

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 430 053**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.06.2009** **E 09763288 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.07.2013** **EP 2303885**

54 Título: **Procedimiento para producir derivados de bicicloanilina**

30 Prioridad:

**12.06.2008 US 131781**

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

**18.11.2013**

73 Titular/es:

**MERCK SHARP & DOHME CORP. (50.0%)**  
**126 East Lincoln Avenue**  
**Rahway, NJ 07065-0907, US y**  
**MSD K.K. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**FURUKAWA, SHUNTARO;**  
**IKENO, TAKETO;**  
**KATO, SHINJI;**  
**KAWASAKI, MASASHI;**  
**KOJIMA, HISAKI;**  
**MINAGAWA, WATARU;**  
**SAWADA, NAOTAKA;**  
**YAMAMOTO, FUYUKI;**  
**LOHANI, SACHIN y**  
**WANG, YALING**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 430 053 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

Procedimiento para producir derivados de bicicloanilina

**Campo técnico**

5 La presente invención es útil en el campo de medicina. Más precisamente, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un hidrato de 3-(2,6-diclorofenil)-4-imino-7-[(2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropan-1,4'-isoquinolin]-7'-il)amino]-3,4-dihidropirimido[4,5-d]pirimidin-2(1H)-ona (Compuesto A) o de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto A y una forma cristalina del Compuesto A o de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto A, que son útiles en el campo del tratamiento de diversos cánceres como un inhibidor de quinasa, especialmente como un inhibidor de quinasa Weel y también se refiere a un intermedio novedoso necesario para producir la misma y un procedimiento para producir la misma.

**Antecedentes de la técnica**

15 Las células tienen un mecanismo de control de forma que, cuando el ADN en la misma está dañado, las células detienen de forma temporal el ciclo celular y reparan el ADN dañado (Cell Proliferation, Vol. 33, págs. 261-274). En aproximadamente la mitad de los cánceres humanos, un gen supresor del cáncer, p53, está mutado o agotado y por lo tanto las células han perdido la función de control de G1 del mismo. Sin embargo, tales células cancerosas aún mantienen la función de control de G2 restante en las mismas, lo cual se considera que es un factor que reduce la sensibilidad de las células a agentes anticáncer activos en DNA y a radiaciones.

20 Una quinasa Weel es una tirosina quinasa que participa en el control de G2 de un ciclo celular. Weel fosforila la tirosina Cdc2(Cdk1) 15 que participa en el avance a la fase M desde la fase G2 en un ciclo celular, inactivando de ese modo Cdc2 y deteniendo de forma temporal el ciclo celular en la fase G2 (The EMBO Journal, Vol. 12, págs. 75-85). Por consiguiente, en células de cáncer que han perdido la función de p53 en las mismas se considera que la función de control de G2 mediante Weel es importante para reparar el ADN dañado de modo que evite la muerte celular. Hasta ahora, se ha informado que la reducción de la expresión de Weel mediante interferencia de ARN o la inhibición de Weel mediante compuestos puede aumentar la sensibilidad de células de cáncer frente a adriamicina, rayos X o rayos gamma (Cancer Biology & Therapy, Vol. 3, págs. 305-313; Cancer Research, Vol. 61, págs. 8211-8217). A partir de lo anterior, se considera que un inhibidor de Weel puede inhibir la función de control de G2 de células de cáncer con p53 agotado, mejorando de este modo la sensibilidad de las células a agentes anticáncer activos en ADN y a radiaciones.

30 Como un inhibidor de quinasa Weel de bajo peso molecular se conocen, por ejemplo, compuestos descritos en la Solicitud de Estados Unidos 2005/0250836, documento WO2003/091255, Cancer Research, Vol. 61, págs. 8211-8217, o Bioorg & Med. Chem. Lett., Vol. 15, págs. 1931-1935. Sin embargo, los compuestos descritos en estas referencias difieren bastante de los compuestos de la invención en términos de sus estructuras.

35 Por otra parte, la solicitud de la patente Japonesa N° 2007-159217 (presentada el 15 de Junio de 2007) divulga diclorhidrato de Compuesto A *per se* y una forma sólida determinada del mismo, que tienen un efecto inhibidor de quinasa Weel excelente y que son útiles en el campo de tratamiento del cáncer.

