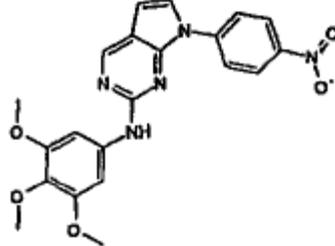
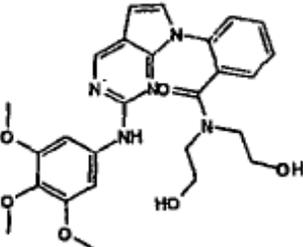
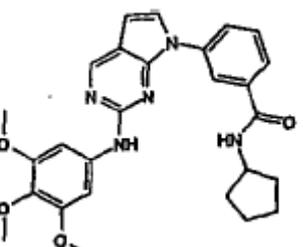
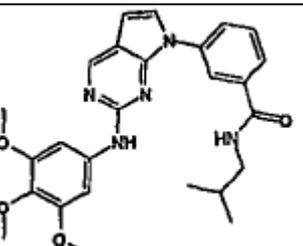
132		MS (<i>m/z</i>) 403.2 (M+1).
133		MS (<i>m/z</i>) 427.9 (M+1).
134		MS (<i>m/z</i>) 591.3 (M+1).
135		MS (<i>m/z</i>) 477.2 (M+1).
136		MS (<i>m/z</i>) 506.2 (M+1).
137		MS (<i>m/z</i>) 484.2 (M+1).

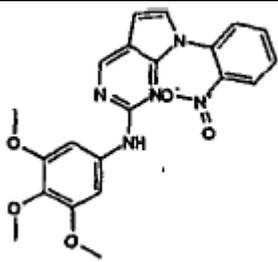
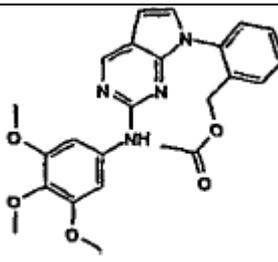
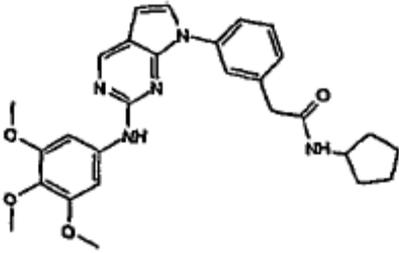
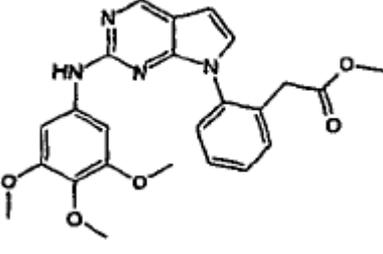
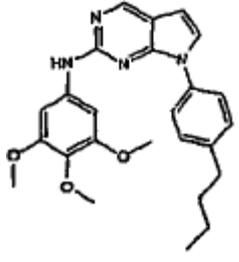
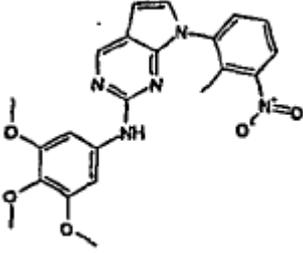
138		MS (<i>m/z</i>) 462.2 (M+1).
139		MS (<i>m/z</i>) 491.2 (M+1).
140		MS (<i>m/z</i>) 474.2 (M+1).
141		MS (<i>m/z</i>) 505.3(M+1).
142		MS (<i>m/z</i>) 519.2 (M+1).
143		MS (<i>m/z</i>) 407.3 (M+1).

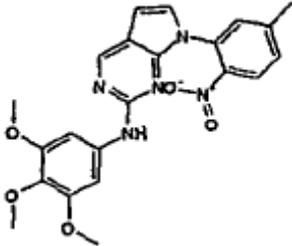
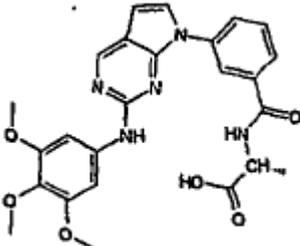
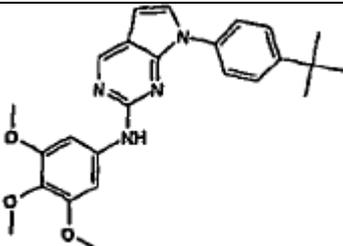
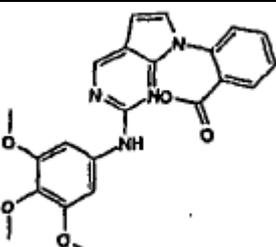
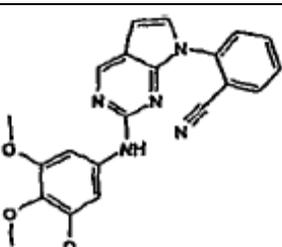
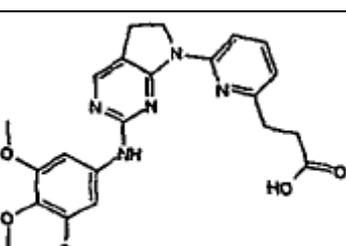
144		MS (<i>m/z</i>) 419.2 (M+1).
145		MS (<i>m/z</i>) 491.2 (M+1).
146		MS (<i>m/z</i>) 492.2 (M+1).
147		MS (<i>m/z</i>) 405.2 (M+1).
148		MS (<i>m/z</i>) 444.9 (M+1).
149		MS (<i>m/z</i>) 520.3 (M+1).

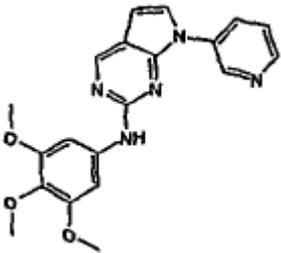
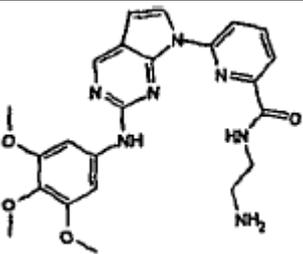
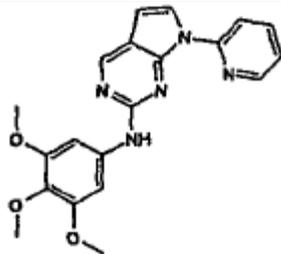
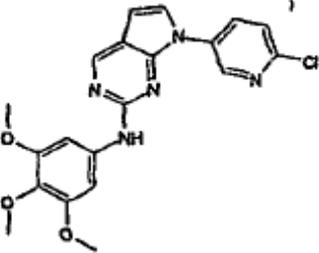
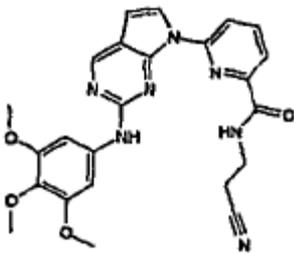
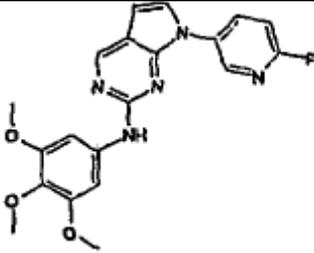
150		$^1\text{H NMR}$ 400 MHz (CDCl_3) δ 8.71 (s, 1H), 8.29 (t, 1H), 8.08 (m, 1H), 8.01 (m, 1H), 7.57 (t, 1H), 7.26 (d, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.93 (s, 2H), 6.60 (d, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.80 (d, 9H); MS (m/z) 435.3 (M+1).
151		MS (m/z) 445.1 (M+1).
152		$^1\text{H NMR}$ 400 MHz (CDCl_3) δ 8.64 (s, 1H), 7.56 (m, 1H), 7.41 (m, 1H), 7.33 (t, 1H), 7.12 (m, 2H), 6.90 (s, 2H), 6.50 (d, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.65 (s, 6H), 3.60 (s, 3H), 2.97 (m, 2H), 2.60 (m, 2H); MS (m/z) 463.1 (M+1).
153		MS (m/z) 478.2 (M+1).
154		MS (m/z) 423.1 (M+1).
155		MS (m/z) 533.3 (M+1).

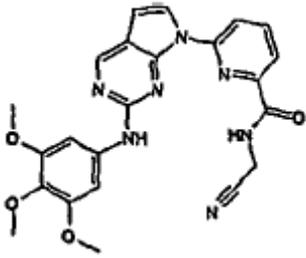
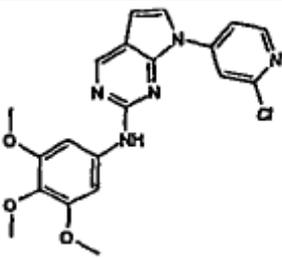
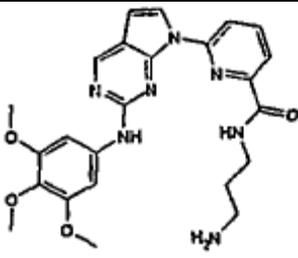
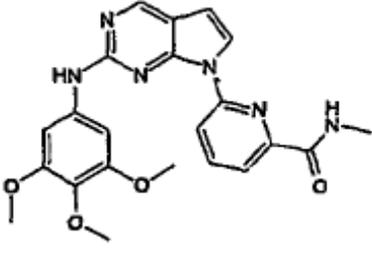
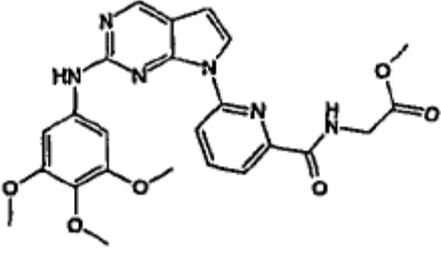
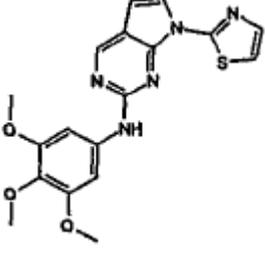
156		MS (<i>m/z</i>) 462.2 (M+1).
157		MS (<i>m/z</i>) 478.2 (M+1).
158		MS (<i>m/z</i>) 403.2 (M+1).
159		MS (<i>m/z</i>) 492.2 (M+1).
160		MS (<i>m/z</i>) 427.2 (M+1).
161		MS (<i>m/z</i>) 488.2 (M+1).

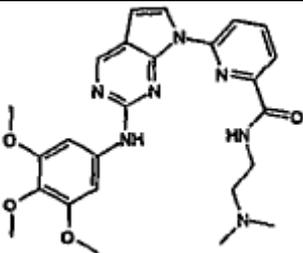
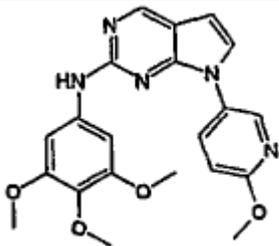
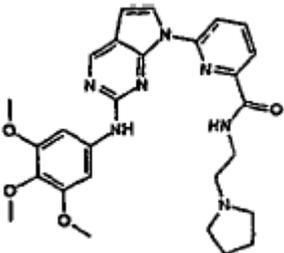
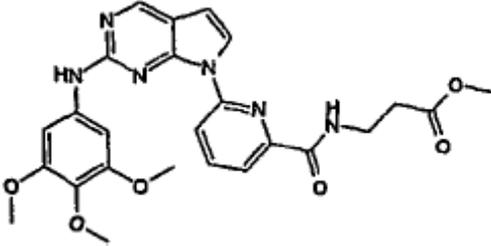
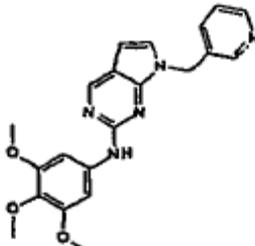
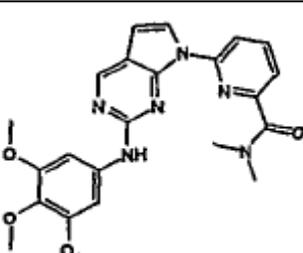
162		MS (<i>m/z</i>) 531.3 (M+1).
163		MS (<i>m/z</i>) 391.2 (M+1).
164		MS (<i>m/z</i>) 422.1 (M+1).
165		MS (<i>m/z</i>) 508.2 (M+1).
166		MS (<i>m/z</i>) 488.2 (M+1).
167		MS (<i>m/z</i>) 476.2 (M+1).

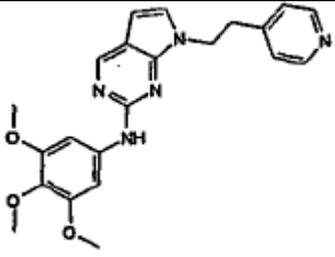
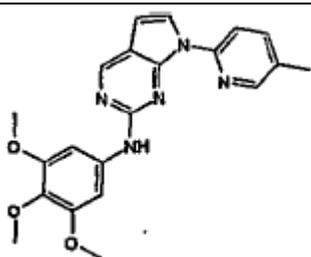
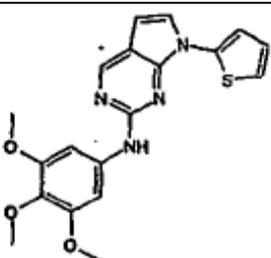
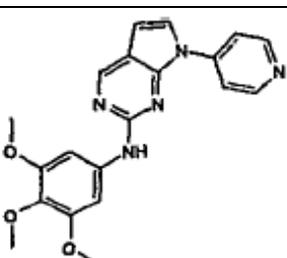
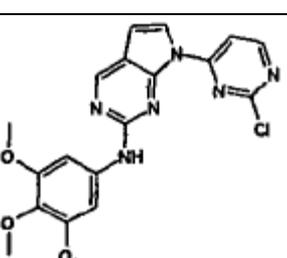
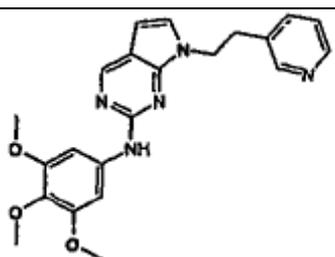
168		MS (<i>m/z</i>) 422.1 (M+1).
169		MS (<i>m/z</i>) 450.3 (M+1).
170		MS (<i>m/z</i>) 502.2 (M+1).
171		MS (<i>m/z</i>) 448.9 (M+1).
172		MS (<i>m/z</i>) 433.2(M+1).
173		MS (<i>m/z</i>) 436.1 (M+1).

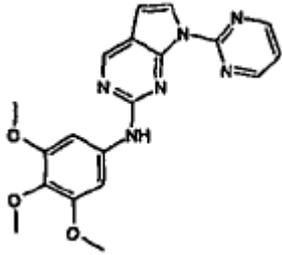
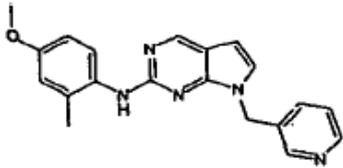
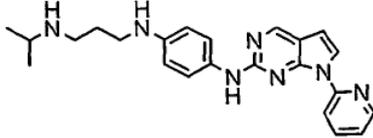
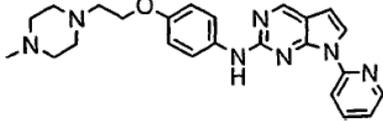
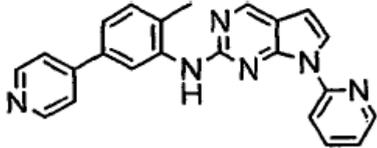
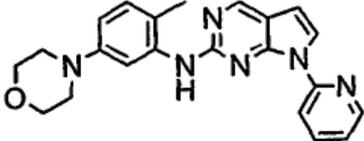
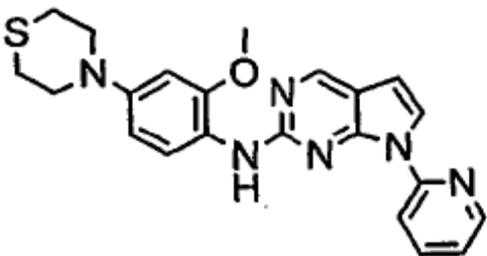
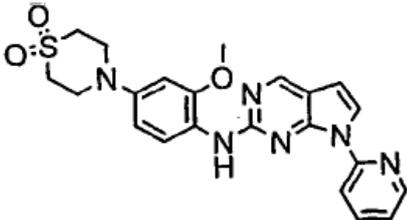
174		MS (<i>m/z</i>) 436.1 (M+1).
175		MS (<i>m/z</i>) 492.2 (M+1).
176		MS (<i>m/z</i>) 332.2 (M+1).
177		MS (<i>m/z</i>) 421.2 (M+1).
178		MS (<i>m/z</i>) 402.2 (M+1).
179		MS (<i>m/z</i>) 452.2 (M+1).

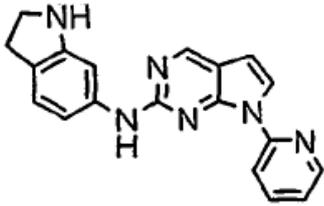
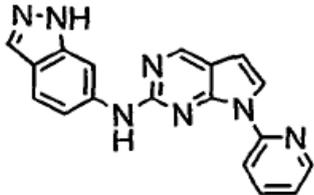
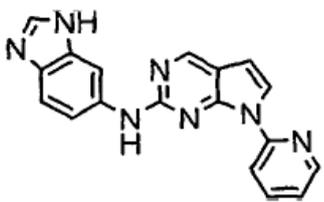
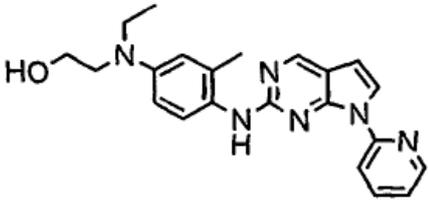
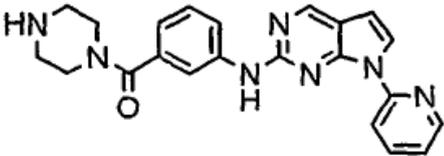
180		MS (<i>m/z</i>) 378.2 (M+1).
181		MS (<i>m/z</i>) 464.1 (M+1).
182		MS (<i>m/z</i>) 378.2 (M+1).
183		MS (<i>m/z</i>) 411.11 (M+1).
184		MS (<i>m/z</i>) 474.1 (M+1).
185		MS (<i>m/z</i>) 396.1 (M+1).