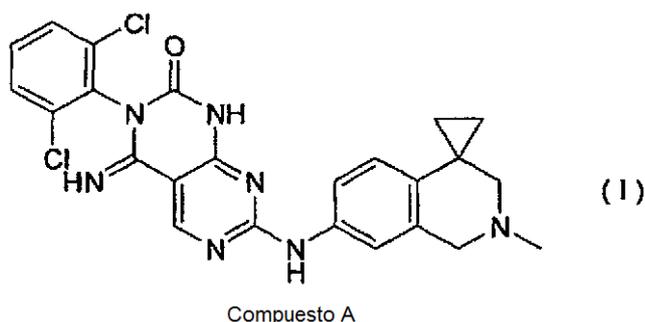
El documento WO 2007/126122 describe derivados de dihidropirazolopirimidinona como inhibidores de quinasa Weel.

**Breve descripción de las figuras**

La Figura 1 es el patrón XRPD para una forma cristalina de un hidrato 3.5 de diclorhidrato del Compuesto A.

**Descripción de la Invención**

La invención proporciona un nuevo hidrato del Compuesto A o hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto A de fórmula (I):



y una forma Cristalina del Compuesto A o de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto A.

5 El hidrato novedoso de Compuesto A o el hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A y una forma cristalina de Compuesto A o de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A, se pueden proporcionar de forma estable y constante desde el punto de vista del procedimiento de fabricación y los mismos son útiles en el campo del tratamiento del cáncer.

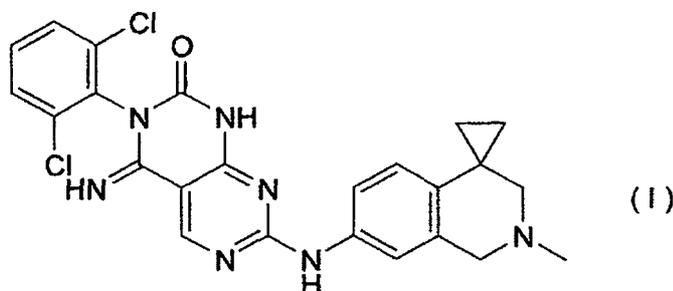
10 El hidrato de Compuesto A novedoso o el hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A y una forma cristalina de Compuesto A o de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A, así como también el Compuesto A *per se* o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tienen efecto inhibidor de quinasa, especialmente un efecto inhibidor de quinasa Weel y por lo tanto son útiles como agentes farmacéuticos para tratamiento de diversos cánceres tales como cáncer cerebral, cáncer cérvicocerebral, cáncer esofágico, cáncer de tiroides, cáncer de células pequeñas, cáncer de células no pequeñas, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de estómago, cáncer de vesícula biliar/conducto biliar, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer ovárico, coriocarcinoma, cáncer de cuerpo del útero, cáncer úterocervical, cáncer de pelvis renal/uréter, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de pene, cáncer de testículos, cáncer fetal, cáncer de Wilm, cáncer de piel, melanoma maligno, neuroblastoma, osteosarcoma, tumor de Ewing, sarcoma de partes blandas, leucemia aguda, leucemia linfática crónica, leucemia mielocítica crónica, linfoma de Hodgkin.

15 En particular, las formas cristalinas novedosas de un hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A, así como también Compuesto A *per se* o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, son útiles como agentes farmacéuticos, por ejemplo, para el tratamiento del cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer ovárico, leucemia aguda, leucemia linfática crónica, leucemia mielocítica crónica y linfoma de Hodgkin.

20 La expresión "Compuesto A" , como se denomina en el presente documento, se refiere a un compuesto de la fórmula química estructural descrita anteriormente e incluye cualquier forma amorfa, formas cristalinas polimórficas, hidrato, solvato y la mezcla de los mismos.

25 Es decir, la presente invención se refiere a las siguientes invenciones.

(1) Un hidrato del Compuesto A o un hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto A de fórmula (I):



(2) Un hidrato de diclorhidrato del Compuesto A de fórmula (I).

30 (3) Una forma cristalina de un hidrato del Compuesto A de fórmula (I) o de un hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto A de fórmula (I).

(4) Una forma cristalina de un hidrato de diclorhidrato del Compuesto A de fórmula (I).

(5) La forma cristalina de acuerdo con el apartado (4) anterior, en la que el hidrato es un hidrato 3,5.

35 (6) La forma cristalina de acuerdo con el apartado (5) anterior, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X, obtenido usando una radiación CuK alfa, que contiene los siguientes valores de ángulo 2 theta: 8,4°, 22,3° y 24,9°, and al menos un valor de ángulo 2 theta seleccionado entre el grupo que consiste en: 12,7°, 15,3°, 16,3°, 24,4°, 26,5° y 28,6°.

(7) Un procedimiento para la preparación de una forma cristalina de un hidrato 3,5 de diclorhidrato del Compuesto A de fórmula (I), que comprende las etapas de:

40 (a) concentrar una solución del Compuesto A en un disolvente orgánico para formar una suspensión;  
 (b) tratar la suspensión de la etapa (a) con cloruro de hidrógeno en un disolvente con calentamiento;  
 (c) enfriar la suspensión de la etapa (b) a temperatura ambiente;  
 (d) recoger los cristales de la suspensión resultante de la etapa (c);  
 (e) secar los cristales de la etapa (d); y  
 45 (f) tratar los cristales secados de la etapa (e) con un gas inerte a la humedad para estabilizar el contenido en agua en la forma cristalina deseada.

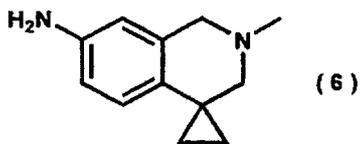
(8) Una forma cristalina de diclorhidrato del Compuesto A de fórmula (I), que se prepara por el procedimiento de

acuerdo con el apartado (7) anterior.

(9) Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los apartados (1)-(6) u (8) anteriores, y un vehículo o un diluyente farmacéuticamente aceptables.

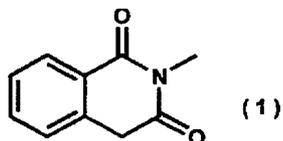
5 La presente invención también se refiere a un nuevo intermedio necesario para la producción del compuesto anterior y a un procedimiento para la producción del intermedio. Es decir, la presente invención también se refiere a la siguiente invención.

(10) Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (6):

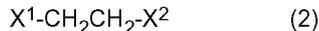


10 o una sal del mismo, que comprende las etapas de:

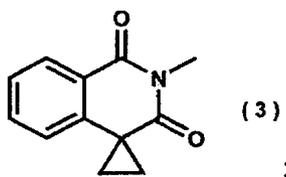
(a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (1):



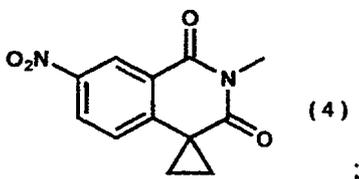
con un compuesto de fórmula (2):



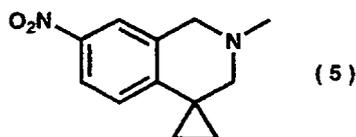
15 en la que cada uno de  $X^1$  y  $X^2$  es independientemente un grupo saliente, para obtener un compuesto de fórmula (3):



(b) nitrar un compuesto de fórmula (3) para obtener un compuesto de fórmula (4):



20 (c) reducir los grupos oxo del compuesto de fórmula (4) para obtener un compuesto de fórmula (5):



o una sal del mismo;

(d) reducir un grupo nitro del compuesto de fórmula (5) o una sal del mismo para obtener un compuesto de

fórmula (6) o una sal del mismo; y opcionalmente convertir dicho compuesto de fórmula (6) en una sal del mismo.

En un aspecto, la forma cristalina de un hidrato 3,5 de diclorhidrato del Compuesto A se identifica mediante un patrón de difracción de polvo de rayos X, obtenido usando una radiación CuK alfa, que contiene los siguientes valores de ángulo 2 theta : 8,4°, 22,3° y 24,9°.