186		MS (<i>m/z</i>) 460.1 (M+1).
187		MS (<i>m/z</i>) 412.1 (M+1).
188		MS (<i>m/z</i>) 478.2 (M+1).
189		MS (<i>m/z</i>) 435.1 (M+1).
190		MS (<i>m/z</i>) 493.10 (M+1).
191		MS (<i>m/z</i>) 384.1 (M+1).

192		MS (<i>m/z</i>) 492.2 (M+1).
193		MS (<i>m/z</i>) 408.2 (M+1).
194		MS (<i>m/z</i>) 518.20 (M+1).
195		MS (<i>m/z</i>) 507.15 (M+1).
196		MS (<i>m/z</i>) 392.20 (M+1).
197		MS (<i>m/z</i>) 449.10 (M+1).

198		MS (<i>m/z</i>) 406.2 (M+1).
199		MS (<i>m/z</i>) 392.2 (M+1).
200		MS (<i>m/z</i>) 383.1 (M+1).
201		MS (<i>m/z</i>) 378.2 (M+1).
202		¹ H NMR 400 MHz (CDCl ₃) δ 8.72 (d, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.16 (d, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.16 (s, 2H), 6.72 (d, 1H), 3.89 (s, 6H), 3.85 (s, 3H); MS (<i>m/z</i>) 413.1 (M+1).
203		MS (<i>m/z</i>) 406.3 (M+1).

204		$^1\text{H NMR}$ 400 MHz (CDCl_3) δ 8.85 (d, 2H), 8.74 (s, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.25 (t, 1H), 7.13 (s, 2H), 6.63 (d, 1H), 3.93 (s, 6H), 3.86 (s, 3H); MS (m/z) 379.4 (M+1).
205		MS (m/z) 346.2 (M+1).
206		
208		
209		
210		
211		
212		

213		
214		
215		
216		
217		

Ensayos

Los compuestos de la presente invención se evalúan para medir su capacidad para inhibir selectivamente la proliferación celular de células 32D que expresan BCR-Abl (32D-p210) en comparación con las células parentales 32D. Los compuestos que inhiben selectivamente la proliferación de estas células BCR-Abl transformadas se prueban para la actividad anti-proliferativa sobre las células Ba/F3 que expresan ya sea las formas mutante o de tipo salvaje de Bcr-abl. Además, los compuestos se evalúan para medir su capacidad para inhibir FAK, Flt-3, ALK y b-Raf.

Inhibición de proliferación dependiente de BCR-Abl celular (método de alto rendimiento)

La línea celular murina utilizada es la línea celular progenitora hematopoyética 32D transformada con BCR-Abl ADNc (32D-p210). Estas células se mantuvieron en RPMI/10% suero fetal bovino (RPMI/FCS) suplementado con penicilina 50 µg/mL, estreptomina 50 µg/mL y L-glutamina 200 mM. Las células 32D sin transformar se mantienen de forma similar con la adición de 15% de medio acondicionado WEHI como una fuente de IL3.

50 µl de una suspensión de células 32D o 32D-p210 se sembraron en microplacas de 384 pozos Greiner (negras) a una densidad de 5000 células por pozo. 50nl del compuesto de prueba (1 mM en solución stock de DMSO) se

adiciona a cada pozo (STI571 se incluye como control positivo). Las células se incuban, durante 72 horas a 37 °C, 5% de CO₂. Se adicionan 10 µL de una solución al 60% de Alamar Blue (Tek diagnostics) a cada pozo y las células se incuban durante otras 24 horas. La intensidad de la fluorescencia (Excitación a 530 nm, Emisión a 580 nm) se cuantifica utilizando el sistema Acquest™ (Dispositivos Moleculares).

5 Inhibición de proliferación dependiente de BCR-Abl celular

Las células 32D-p210 se sembraron en placas TC de 96 pozos a una densidad de 15,000 células por pozo. Se adicionan 50 µL de diluciones en serie dos veces del compuesto de prueba (C_{max} es 40 µM) a cada pozo (STI571 se incluye como control positivo). Después de incubar las células, durante 48 horas a 37 °C, 5% de CO₂, se adicionan 15 µL de MTT (Promega) a cada pozo y las células se incuban durante otras 5 horas. La densidad óptica a 570nm se cuantifica espectrofotométricamente y los valores de IC₅₀, la concentración del compuesto necesaria para un 50% de inhibición, determinada de una curva dosis respuesta.

Efecto en la distribución del ciclo celular

Las células 32D y 32D-p210 se sembraron en placas TC de 6 pozos a 2.5×10^6 células por pozo en 5 ml de medio y se adiciona el compuesto de prueba a 1 o 10 µM (STI571 se incluye como control). Las células luego se incuban durante 24 o 48 horas a 37 °C, 5% de CO₂. 2 ml de suspensión celular se lavan con PBS, se fijan en 70% de EtOH durante 1 hora y se tratan con PBS/EDTA/RNasa A, durante 30 minutos. Se adiciona yoduro de propidio (Cf= 10 µg/ml) y la intensidad de la fluorescencia se cuantifica por citometría de flujo en el sistema FACScalibur™ (BD Biosciences). Los compuestos de prueba de la presente invención demuestran un efecto apoptótico sobre las células 32D-p210 pero no inducen apoptosis en las células parentales 32D.

20 Efecto en Autofosforilación de BCR-Abl Celular

La autofosforilación de BCR-Abl se cuantifica con Elisa de captura utilizando un anticuerpo de captura específico de c-abl y un anticuerpo antifosfotirosina. Las células 32D-p210 se sembraron en placas TC de 96 pozos a 2×10^5 células por pozo en 50 µL de medio. Se adicionan 50 µL de diluciones en serie dos veces de los compuestos de prueba (C_{max} es 10 µM) a cada pozo (STI571 se incluye como control positivo). Las células se incuban durante 90 minutos a 37 °C, 5% de CO₂. A continuación las células se tratan, durante 1 hora sobre hielo con 150 µL de solución reguladora de lisis (Tris-HCl 50 mM, pH 7.4, NaCl 150 mM, EDTA 5 mM, EGTA 1 mM y 1% de NP-40) que contiene inhibidores de proteasa y fosfatasa. Se adicionan 50 µL de lisado celular a optiplacas de 96 pozos cubiertas previamente con anticuerpo específico anti-abl y se bloquean. Las placas se incuban durante 4 horas a 4 °C. Después del lavado con solución reguladora TBS-Tween 20, se adicionan 50 µL de anticuerpo anti-fosfotirosina alcalina-fosfatasa conjugada y la placa además se incuba durante la noche a 4 °C. Después del lavado con solución reguladora TBS-Tween 20, se adicionan 90 µL de un sustrato luminiscente y la luminiscencia se cuantifica utilizando el sistema Acquest™ (Dispositivos Moleculares). Los compuestos de prueba de la invención que inhiben la proliferación de las células que expresan BCR-Abl, inhiben la autofosforilación de BCR-Abl celular de una manera dependiente de la dosis.

35 Efecto en Autofosforilación de BCR-Abl Celular

Efecto en proliferación de células que expresan las formas mutantes de Bcr-abl

Los compuestos de la invención se prueban para su efecto antiproliferativo en las células Ba/F3 que expresan ya sea la forma mutante o de tipo salvaje de BCR-Abl (G250E, E255V, T315I, F317L, M351T) que confiere resistencia o sensibilidad disminuida a STI571. El efecto antiproliferativo de estos compuestos en las células que expresan mutante-BCR-Abl y en las células no transformadas se analizaron a 10, 3.3, 1.1 y 0.37 µM como se describe anteriormente (en medio que carece de IL3). Los valores de IC₅₀ de los compuestos que carecen de toxicidad en las células no transformadas se determinaron de las curvas dosis respuesta obtenidas como se describe anteriormente.

Inhibición de Flt-3

La técnica general involucra la comparación de los efectos de posibles inhibidores en las líneas celulares que dependen de mutante Flt3 para proliferación vs. líneas celulares que no dependen del mutante Flt3 para la proliferación. Los compuestos que tienen actividad diferencial (más de o igual a 10 veces de diferencia en la sensibilidad entre líneas celulares Flt3+ y líneas celulares Flt3- se seleccionan para su posterior estudio.

Las líneas celulares utilizadas para la evaluación inicial son sub-líneas de células Ba/F3 que están diseñadas para sobre expresar Flt3 mutante o de tipo salvaje (no-mutado) después de la infección con un retrovirus que expresan ADNcs de Flt3 apropiado. La línea celular madre, Ba/F3 es dependiente de interleucina-3 para la proliferación, y cuando se le priva de IL-3, las células cesan rápidamente la proliferación y mueren. El retrovirus expresa Flt3 del

LTR retroviral y el neo gen a partir de un sitio IRES. Las células Ba/F3 se seleccionan en G418 y se analizan para la expresión de Flt3, mediante separación celular activada por fluorescencia (FACS). Se utilizan líneas celulares con dos diferentes mutaciones de Flt3. Un mutante expresa un Flt-3 que tiene una duplicación de 14 aminoácidos en el dominio juxtamembrana codificado por el exón 11, siendo la duplicación específica ...VDFREYEDLKWEF... (denominada, Ba/F3- Flt3-ITD). La segunda mutación tiene una mutación puntual que convierte las asparaginas en la posición 835 en tirosina (denominada Ba/F3- Flt3-D835Y). Ambas mutaciones conducen a la activación de Flt-3 quinasa y la hacen independiente de IL-3 y las células que expresan crecen en la ausencia de IL-3. Las células Ba/F3 que expresan Flt3 de tipo salvaje se generan de manera similar y se utilizan como la línea celular "control". La línea celular parental (sin infectar), y la línea celular de tipo salvaje "control" siguen dependiendo de IL-3 para la proliferación.

Las células Ba/F3 (-control, -Flt3-ITD, o -Flt3-D835Y) se cultivan hasta 500,000 células/mL en 30 mL de cultivos, con RPMI 1640 con 10% de suero fetal bovino como el medio de cultivo. El medio para las células control, (pero no las células mutante-Flt3) contiene 10% de medio acondicionado de la línea celular WEHI-3B como fuente de IL-3. Una solución 10mM "stock" de cada compuesto se hace en dimetilsulfoxido (DMSO). A continuación se hacen diluciones en RPMI 1640 con 10% de suero fetal bovino para crear concentraciones finales del fármaco que por lo general varían de 1nM a 10 μ M. Diluciones similares se hacen de DMSO que sirven como controles vehículo. 48 horas después de la adición de los compuestos, las células se analizan para la citotoxicidad y la velocidad de proliferación.

Yoduro Yo-Pro-1 (Molecular Probes) se adiciona a las células a una concentración final de 2.5 μ M en solución reguladora NaCl/Na-citrato. Las células se incuban con Yo-Pro durante 10 minutos a temperatura ambiente y luego se leen en un fluorímetro para determinar la citotoxicidad. A continuación, las células se lisan con solución reguladora NP40/EDTA/EGTA, se incuban a temperatura ambiente durante 90 minutos y se leen para la determinación de la proliferación.

Los compuestos que son selectivamente más tóxicos para las células Ba/F3-Flt3-ITD que para las células Ba/F3 control de tipo salvaje además se prueban en las células que expresan Flt3-D835Y.

Adicionalmente, se utilizan los anticuerpos α -Flt3 para inmunoprecipitar las proteínas Flt3 antes, y después de, la exposición a varias concentraciones de compuestos activos. Las proteínas inmuno-precipitadas se separan, mediante geles de poliacrilamida de dodecil sulfato de sodio, se transfieren electroforéticamente a la membrana de PVDF, y se inmunotransfieren con un anticuerpo α -fosfo-⁵⁹¹Y-Flt3. Este ensayo determina si los compuestos reducen los niveles de "autofosforilación" de Flt3 característicos de las formas mutadas del receptor.

Los compuestos de la invención por lo general muestran actividad antiproliferativa contra Flt3-ITD en el rango nanomolar mientras que no son tóxicos contra control-Flt3 hasta 10 μ M. Los compuestos de la invención también reducen la actividad de autofosforilación de Flt-3 celular en el rango nanomolar.

Inhibición de Quinasa de Adhesión Focal (FAK)

Los compuestos de la invención se prueban por su capacidad para inhibir la actividad de FAK. Las actividades de la quinasa FAK se miden en placas de 384-pozos utilizando un método de ensayo basado en la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-FRET). FAK humana de longitud completa se expresa en E. Coli como una proteína GST-tagged y se purifica mediante una columna de glutatona inmovilizada. Un péptido biotinilado, biotin-SETDDYAEIID (Sintetizado por SynPep Corp.), correspondiente a la secuencia del sitio de autofosforilación de FAK humana, se utiliza como el sustrato en el ensayo. E. Coli-quinasa FAK expresada (2.4 μ g/ml) se mezcla junto con el péptido de FAK (133 nM) en 15 μ l de solución reguladora de ensayo (Hepes 20mM, pH7.4, MgCl₂ 5mM, MnCl₂ 2mM, Na₃VO₄ 0.5mM, 0.1% de BSA, 0.1% de TritonX-100). A continuación, se adiciona un compuesto de la invención (0.5 μ l - disueltos en DMSO) a la solución enzima/péptido. Después de incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos, 5 μ l de ATP 40 μ M en solución reguladora de ensayo se adiciona para iniciar la reacción. La mezcla de reacción se incuba a temperatura ambiente durante 2 horas. 50 μ l de reactivos de detección que contiene 0.15nM de anticuerpos antifosfotirosina Eu-marcada (PT66-Eu, PerkinElmer) y luego se adicionan 1.5 μ g/ml de SA-APC (PerkinElmer) en solución reguladora de detección (Tris-HCl 10mM, pH7.4, EDTA 6mM, 0.1% de BSA, 0.1% de TritonX-100). La mezcla se incuba a temperatura ambiente durante 30 minutos y las señales TR-FRET se miden utilizando un lector de placa Acquest (Molecular Device).

Inhibición de ALK

La inhibición de actividad de la tirosina quinasa ALK se puede demostrar utilizando métodos conocidos, por ejemplo utilizando el dominio quinasa recombinante de la ALK en analogía al ensayo VEGF-R quinasa descrito en J. Wood et al. Cancer Res. 60, 2178-2189 (2000). Los ensayos de enzima in vitro utilizando proteína tirosina quinasa GST-ALK se realizan en placas de 96-pozos como un ensayo de enlace de filtro en Tris-HCl 20 mM, pH = 7.5, MgCl₂ 3 mM, MnCl₂ 10 mM, DTT 1 mM, 0.1 μ Ci/ensayo (=30 μ l) [γ -³³P]-ATP, ATP 2 μ M, poly 3 μ g/ml (Glu, Tyr 4:1) Poly-EY (Sigma P-0275), 1 % de DMSO, 25 ng de enzima ALK. Los ensayos se incuban durante 10 min a temperatura

ambiente. Las reacciones se terminan adicionando 50 μ l de EDTA 125 mM, y la mezcla de reacción se transfiere en una placa Multiscreen MAIP (Millipore, Bedford, MA, USA), humedecida previamente con metanol, y rehidratada durante 5 minutos con H₂O. Después del lavado (0.5 % de H₃PO₄), las placas se cuentan en un contador de centelleo líquido. Los valores de IC₅₀ se calculan mediante análisis de regresión lineal del porcentaje de inhibición. En comparación con el control sin inhibidor, los compuestos de fórmula I inhiben la actividad enzimática por 50 % (IC₅₀), por ejemplo en una concentración de 0.001 a 0.5 μ M, especialmente de 0.01 a 0.1 μ M.

Los compuestos de fórmula I, inhiben potencialmente el cultivo de células murina que sobreexpresan BaF3NPM-ALK humana (DSMZ Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany). La expresión de NPM-ALK se logra, mediante la transfección de la línea celular BaF3 con un vector de expresión pCIneo™ (Promega Corp., Madison WI, USA) que codifica para NPM-ALK y la posterior selección de células resistentes G418. Las células BaF3 no transfectadas dependen de IL-3 para la supervivencia de las células. En contraste las células BaF3 que expresan NPM-ALK (denominadas en lo sucesivo BaF3-NPM-ALK) pueden proliferar en la ausencia de IL-3 porque obtienen una señal proliferativa a través de la quinasa NPM-ALK. Los inhibidores putativos de la quinasa NPMALK, por lo tanto suprimen la señal de crecimiento y dan lugar a la actividad antiproliferativa. Sin embargo, la actividad antiproliferativa de los inhibidores putativos de la quinasa NPM-ALK se puede superar mediante la adición de IL-3 que provee las señales de crecimiento a través de un mecanismo independiente de NPM-ALK. [Para un sistema celular análogo utilizando FLT3 quinasa ver E Weisberg et al. Cancer Cell; 1, 433-443 (2002)]. En resumen, la actividad inhibidora de los compuestos de fórmula I se determina, de la siguiente manera: las células BaF3-NPM-ALK (15,000/pozo de placa de microtitulación) se transfieren a placas de microtitulación de 96 pozos. Los compuestos de prueba [disueltos en dimetil sulfóxido (DMSO)] se adicionan en una serie de concentraciones (serie de dilución) de tal manera que la concentración final de DMSO no es superior al 1 % (v/v). Después de la adición, las placas se incuban por dos días, durante los cuales los cultivos de control sin compuesto de prueba son capaces de someterse a dos ciclos de división celular. El crecimiento de las células BaF3-NPM-ALK se mide por medio de la tinción Yopro™ [T Idziorek et al. J. Immunol. Methods; 185: 249-258 (1995)]: 25 μ l de solución reguladora de lisis que consiste de citrato de sodio 20 mM, pH 4.0, cloruro de sodio 26.8 mM, 0.4 % de NP40, EDTA 20 mM y se adicionan 20 mM a cada pozo. La lisis celular se completa en 60 min a temperatura ambiente y se determina la cantidad total de Yopro unido al ADN mediante la medición utilizando el lector de 96 pozos Cytofluor II (PerSeptive Biosystems) con los siguientes parámetros: Excitación (nm) 485/20 y Emisión (nm) 530/25.