5 En otro aspecto, la forma cristalina de un hidrato 3,5 de diclorhidrato del Compuesto A se identifica mediante un Patrón de difracción de polvo de rayos X, obtenido usando una radiación CuK alfa, que contiene los siguientes valores de ángulo 2 theta : 8,4°, 22,3° y 24,9°, y al menos un valor de ángulo 2 theta seleccionado entre el grupo que consiste en: 12,7°, 15,3°, 16,3°, 24,4°, 26,5° y 28,6°.

10 En otro aspecto, la forma cristalina de un hidrato 3,5 de diclorhidrato del Compuesto A se identifica mediante un Patrón de difracción de polvo de rayos X, obtenido usando una radiación CuK alfa, que contiene los siguientes valores de ángulo 2 theta : 8,4°, 22,3°, 24,9° y 12,7°.

15 Los análisis numéricos para identificar las diversas formas de la invención deben hacerse objetivamente considerando que los valores pueden incluir algún error experimental dependiendo de las condiciones de medición. Por lo tanto, la invención incluye cualquiera de las formas identificadas sustancialmente mediante los valores mencionados anteriormente para la identificación.

En un aspecto, la invención proporciona un proceso para preparar una forma cristalina de un hidrato 3,5 de diclorhidrato del Compuesto A, que comprende las etapas de:

20 (a) concentrar una solución del Compuesto A en un disolvente orgánico para formar una suspensión;  
 (b) tratar la suspensión de la etapa (a) con cloruro de hidrógeno en un disolvente con calentamiento;  
 (c) enfriar la suspensión de la etapa (b) a temperatura ambiente;  
 (d) recoger los cristales de la suspensión resultante de la etapa (c);  
 (e) secar los cristales de la etapa (d); y  
 (f) tratar los cristales secados de la etapa (e) con un gas inerte a la humedad para estabilizar el contenido de agua en la forma cristalina deseada.

25 En una realización, la solución del Compuesto A en un disolvente orgánico es una solución de una base libre del Compuesto A y dicho disolvente orgánico es un disolvente que contiene alcohol.

En otra realización, el alcohol para el disolvente que contiene alcohol se selecciona entre: metanol, etanol, propanol, isopropanol, etc. y una mezcla de los mismos, preferentemente metanol y etanol.

30 En otra realización más, el disolvente que contiene alcohol puede contener disolventes orgánicos o inorgánicos distintos de alcohol, tales como cloroformo, diclorometano, *N,N*-dimetilformamida y agua.

35 En una realización, la solución de una base libre del Compuesto A se prepara tratando una suspensión de diclorhidrato del Compuesto A en un disolvente orgánico, tal como cloroformo, metanol y una mezcla de los mismos, con una base, preferentemente, una solución de base inorgánica acuosa, incluyendo hidrogenocarbonato sódico, carbonato sódico, carbonato potásico, carbonato de cesio, hidróxido sódico, hidróxido potásico y una mezcla de los mismos, y después separando una fase orgánica que incluye la base libre del Compuesto A.

En otra realización, dicha solución de base inorgánica acuosa incluye una solución de hidrogenocarbonato sódico acuoso cuya concentración puede ser del 1-10 %, preferentemente del 3-8 %.

En otra realización más, se usa una cantidad molar excesiva de la base en relación a un mol de diclorhidrato del Compuesto A.

40 En una realización, el cloruro de hidrógeno en un disolvente de la etapa (b) es cloruro hidrógeno en disolventes orgánicos o inorgánicos, tales como alcohol, preferentemente metanol o etanol, y agua, más preferentemente etanol.

En una realización, se añaden cristales de un hidrato 3,5 de diclorhidrato del Compuesto A a la suspensión de la etapa (b) después de tratamiento con cloruro hidrógeno como cristales de siembra.

En una realización, la etapa (b) se realiza con calentamiento a 45-65 °C, preferentemente a 50-60 °C.

45 En otra realización, la suspensión resultante de la etapa (b) puede madurarse durante 0,5 horas, preferentemente, aproximadamente 1 hora a la misma temperatura de la etapa (b).