Los valores de IC₅₀ se determinaron por un sistema asistido por computador utilizando la fórmula:

$$IC_{50} = [(ABS_{test} - ABS_{inicial}) / (ABS_{control} - ABS_{inicial})] \times 100. \text{ (ABS = absorción)}$$

El valor IC₅₀ en aquellos experimentos se da como la concentración del compuesto de prueba en cuestión que resulta en un conteo celular que es 50 % inferior que el obtenido utilizando el control sin inhibidor. Los compuestos de fórmula I muestran actividad inhibidora con una IC₅₀ en el rango de aproximadamente 0.01 a 1 μ M.

La acción antiproliferativa de los compuestos de fórmula I, también se pueden determinar en la línea celular del linfoma KARPAS-299 humano (DSMZ Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany) [descrito en WG Dirks et al. Int. J. Cancer 100, 49-56 (2002)] utilizando la misma metodología descrita anteriormente para la línea celular BaF3-NPM-ALK. Los compuestos de Fórmula I muestran actividad inhibidora con una IC₅₀ en el rango de aproximadamente 0.01 a 1 mM.

La acción de los compuestos de Fórmula I en la autofosforilación de la ALK se puede determinar en la línea celular del linfoma KARPAS-299 humano por medio de una inmunotransferencia como se describe en WG Dirks et al. Int. J. Cancer 100, 49-56 (2002). En esta prueba los compuestos de Fórmula I muestran una IC₅₀ de aproximadamente 0.001 a 1 μ M.

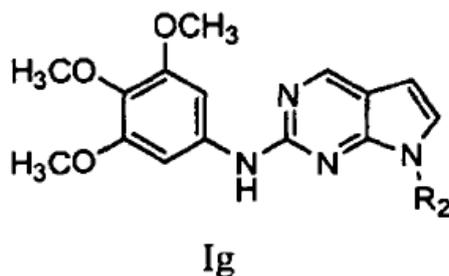
Ensayo de enlace de filtro radio-enzimático - Upstate KinaseProfiler™

Los compuestos de la invención se evalúan por su capacidad para inhibir los miembros individuales de un panel de quinasas (una lista parcial de quinasas, no limitante incluye: FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 y c-Met. Los compuestos se prueban por duplicado a una concentración final de 10 μ M siguiendo el protocolo genérico. Tener en cuenta que la composición de solución reguladora quinasa y los sustratos varía para las diferentes quinasas incluidas en el panel "Upstate KinaseProfiler™". Los compuestos se prueban por duplicado a una concentración final de 10 μ M siguiendo el protocolo genérico. Tener en cuenta que la composición de solución reguladora quinasa y los sustratos varían para las diferentes quinasas incluidas en el panel "Upstate KinaseProfiler™". La solución reguladora de quinasa (2.5 μ L, 10x - que contiene MnCl₂ cuando se necesite), quinasa activa (0.001-0.01 Unidades; 2.5 μ L), específico o péptido Poly(Glu4-Tyr) (5-500 μ M o .01mg/ml) en solución reguladora quinasa y solución reguladora quinasa (50 μ M; 5 μ L) se mezclan en un eppendorf en hielo. Se adiciona una mezcla de Mg/ATP (10 μ L; MgCl₂ 67.5 (o 33.75) mM, ATP 450 (o 225) μ M y 1 μ Ci/ μ l [γ -³²P]-ATP (3000Ci/mmol) y la reacción se incuba a aproximadamente 30°C, durante cerca de 10 minutos. La mezcla de reacción se aplica (20 μ L) sobre un cuadrado

- de papel de 2cm x 2cm P81 (fosfocelulosa, para sustratos de péptido cargado positivamente) o Whatman No. 1 (para sustrato péptido Poly (Glu4-Tyr)). Los cuadrados de ensayo se lavan 4 veces, durante 5 minutos cada uno, con 0.75% de ácido fosfórico y se lavan una vez con acetona durante 5 minutos. Los cuadrados de ensayo se transfieren a un vial de centelleo, se adicionan 5 ml de cóctel de centelleo y la incorporación ³²P (cpm) al péptido sustrato se cuantifica con un contador de centelleo Beckman. El porcentaje de inhibición se calcula para cada reacción. Los compuestos de Fórmula I, a una concentración de 10 μ M, preferiblemente muestran un porcentaje inhibición mayor del 50%, preferiblemente mayor del 60%, más preferiblemente mayor del 70%, contra FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 y/o c-Met quinasas.
- 5
- Los compuestos de Fórmula I, en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, muestran valiosas propiedades farmacológicas, por ejemplo, como se indica por las pruebas *in vitro* descritas en esta solicitud. Por ejemplo, los compuestos de Fórmula I, preferiblemente muestran una IC₅₀ en el rango de 1 x 10⁻¹⁰ a 1 x 10⁻⁵ M, más preferiblemente menos de 500nM para al menos una de las siguientes quinasas: FAK, Abl, BCR-Abl, PDGF-R, c-Kit, NPM-ALK, Flt-3, JAK2 y c-Met quinasas. Por ejemplo:
- 10
- (i)N-(2-Dimetilamino-etil)-3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzamida (ejemplo 73) tiene una IC₅₀ de 38 nM para FAK.
- 15
- (ii){3-[2-(3,4,5-Trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-fenil}-acetonitrilo (ejemplo 104) tiene una IC₅₀ de 29 nM, 282 nM, 342 nM, 33 nM, y 479 nM para FLT3-ITD, FGFR3, JAK2, PDGFR-beta, y Tel-TRKC respectivamente.
- (iii){7-[3-(1-Metil-1H-tetrazol-5-ilmetil)-fenil]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il}-(3,4,5-trimetoxi-fenil)-amina (ejemplo 120) tiene una IC₅₀ de 29 nM para BaF3/PDGFR-beta.
- 20
- (iv)3-{3-[2-(3,4,5-Trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-fenil}-propionitrilo (ejemplo 85) tiene una IC₅₀ de 16 nM para FLT3-ITD.
- (v) (7-Piridin-2-il-6,7-dihidro-5H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il)-(3,4,5-trimetoxi-fenil)-amina (ejemplo 61) tiene una IC₅₀ de 284 nM para FGFR3.
- 25
- (vi) [7-(2-Cloro-piridin-4-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il]-(4-metoxi-2-metilfenil)- amina (ejemplo 47) tiene una IC₅₀ de 408 nM para BCR-Abl.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en la cual R₂ se selecciona de piridinilo, fenilo, tiazolil, piridinil-metilo, piridinil-etilo, tiofenilo, bencilo, quinolinil, 7-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-naftalenil, naftil y pirimidinil; en donde cualquier arilalquilo o heteroarilalquilo de R₂ opcionalmente se sustituye por 1 a 3 radicales independientemente seleccionados de halo, nitro, ciano, metilo, propil-sulfamoil, metil-sulfamoil, metoxi, metil-carboxi, 2-dimetilamino-etil-formamilo, carboxi, amino, ciano-etilo, ciano-metilo, etenil, tri-fluoro-metilo, hidroxil-metilo, etilo, metil-sulfanilo, butilo, isobutilo, carboxi-metil-formamidilo, 1-carboxi-etil-formamidilo, carboxi-etilo, amino-etil-formamidilo, amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-etil-formamidilo, dimetil-amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-butil-formamidilo, metil-formamidilo, etil-formamidilo, etil-formamidil-metilo, 2-(2-dimetilamino-etilcarbamoil)-etilo, 2-(2-dimetilamino-formamidil)-etilo, 2-(amino-etil-formamidil)-etilo, 2-(amino-propil-formamidil)-etilo, 2-(propilformamidil)-etilo, amino-propil-formamidil-metilo, 2-(metil-amino-carbamoil)-etilo, 2-(etil-amino-carbamoil)- etilo, morfolino-etil-formamidilo, morfolino-carbonil-metilo, amino-etil-formamidil-metilo, ciclobutil- formamidilo, metil-formamidil-metilo, dimetil-formamidil-metilo, hidroxil-etil-formamidil-metilo, hidroxil- propil-formamidil-metilo, N,N-bis-(3-hidroxi-propil)-formamidilo, ciclopentil-formamidilo, isobutil-formamidilo, isobutil-formamidil-metilo, ciclopentil-formamidil-metilo, ciano-etil-formamidilo, ciano-metil-formamidilo, pirrolidinil-etil-formamidilo, 2-(isobutil-formamidil)-etilo, 1H-tetrazolil, 2-(1H-tetrazol-5-il)-etilo, 2-(1H-tetrazol- 5-il)-metilo, 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)-metilo, acetil-amino, ciclopropil-formamidil-metilo, hidroxil-etil-formamidilo, hidroxil-propil-formamidilo, propil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidilo, acetil-amino-etil-formamidilo, 1-metil-piperidin-4-il-formamidilo, morfolino-carbonil-etilo, metoxi-carbonil-metilo, metoxi-carbonil- etil-formamidilo, metoxi-carbonil-etil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidil-metilo, acetil-amino-etil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-etilo, ácido 1-formil-pirrolidin- 2-il- carboxílico, (1-carboxi-3-metil-butilo)-formamidilo, 2-(metoxi-carbonil-metil-formamidilo)-etilo, 1- carboxi-(2,2-dimetil-propil)-formamidilo, 3-tert-butoxicarbonil-amino-propil-formamidilo, acetoxi-metilo y 1- carboxi-etil-formamidilo.

5. El compuesto de la reivindicación 1 de Fórmula Ig:



en la cual R₂ se selecciona de piridinilo, fenilo, tiazolilo, piridinil-metilo, piridinil-etilo, tiofenilo, bencilo, quinolinil, 7-oxo-5,6,7,8-tetrahidro-naftalenil, naftil y pirimidinilo; en donde cualquier arilalquilo o heteroarilalquilo de R₂ opcionalmente se sustituye por 1 a 3 radicales independientemente seleccionados de halo, nitro, ciano, metilo, propil-sulfamoil, metil-sulfamoil, metoxi, metil-carboxi, 2-dimetilamino-etil-formamilo, carboxi, amino, ciano-etilo, cianometil, etenil, tri-fluoro-metilo, hidroxil-metilo, etilo, metil-sulfanilo, butilo, isobutilo, carboxi-metil-formamidilo, 1-carboxi-etil-formamidilo, carboxi-etilo, amino-etil-formamidilo, amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-etil-formamidilo, dimetil-amino-propil-formamidilo, dimetil-amino-butil-formamidilo, metil-formamidilo, etilformamidil, etil-formamidil-metilo, 2-(2-dimetilamino-etilcarbamoil)-etilo, 2-(2-dimetilamino-formamidilo)- etilo, 2-(amino-etil-formamidilo)-etilo, 2-(amino-propil-formamidilo)-etilo, 2-(propil-formamidilo)-etilo, amino- propil-formamidil-metilo, 2-(metil-amino-carbamoil)-etilo, 2-(etil-amino-carbamoil)-etilo, morfolinoetil- formamidilo, morfolino-carbonil-metilo, amino-etil-formamidil-metilo, ciclobutil-formamidilo, metil-formamidil- metilo, dimetil-formamidil-metilo, hidroxil-etil-formamidil-metilo, hidroxil-propil-formamidil-metilo, N,N-bis-(3-hidroxi-propil)-formamidilo, ciclopentil-formamidilo, isobutil-formamidilo, isobutil-formamidil-metilo, ciclopentil-formamidil-metilo, ciano-etil-formamidilo, ciano-metil-formamidilo, pirrolidinil-etil-formamidilo, 2-(isobutil-formamidilo)-etilo, 1H-tetrazolil, 2-(1H-tetrazol-5-il)-etilo, 2-(1H-tetrazol-5-il)-metilo, 2-(1-metil- 1H-tetrazol-5-il)-metilo, acetil-amino, ciclopropil-formamidil-metilo, hidroxil-etil-formamidilo, hidroxil-propilformamidilo, propil-formamidil-metilo, etoxi-propil-formamidilo, acetil-amino-etil-formamidilo, 1-metil-piperidin- 4-il-formamidilo, morfolino-carbonil-etilo, metoxi-carbonil-metilo, metoxi-carbonil-etil-formamidilo, metoxi-carbonil-etil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-metil- formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidilo, 4-amino-ciclohexil-formamidil-metilo, acetil-amino-etil-formamidil- metilo, etoxi-propil-formamidil-metilo, metoxi-carbonil-etilo, ácido 1-formil-pirrolidin-2-il- carboxílico, (1-carboxi-3-metil-butil)-formamidilo, 2-(metoxi-carbonil-metil-formamidil)-etilo, 1-carboxi-(2,2-dimetilpropil)- formamidilo, 3-tert-butoxicarbonil-amino-propil-formamidilo, acetoxi-metilo y 1-carboxi-etil-formamidilo.

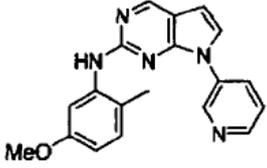
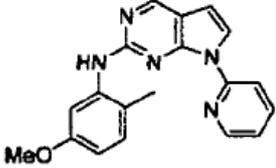
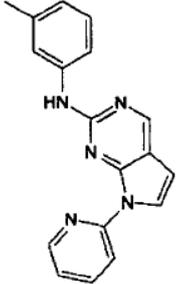
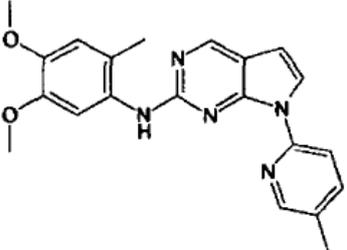
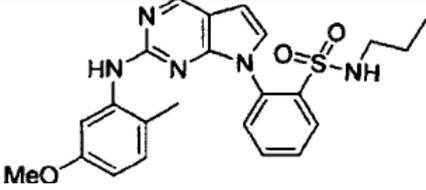
6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado de:

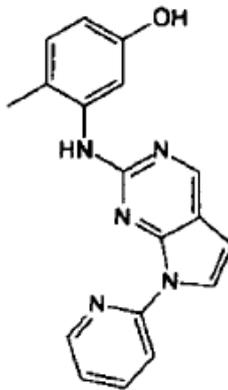
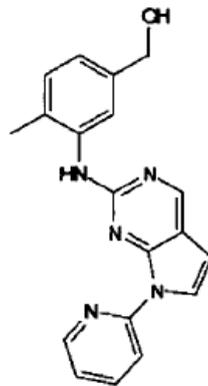
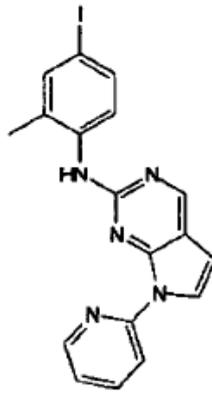
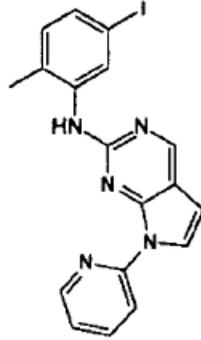
7-piridin-2-il-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-il)-(3,4,5-trimetoxi-fenil)-amina;

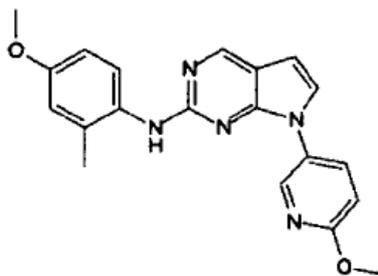
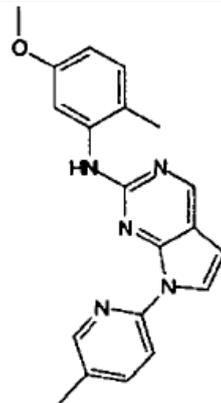
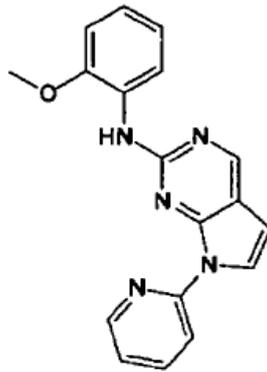
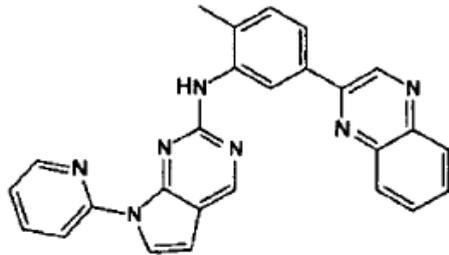
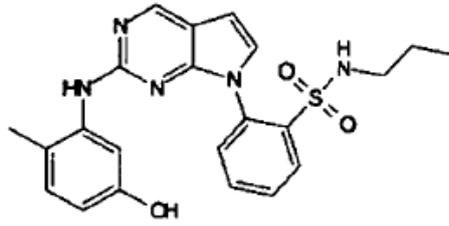
Ácido 3-(2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il)- benzoico;

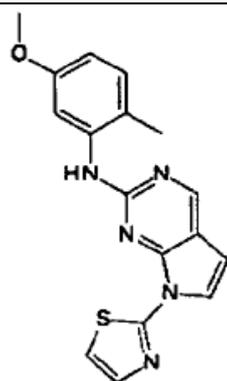
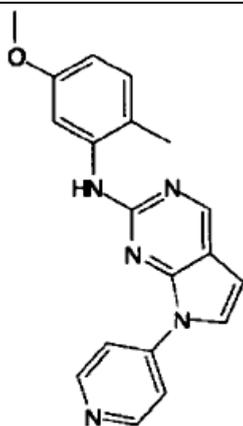
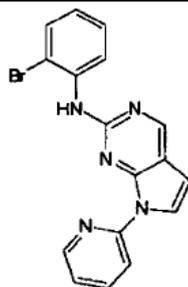
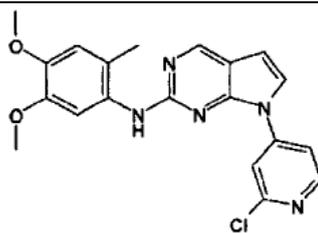
Cloruro de 3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzoilo;

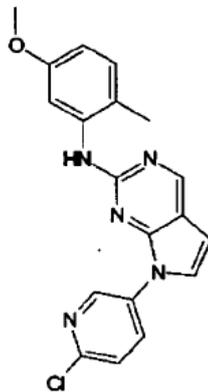
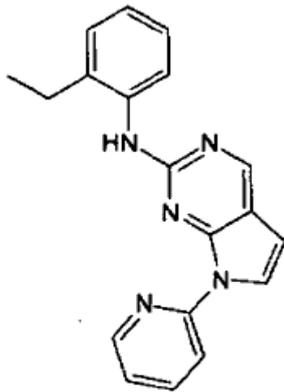
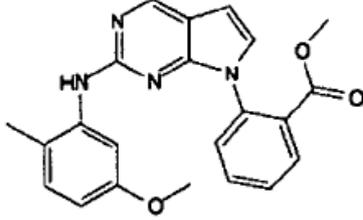
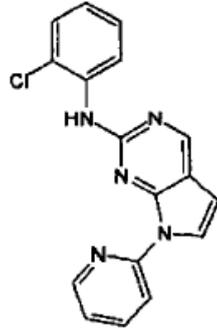
N-Metil-3-[2-(3,4,5-trimetoxi-fenilamino)-pirrolo[2,3-d]pirimidin-7-il]-benzamida; y de los compuestos mostrados en la siguiente tabla:

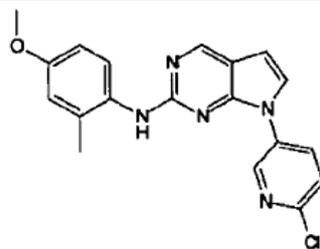
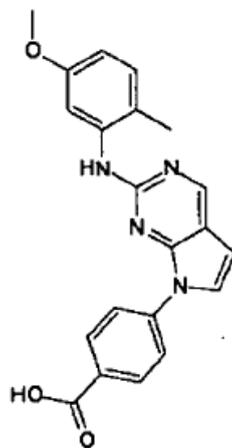
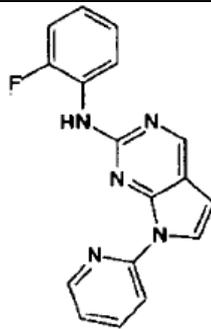
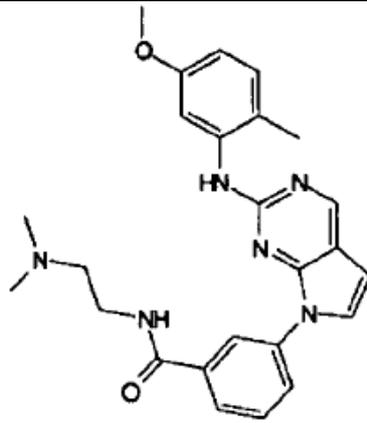






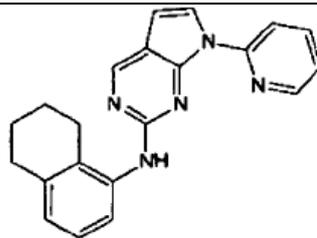
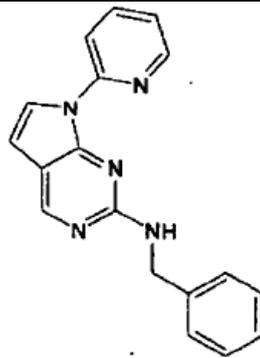
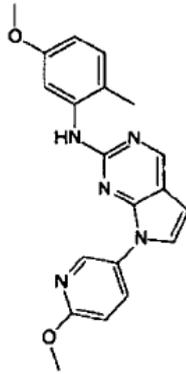
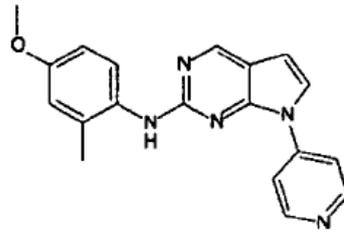
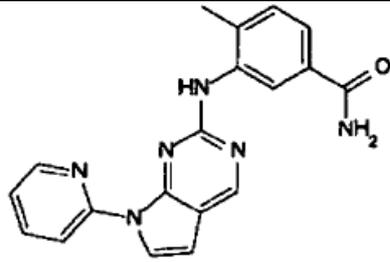


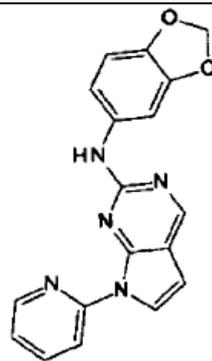
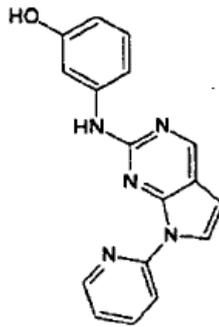
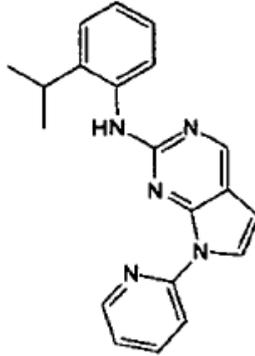
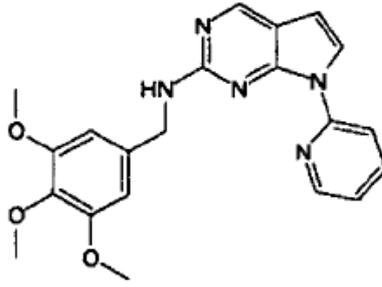


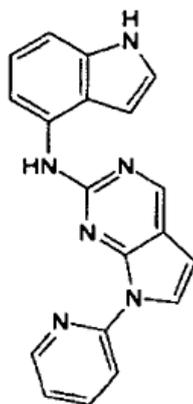
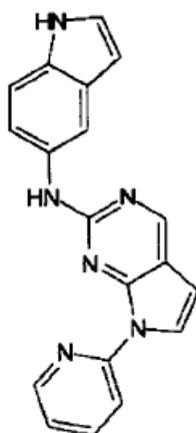
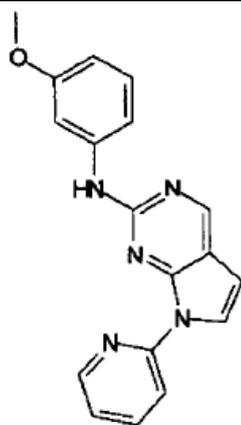


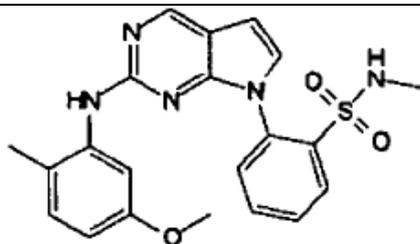
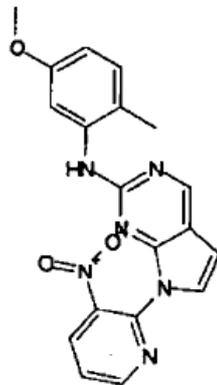
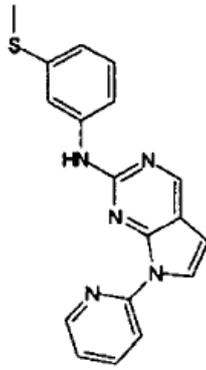
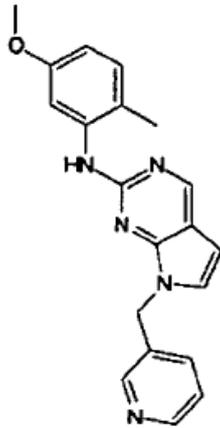


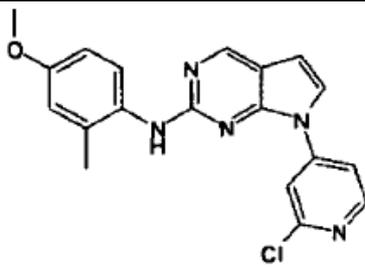
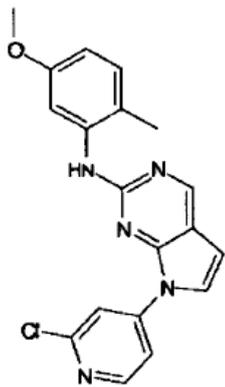
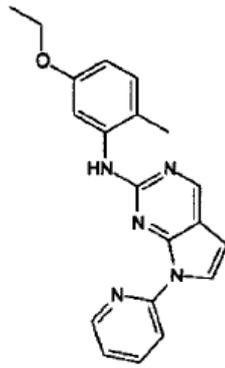
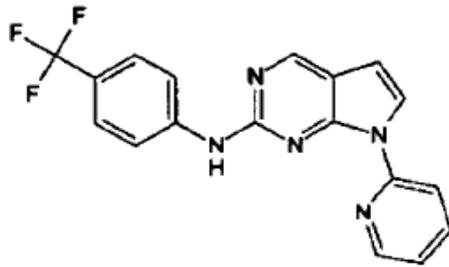
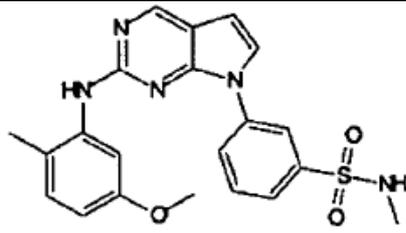


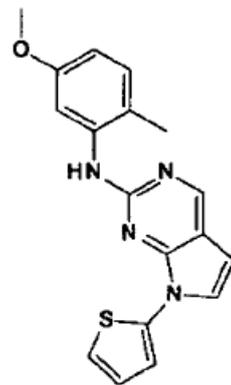
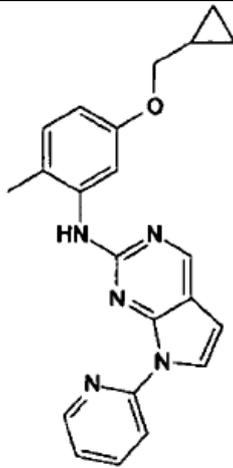
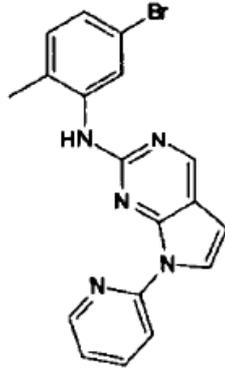


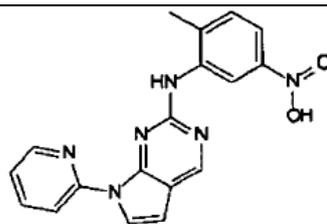
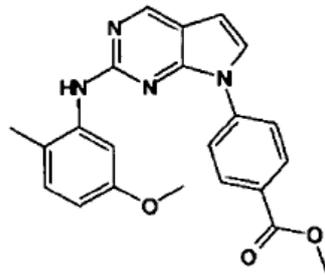
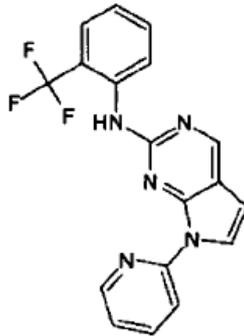
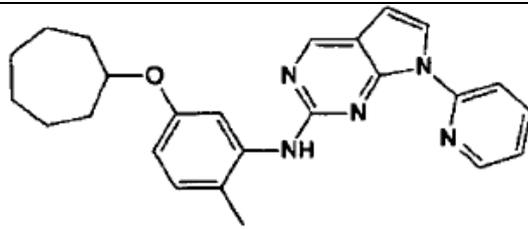
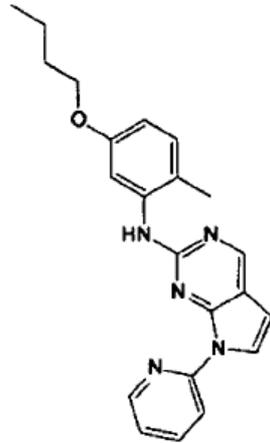


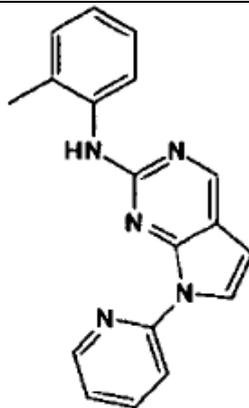
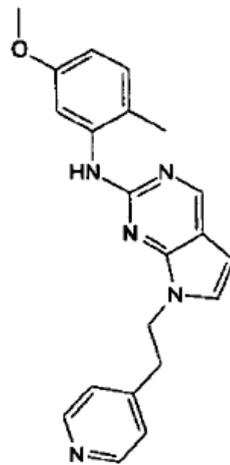
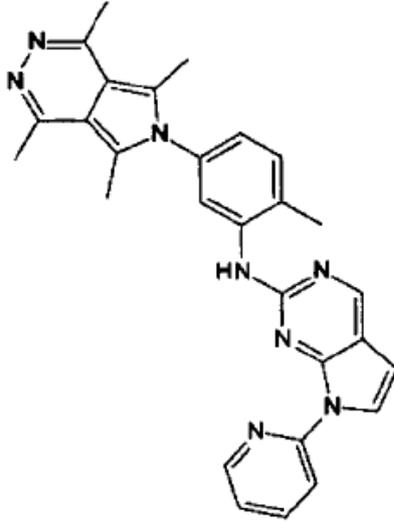
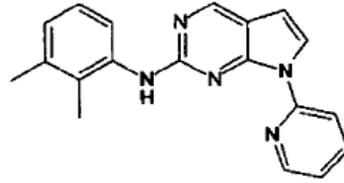


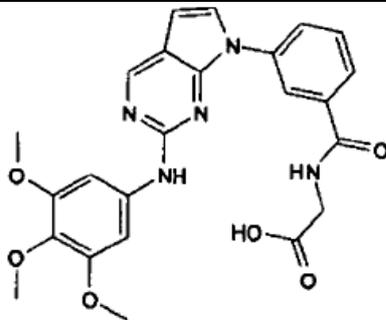
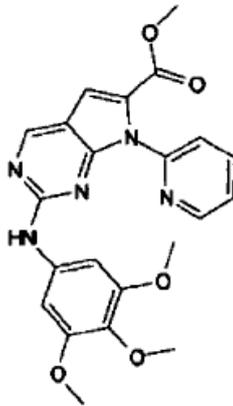
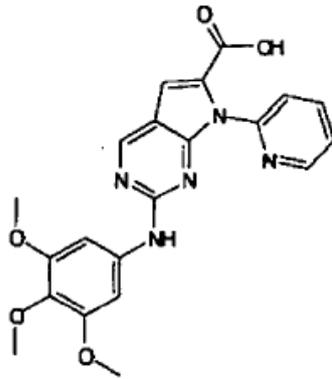
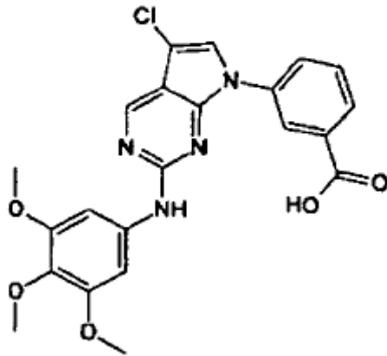


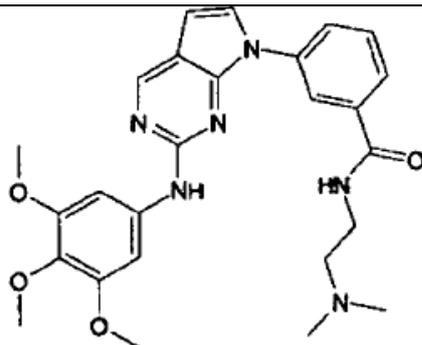
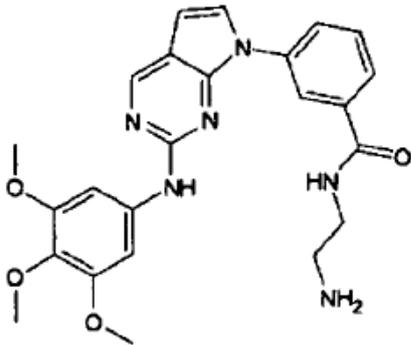
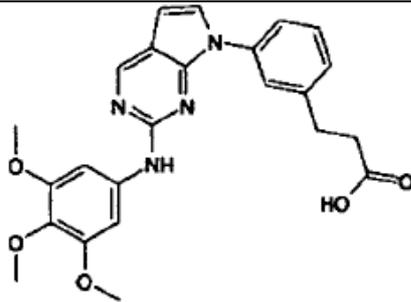
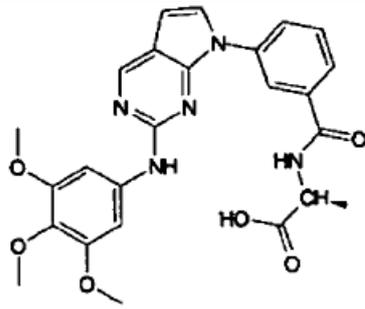