En una realización, la temperatura ambiente de la etapa (c) es 10-40 °C, preferentemente 20-30 °C.

En otra realización, la suspensión resultante de la etapa (c) puede madurarse durante 0,5 horas, preferentemente 1-24 horas, más preferentemente durante una noche, es decir, 8-16 horas a temperatura ambiente.

50 En una realización, la recogida de cristales de la etapa (d) se realiza por filtración.

En una realización, el secado de la etapa (e) se realiza en un flujo de gas inerte, tal como helio, argón, nitrógeno y una mezcla de los mismos, preferentemente flujo de gas nitrógeno, durante varias horas y después a presión reducida durante 0,5 horas, preferentemente 1-24 horas, más preferentemente durante una noche, es decir, 8-16 horas a temperatura ambiente, es decir, 10-40 °C, preferentemente 20-30 °C.

- 5 En una realización, el gas inerte de la etapa (f) incluye, pero sin limitación, helio, argón, nitrógeno y una mezcla de los mismos, preferentemente gas nitrógeno.

En una realización, la etapa (f) se realiza a temperatura ambiente, es decir, 10-40 °C, preferentemente 20-30 °C.

En una realización, la humedad relativa del gas inerte a la humedad de la etapa (f) es de aproximadamente 5 % a menos del 100 %.

- 10 En otra realización, la humedad relativa del gas inerte a la humedad de la etapa (f) es del 30 % al 60 %.

En otro aspecto, la invención proporciona una forma cristalina de diclorhidrato del Compuesto A, que se prepara mediante los procedimientos anteriores.

En una realización, el procedimiento para preparar el intermedio anterior se ilustrará con mayor detalle a continuación.

- 15 La etapa (a) de producción de un compuesto de fórmula (3), haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (1) con un compuesto de fórmula (2) puede realizarse de manera tal, que el compuesto (1) se hace reaccionar con un compuesto de fórmula (2) de aproximadamente 1 mol a una cantidad molar excesiva, preferentemente de 1 a 5 moles, en relación a 1 mol del compuesto (1), en un disolvente inerte a aproximadamente de -20 °C a 80 °C, preferentemente de 40 °C a 80 °C durante aproximadamente 1 a 120 horas, preferentemente aproximadamente de 1 a 20 horas.

- 20 El grupo saliente para X<sup>1</sup> o X<sup>2</sup> incluye, por ejemplo, un átomo de halógeno, tal como un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo o un átomo de yodo; un grupo metilsulfinilo; un grupo sulfonilo orgánico, tal como un grupo metilsulfinilo, un grupo etilsulfinilo, un grupo fenilsulfinilo; y un grupo sulfonilo orgánico, tal como un grupo metilsulfonilo, un grupo trifluorometilsulfonilo, un grupo p-tolilsulfonilo; y de éstos, se prefiere un átomo de bromo.

Ejemplos del disolvente inerte que puede usarse en la etapa anterior (a) incluyen tetrahidrofurano, éter dietílico, metil terc-butil éter, éter diisopropílico, dibutil éter, metanol, etanol, isopropanol, propanol, acetona, acetato de etilo, acetato de isopropilo y ciclopentil metil éter, dimetilformamida, dimetilsulfóxido o un disolvente mixto de los mismos, entre los que se prefiere dimetilformamida, tetrahidrofurano, ciclopentil metil éter o *metil terc-butil éter*.

- 30 Preferentemente, la reacción se consigue en presencia de una base y un catalizador de transferencia de fases.