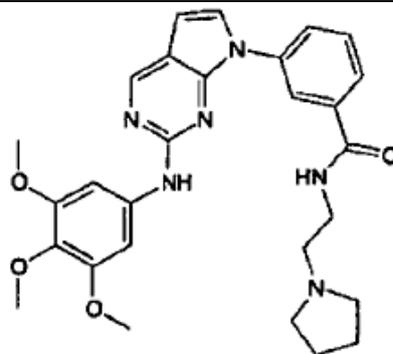
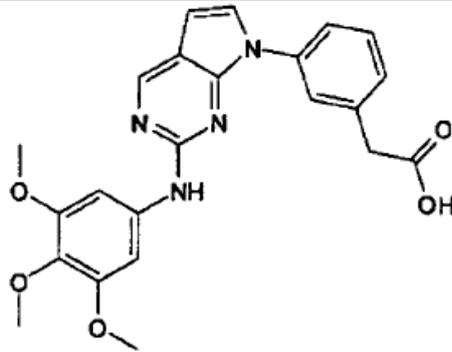
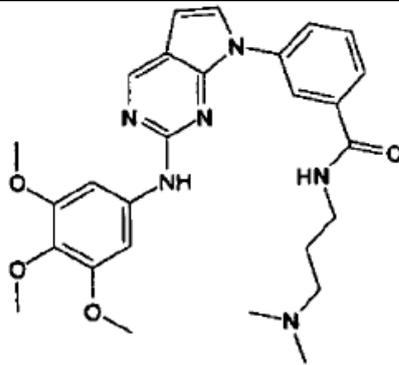
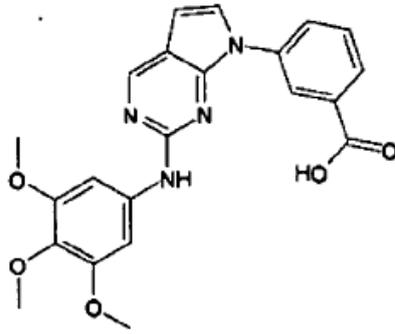


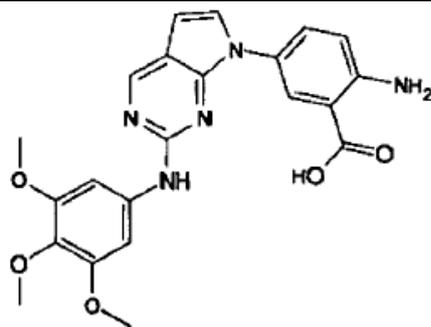
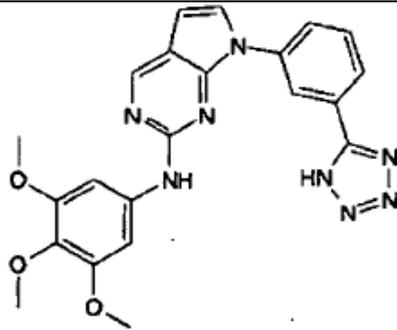
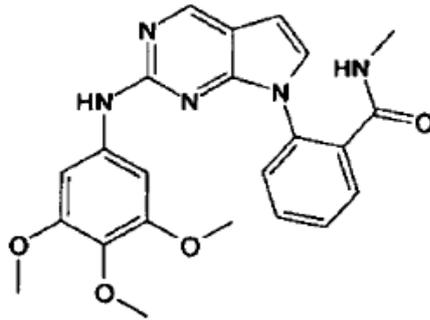
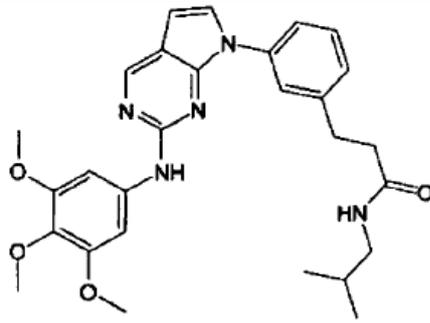


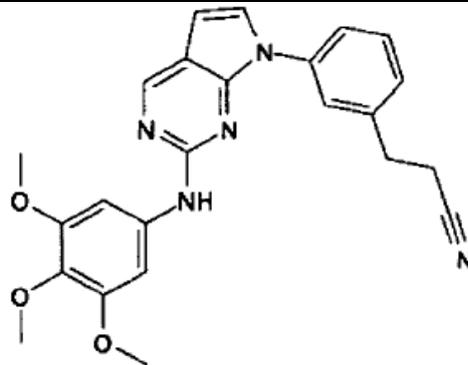
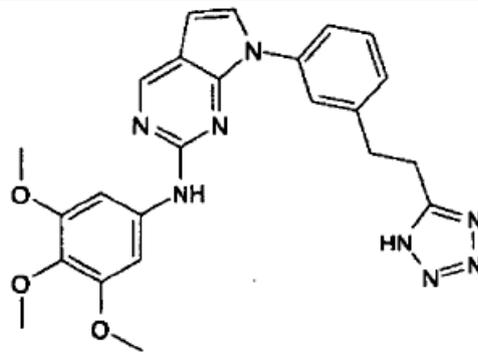
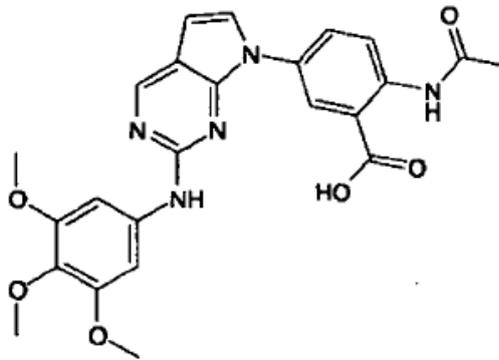
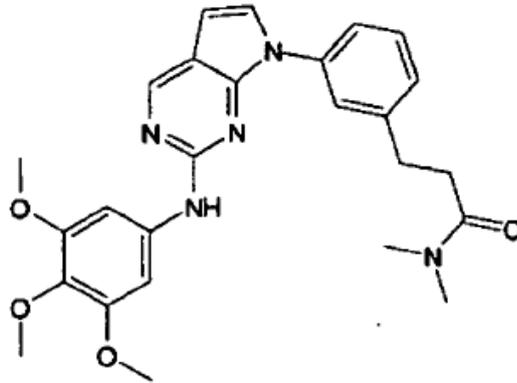


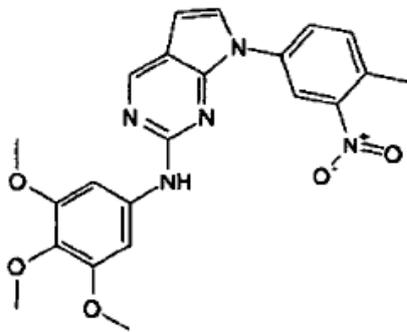
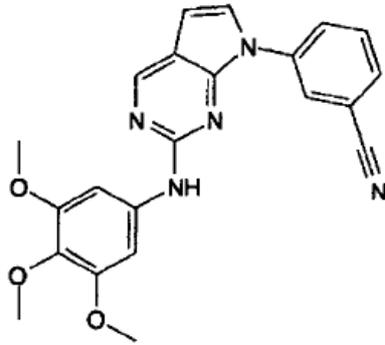
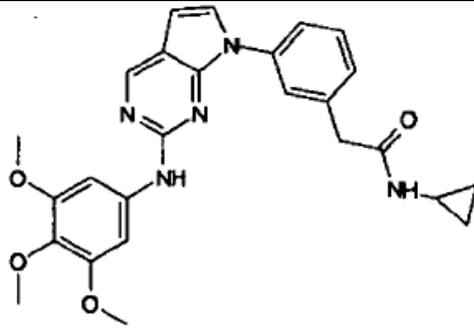
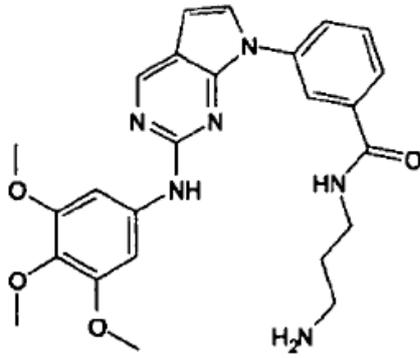


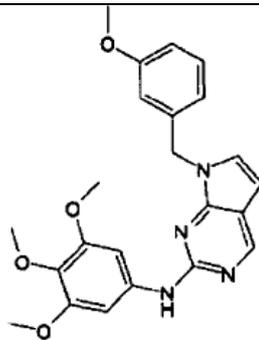
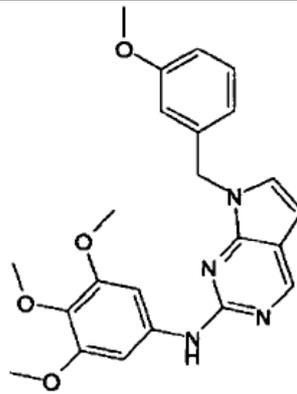
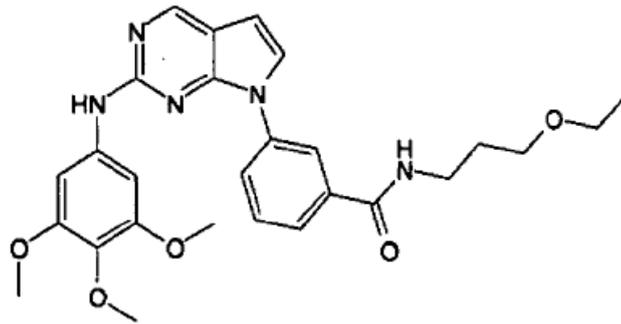
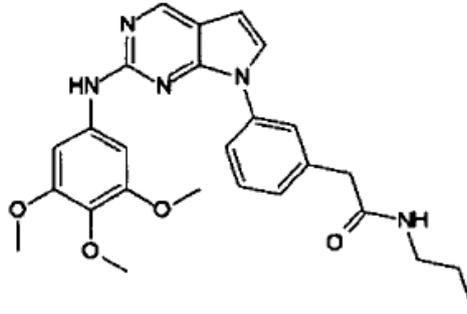


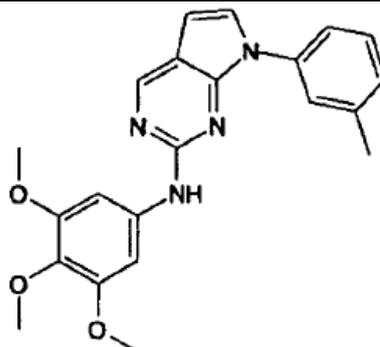
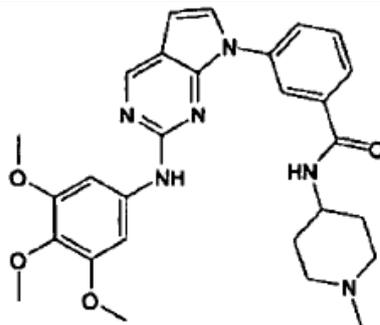
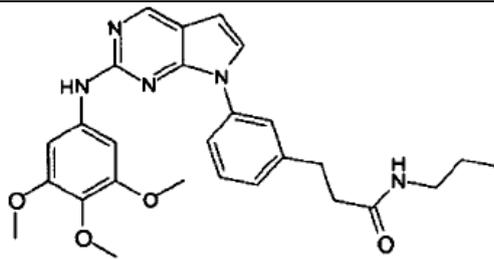
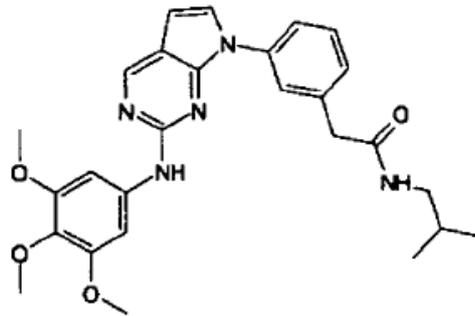
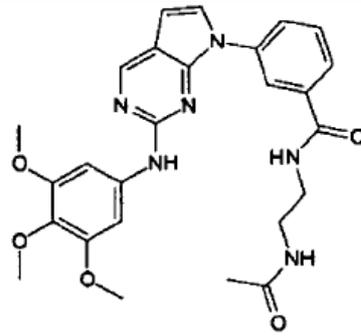


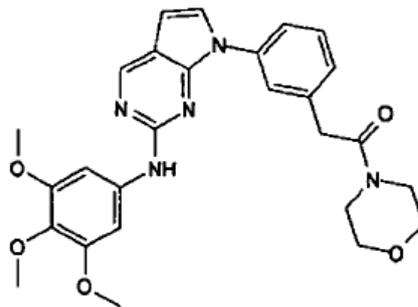
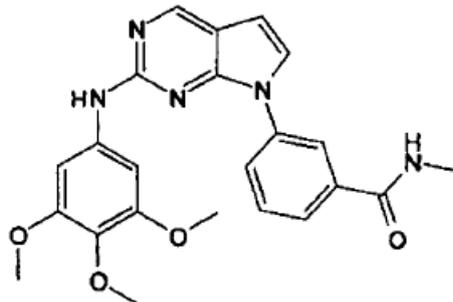
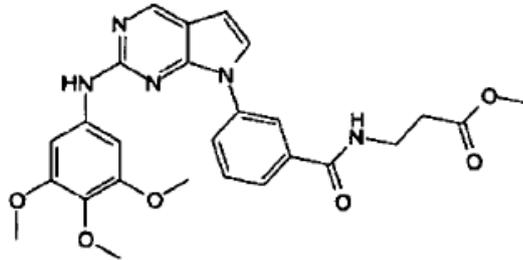
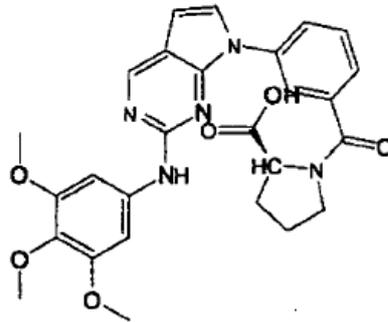
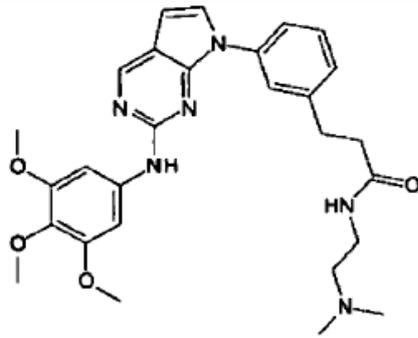


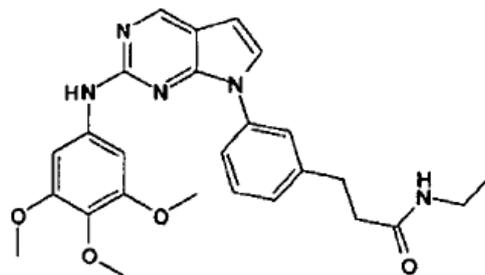
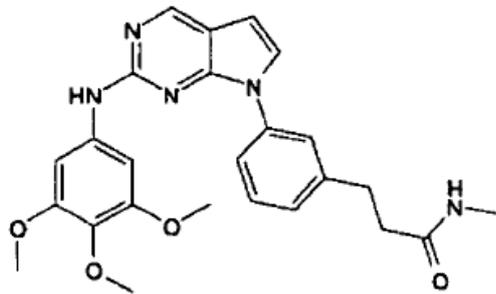
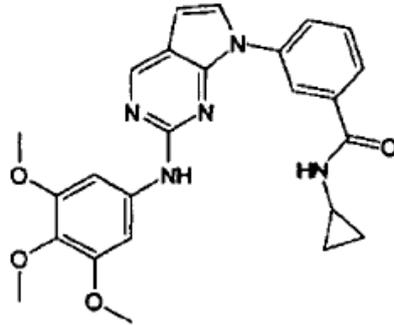
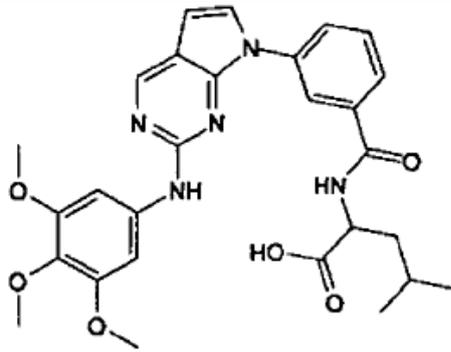
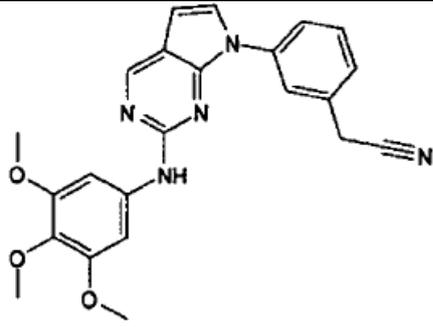


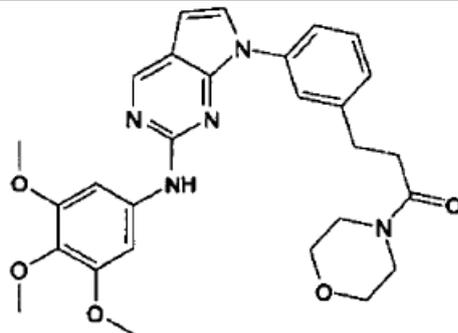
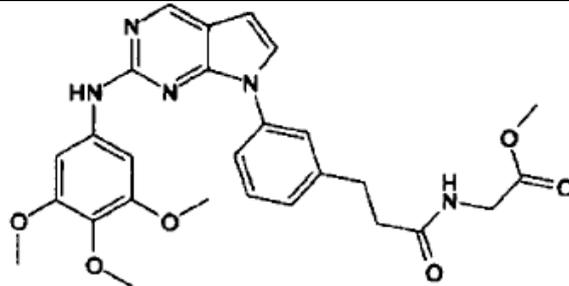
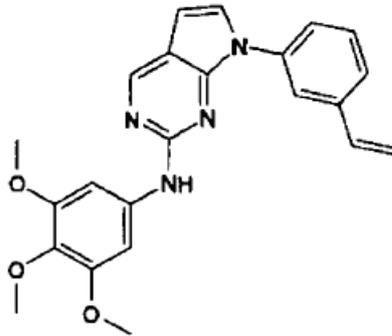
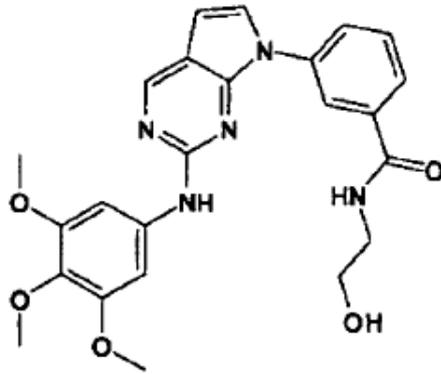


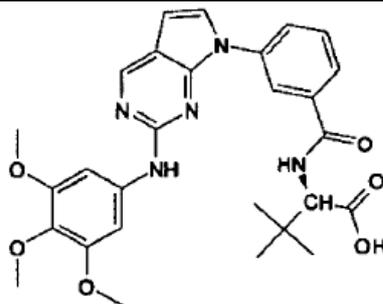
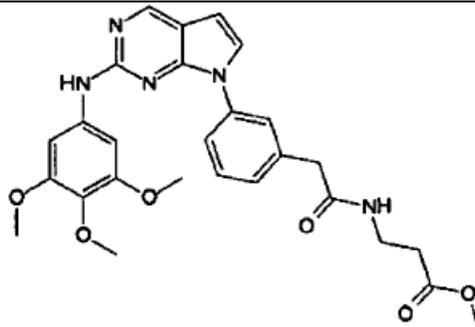
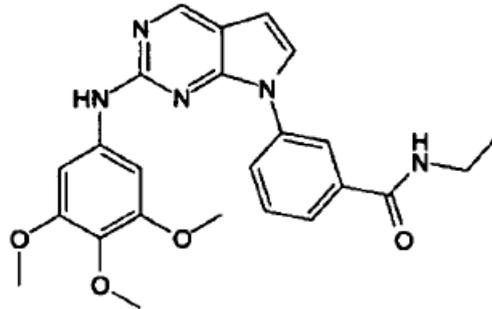
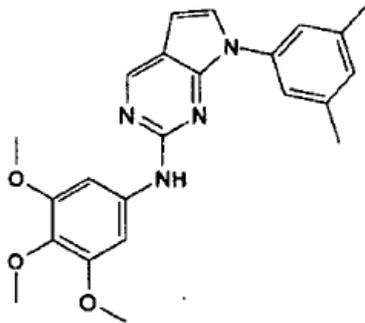
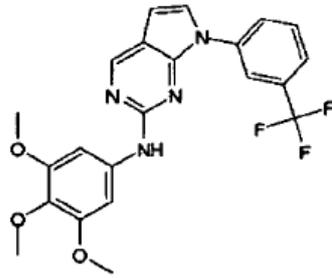


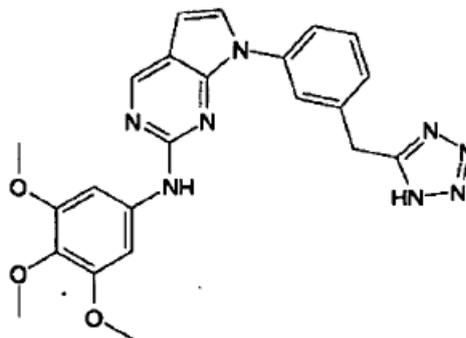
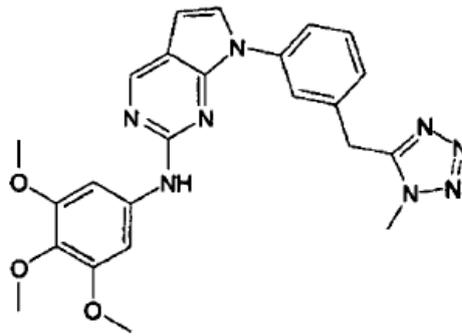
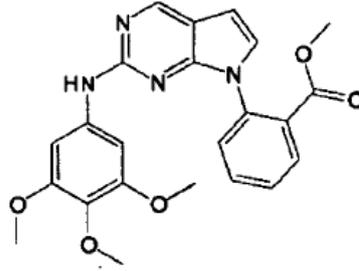
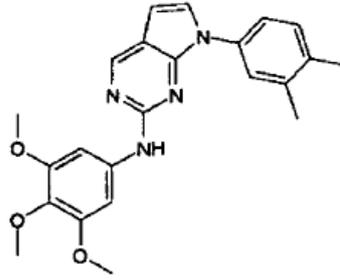


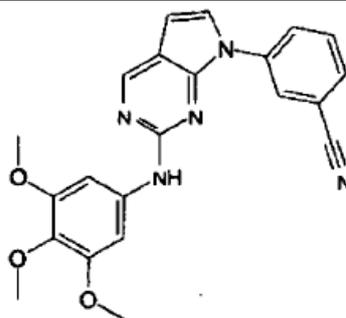
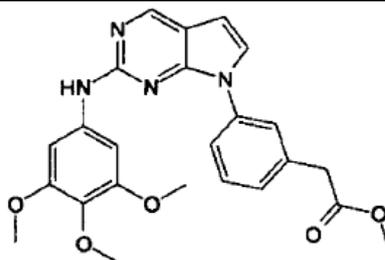
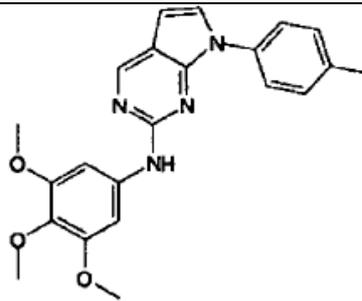
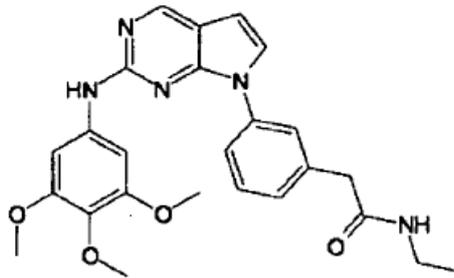
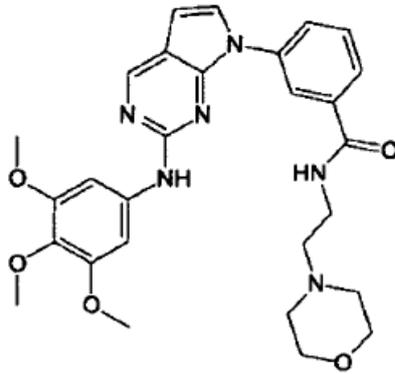


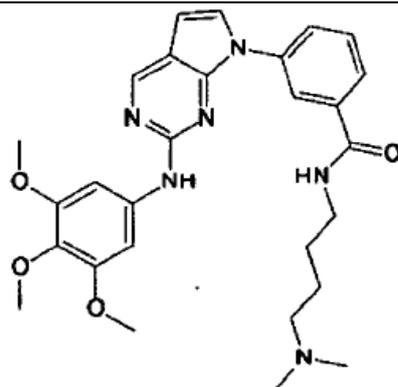
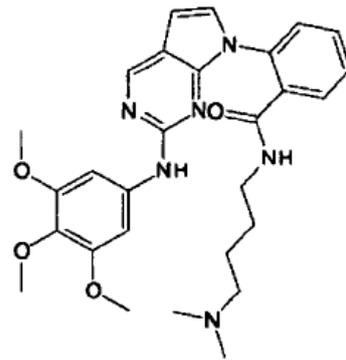
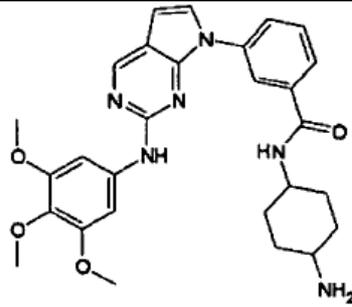
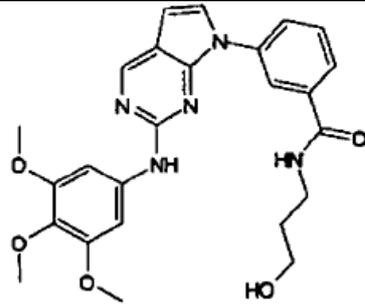


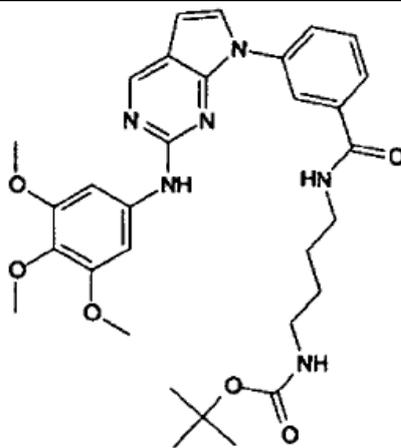
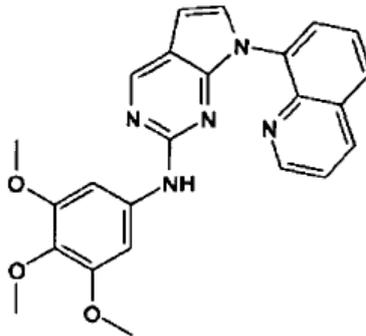
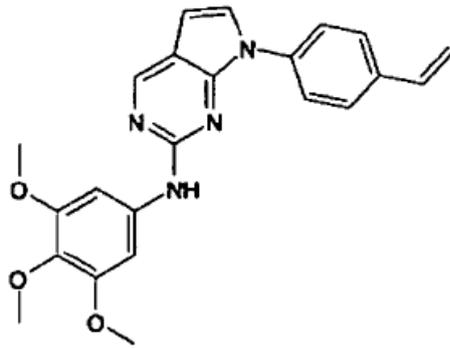
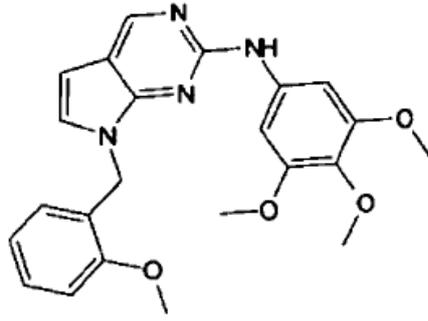


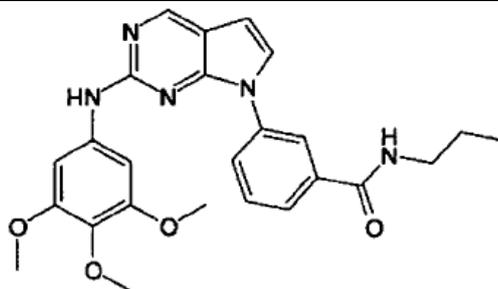
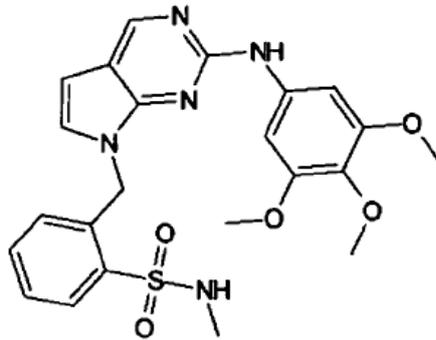
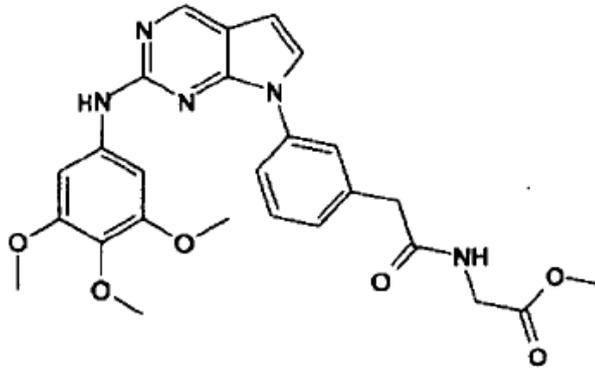
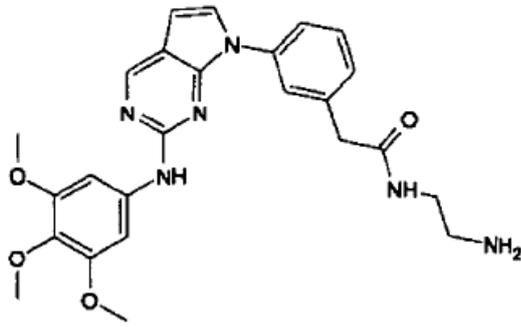


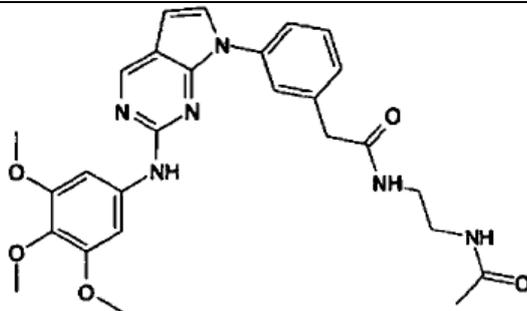
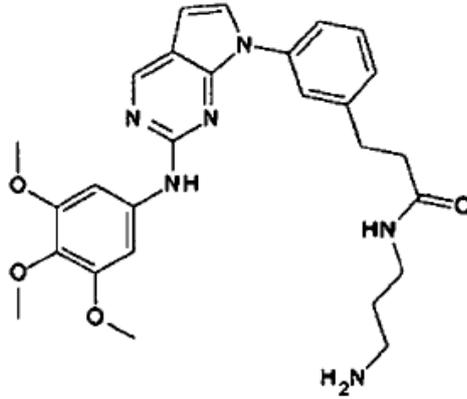
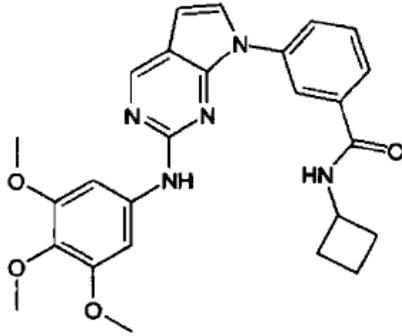
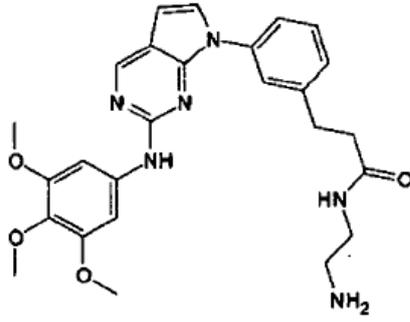


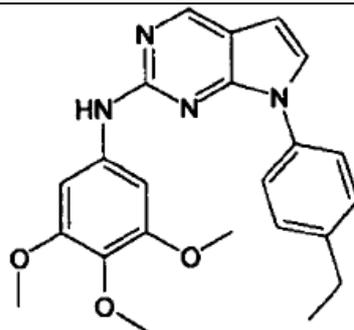
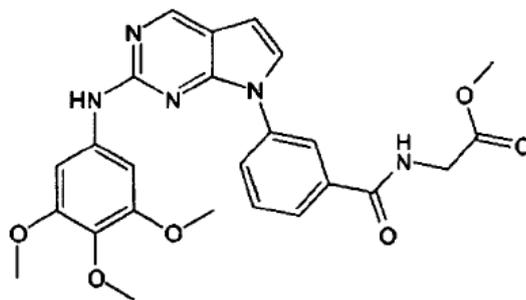
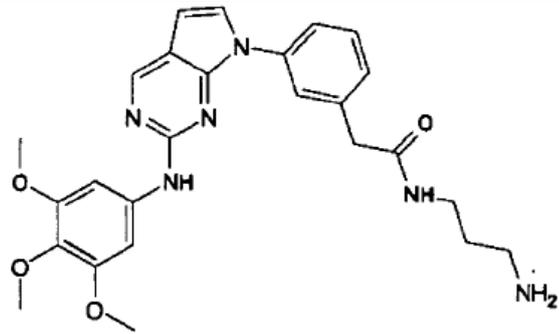
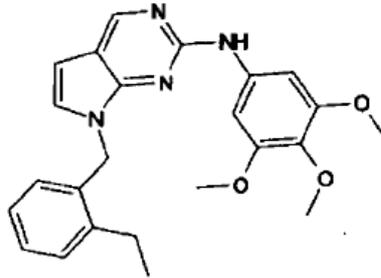
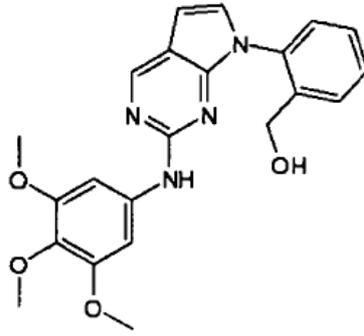


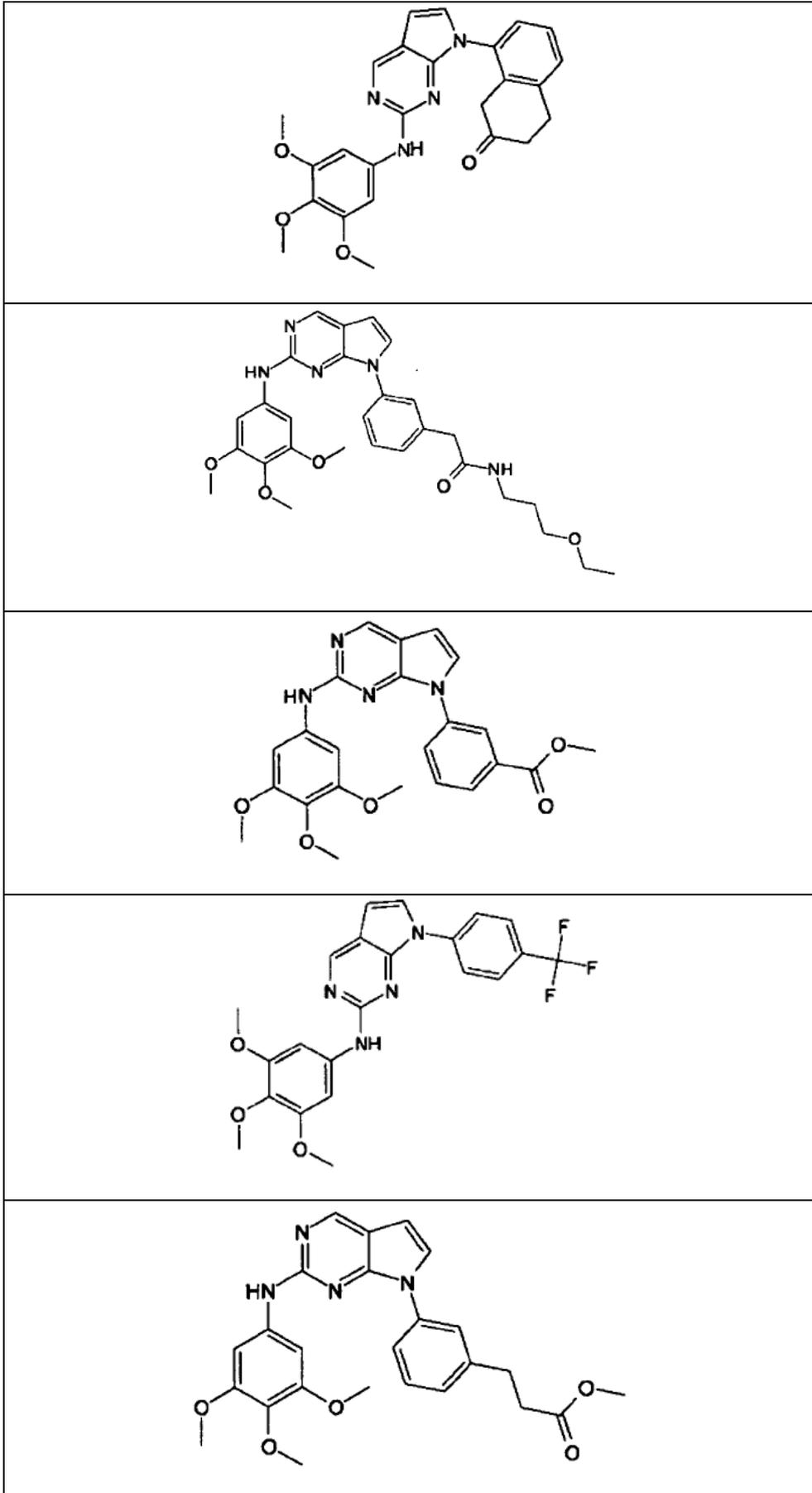


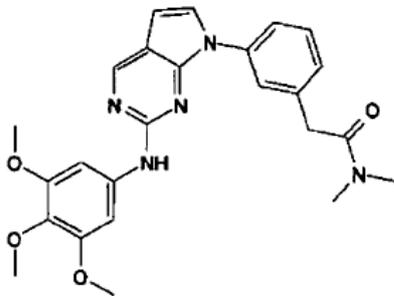
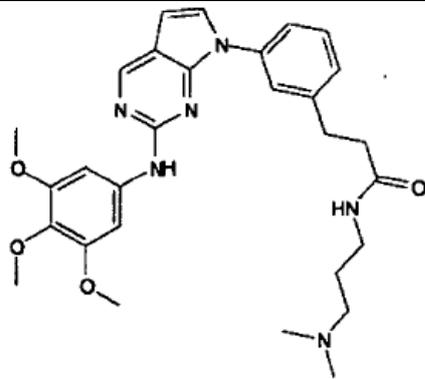
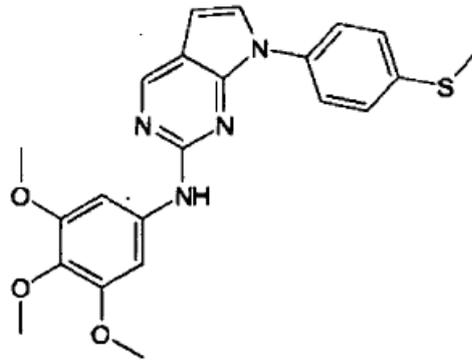
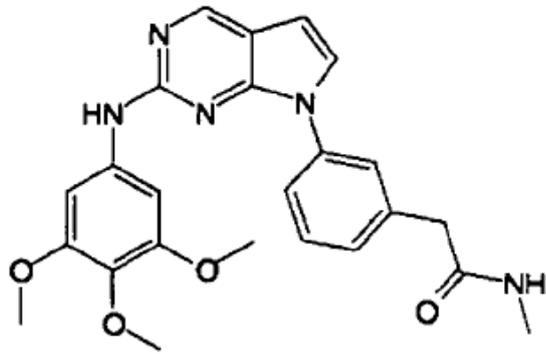


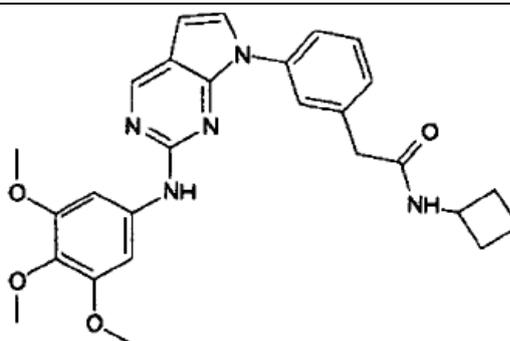
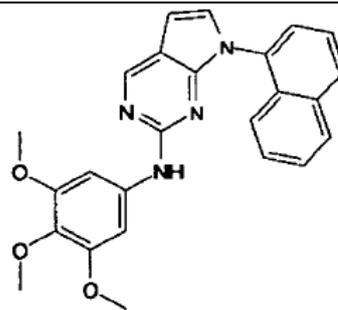
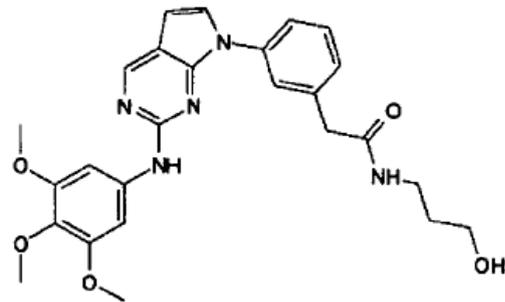
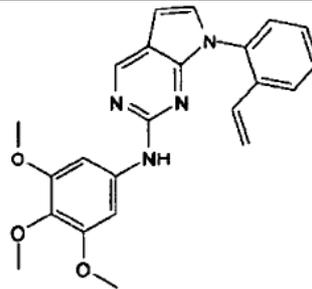
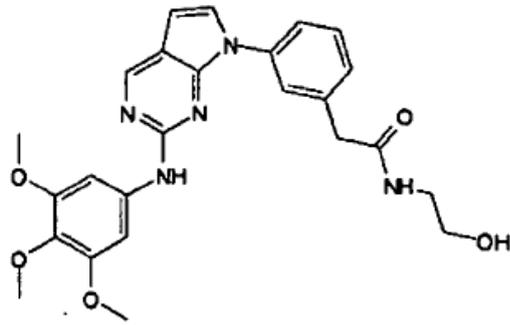


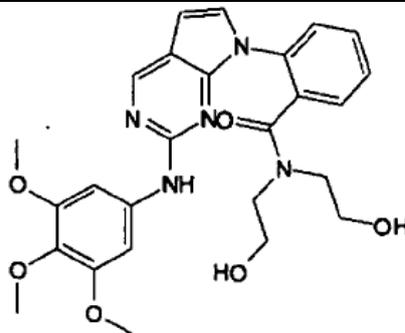
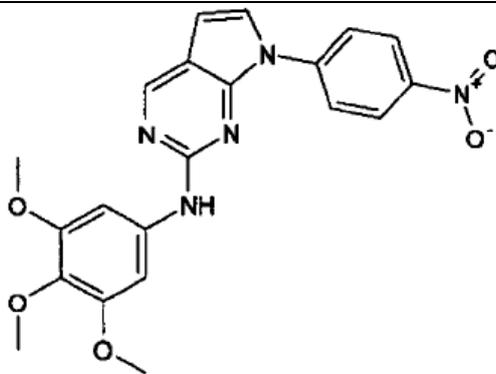
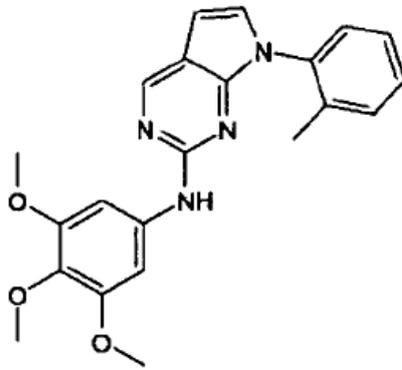
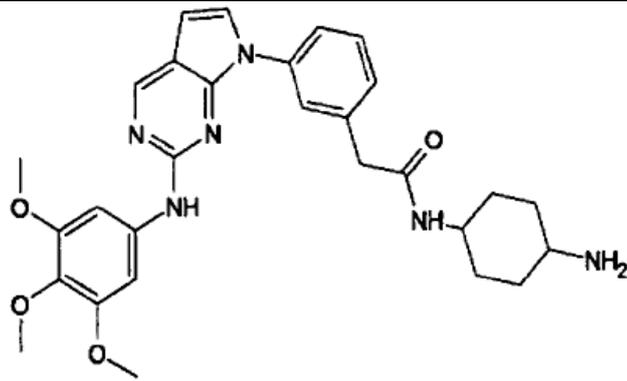


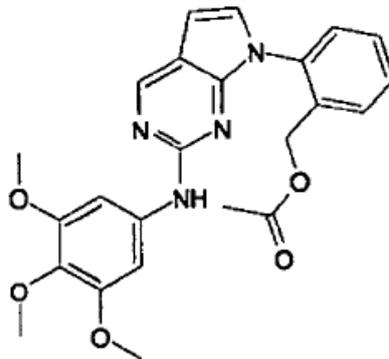
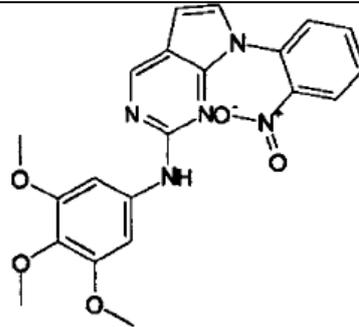
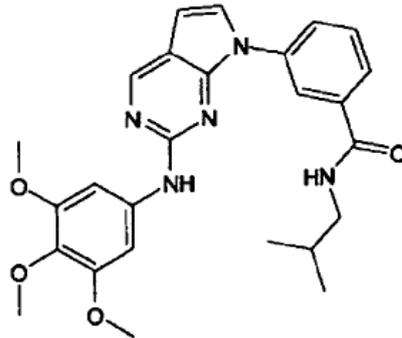
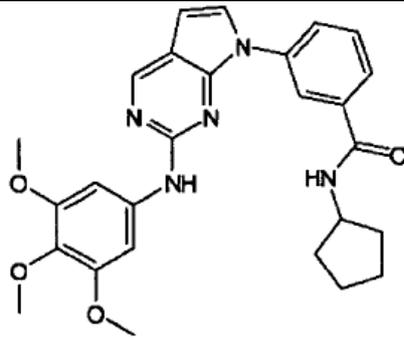


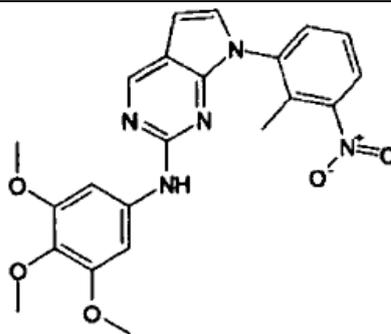
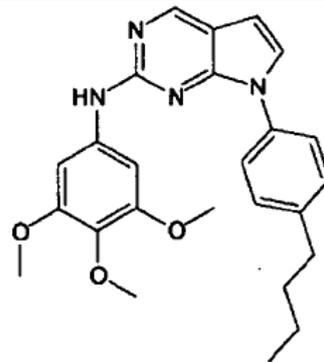
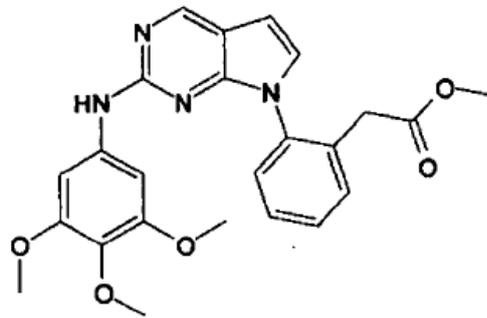
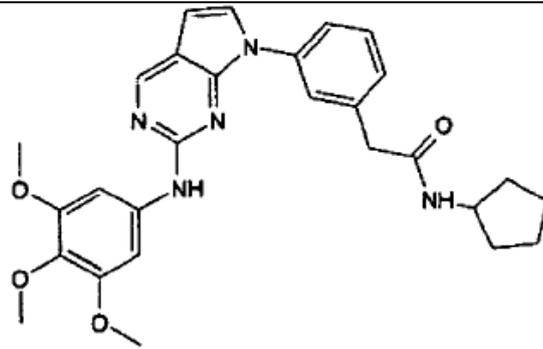


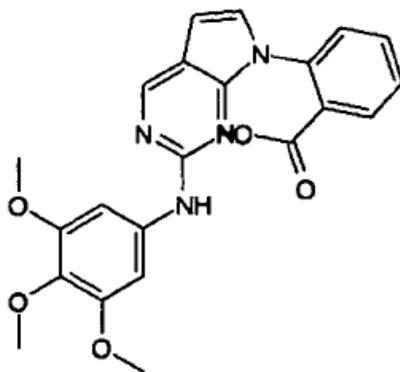
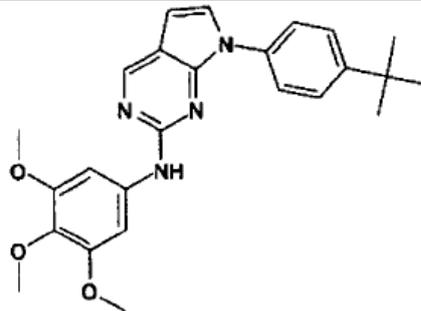
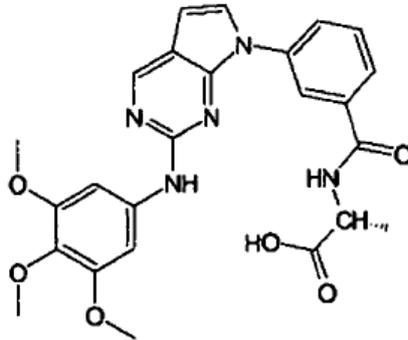
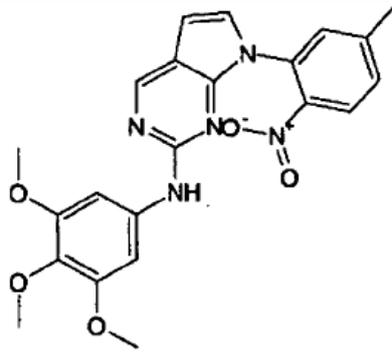


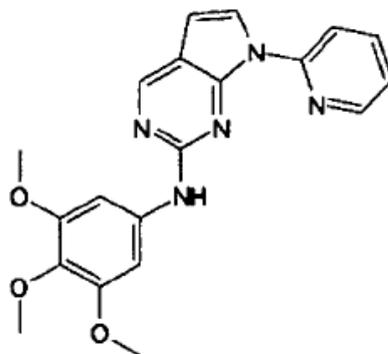
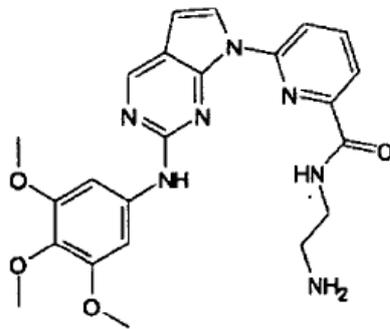
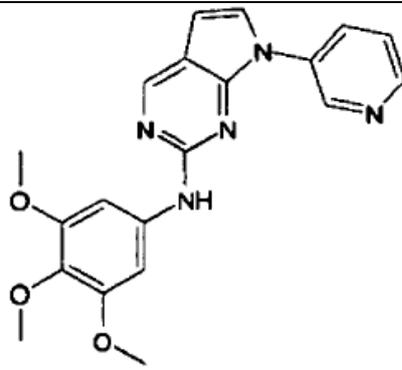
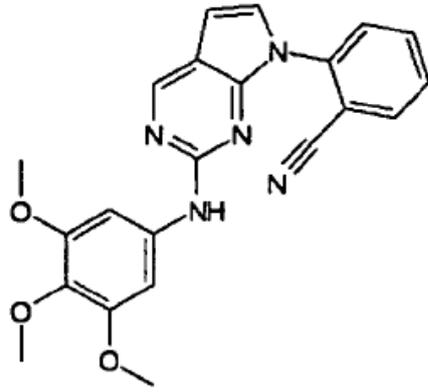


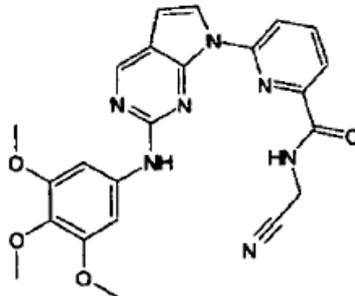
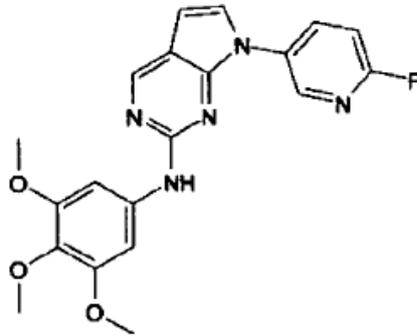
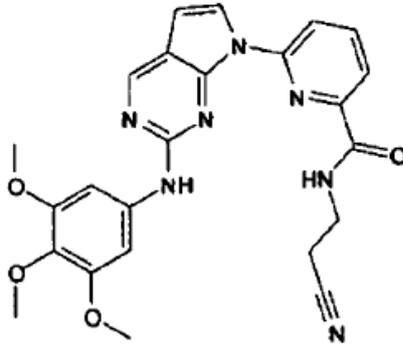
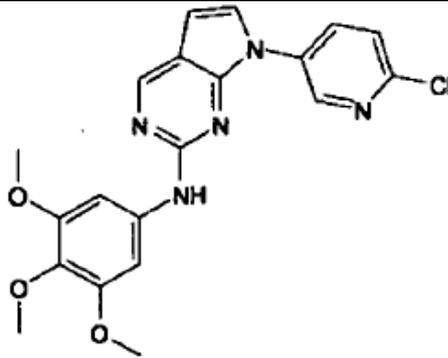


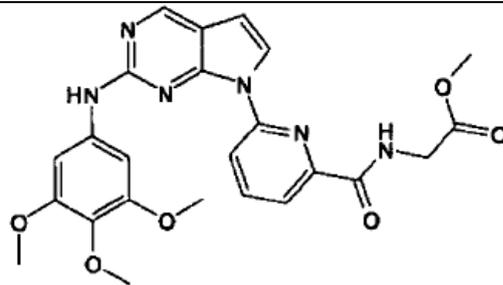
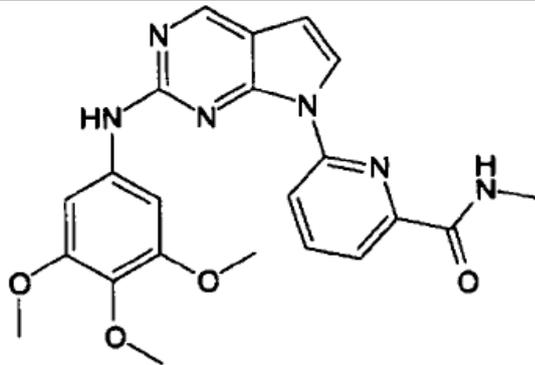
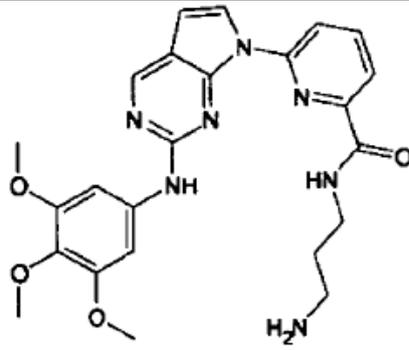
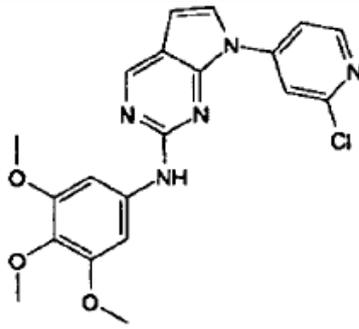


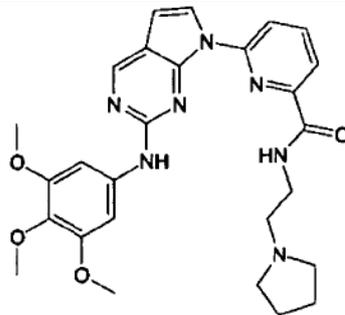
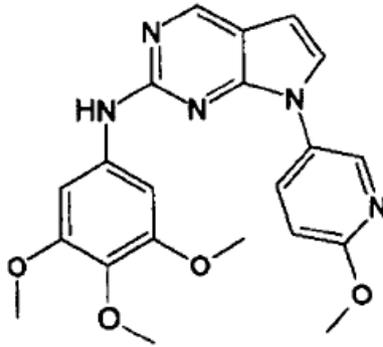
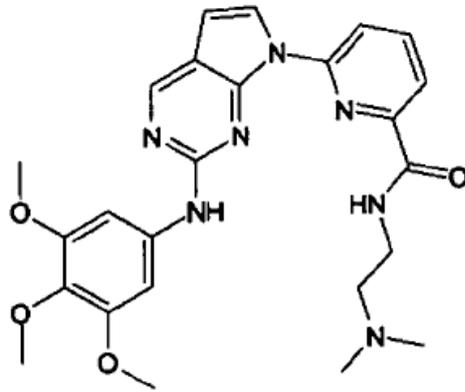
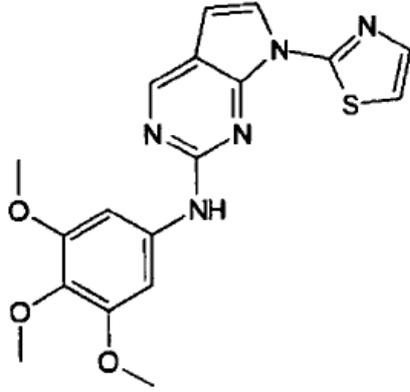


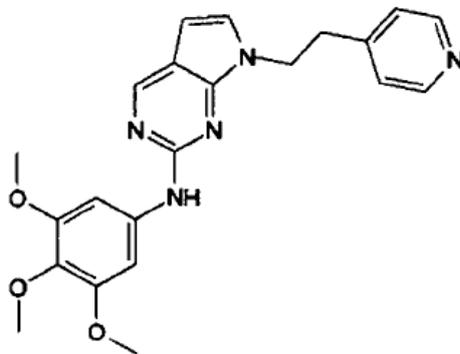
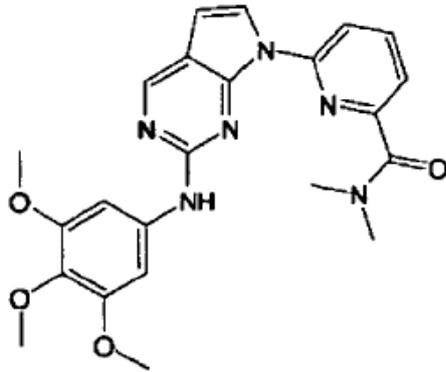
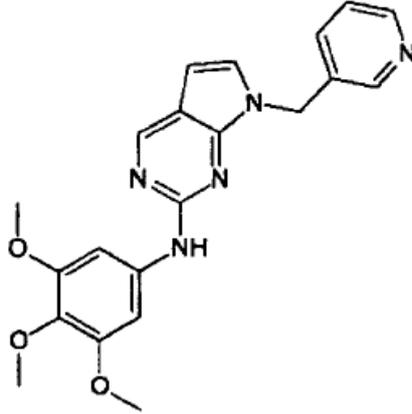
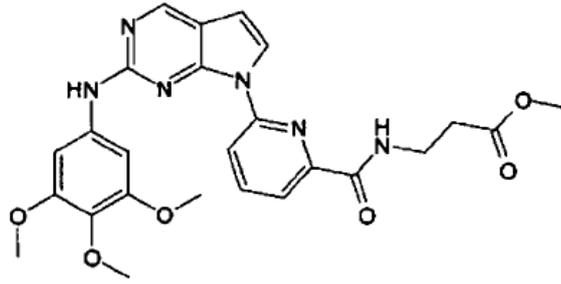


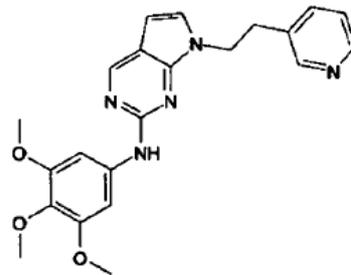
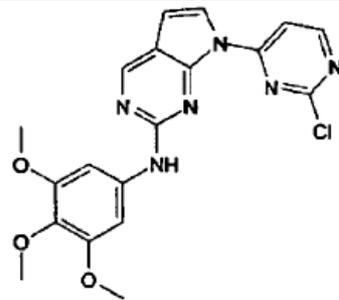
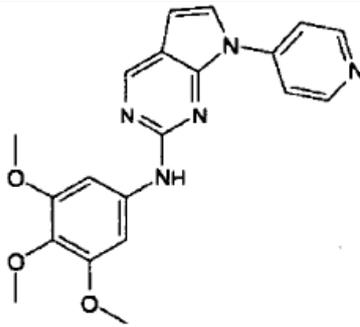
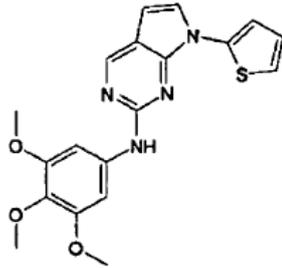
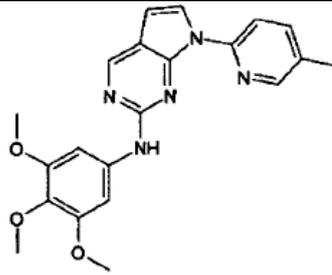


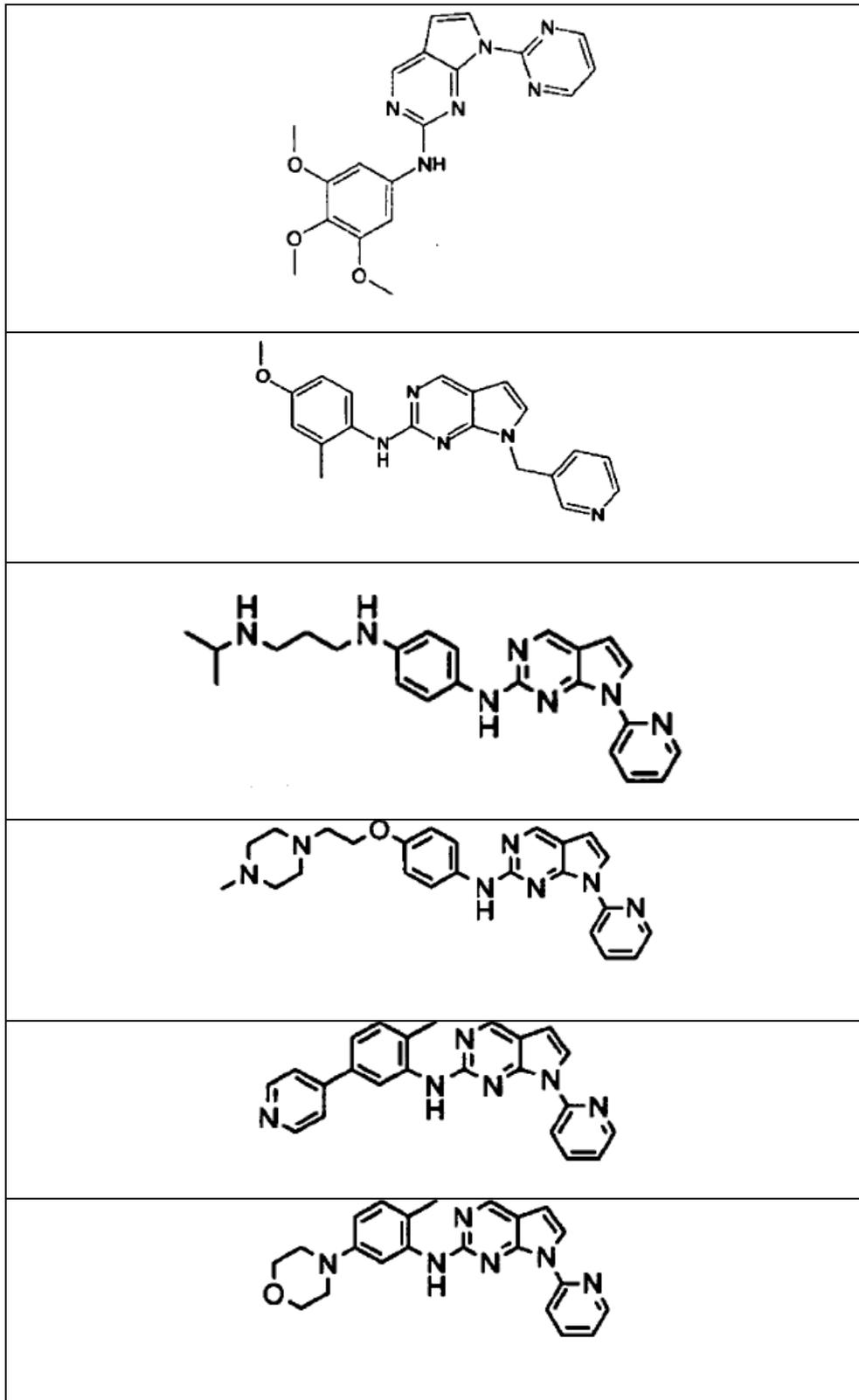


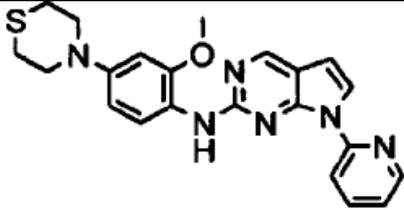
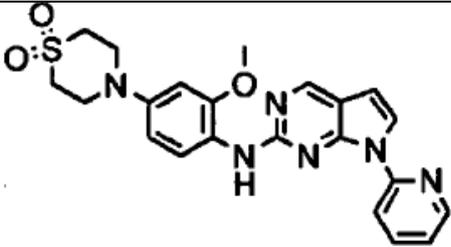
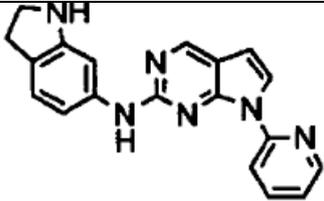
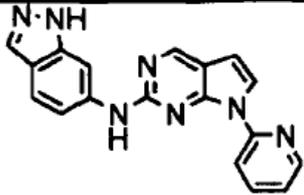
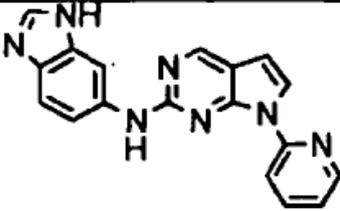
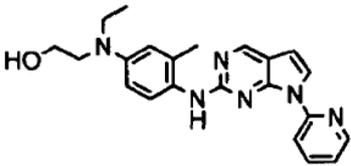
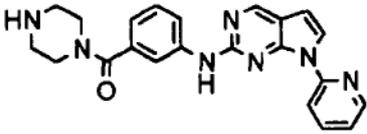










7. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva terapéuticamente de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable.
8. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para utilizar en el tratamiento del cáncer.
- 5 9. Un compuesto para utilizar de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el cáncer es un cáncer seleccionado de una enfermedad tumoral, un glioma, sarcoma, tumor de próstata, tumor del colon, de mama, de ovario; cáncer oral; trastorno angiogénico; leucemia (incluyendo leucemia mieloide crónica (LMC), leucemia mieloide aguda (LMA), LMA con mielodisplasia trilineaje (LMA/SMDT), leucemia linfoblástica aguda (LLA), y síndrome mielodisplásico (SMD)), carcinogénesis, melanoma, enfermedades hematológicas y neoplásicas.
- 10 10. Uso de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.
- 15 11. Uso de acuerdo con la reivindicación 10, cuando el cáncer es un cáncer seleccionado de una enfermedad tumoral, glioma, sarcoma, tumor de próstata, tumor del colon, de mama, de ovario; cáncer oral; trastorno angiogénico; leucemia (incluyendo leucemia mieloide crónica (LMC), leucemia mieloide aguda (LMA), LMA con mielodisplasia trilineaje (LMA/SMDT), leucemia linfoblástica aguda (LLA), y síndrome mielodisplásico (SMD)), carcinogénesis, melanoma, enfermedades hematológicas y neoplásicas.
12. Una cantidad efectiva terapéuticamente de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en combinación con uno o más agentes terapéuticos.