El catalizador de transferencia de fases incluye, por ejemplo, hidrógenosulfato de tetrabutilamonio, cloruro de tetrabutilamonio, bromuro de tetrabutilamonio, yoduro de tetrabutilamonio, cloruro de dodeciltrimetilamonio, cloruro de hexadeciltrimetilamonio, cloruro de bencilcetildimetilamonio, cloruro de bencildimetilfenilamonio, cloruro de benciltributilamonio, cloruro de benciltrietilamonio, cloruro de deciltrimetilamonio, cloruro de octiltrimetilamonio, cloruro de feniltrimetilamonio, cloruro de tetrametilamonio, cloruro de tetraetilamonio, cloruro de trioctilmetilamonio, hidróxido de benciltrietilamonio, hidróxido de benciltrimetilamonio, hidróxido de hexadeciltrimetilamonio, hidróxido de feniltrimetilamonio, hidróxido de tetrabutilamonio, bromuro de benciltrimetilamonio, bromuro de benciltrietilamonio, bromuro de benciltributilamonio, bromuro de deciltrimetilamonio, bromuro de didecildimetilamonio, bromuro de dilaurildimetilamonio, bromuro de hexadeciltrimetilamonio, bromuro de octiltrimetilamonio, bromuro de feniltrimetilamonio, bromuro de tetradecilamonio, bromuro de tetrahexilamonio, bromuro de tetrapropilamonio, yoduro de benciltrietilamonio, yoduro de etiltripropilamonio, yoduro de tetraetilamonio, yoduro de tetrahexilamonio, yoduro de tetrapropilamonio y se prefiere hidrógenosulfato de tetrabutilamonio.

La cantidad del catalizador de transferencia de fases que debe usarse es generalmente de 0,01 a una cantidad molar excesiva, preferentemente de 0,02 a 1,5 moles, en relación a un mol del compuesto de fórmula (1).

- 45 La base incluye, por ejemplo, bases orgánicas, tales como trietilamina, diisopropiletilamina, piridina, 4-dimetilaminopiridina; y bases inorgánicas, tales como hidrogenocarbonato sódico, carbonato sódico, carbonato potásico, carbonato de cesio, hidróxido sódico, hidróxido potásico.

La cantidad de la base que debe usarse puede ser generalmente de una cantidad equimolar a una cantidad molar excesiva, preferentemente de 1 a 3 moles, en relación a un mol del compuesto de fórmula (1).

- 50 La etapa (b) de producción de un compuesto de fórmula (4), nitrando un compuesto de fórmula (3) puede realizarse de manera tal, que el compuesto (3) se hace reaccionar con un agente de nitración de aproximadamente 0,5 moles a una cantidad molar excesiva, preferentemente de 1 a 5 moles, en relación a 1 mol del compuesto (3), en un disolvente inerte a aproximadamente de -20 °C a 80 °C, preferentemente de -5 °C a 5 °C durante aproximadamente 1 a 120 horas, preferentemente aproximadamente de 1 a 10 horas.

Ejemplos del agente de nitración que puede usarse en la etapa anterior (b) incluyen ácido nítrico, ácido nítrico fumante, nitrato de cobre, nitrato sódico, nitrato potásico, nitrato de amonio, tetrafluoroborato de nitronio, dióxido de nitrógeno, entre los que se prefiere ácido nítrico.

- 5 Ejemplos del disolvente inerte que puede usarse en la etapa anterior (b) incluyen tetrahidrofurano, éter dietílico, *metil terc-butil éter*, éter diisopropílico, dibutil éter, metanol, etanol, isopropanol, propanol, acetona, acetato de etilo, acetato de isopropilo, agua, ácido acético, anhídrido acético, cloroformo, diclorometano y ciclopentil metil éter, o un disolvente mixto de los mismos, entre los que se prefiere agua, ácido acético.

- 10 La etapa (c) de producción de un compuesto de fórmula (5) o una sal del mismo, reduciendo los grupos oxo del compuesto de fórmula (4) puede realizarse de manera tal, que el compuesto (4) se hace reaccionar con un agente reductor de aproximadamente 0,5 moles a una cantidad molar excesiva, preferentemente de 1 a 5 moles, en relación a 1 mol del compuesto (4), en un disolvente inerte a aproximadamente de -20 °C a 80 °C, preferentemente de 50 °C a 70 °C durante aproximadamente 1 a 120 horas, preferentemente aproximadamente de 5 a 60 horas.

- 15 Ejemplos del agente de reducción que puede usarse en la etapa anterior (c) incluyen borano-sulfuro de dimetilo, borano-tetrahidrofurano, borano-*N,N*-dietilanilina, y borohidruro sódico con ácido, tal como dietileterato trifluoruro de boro o ácido sulfúrico, entre los que se prefiere borano-sulfuro de dimetilo o borano-tetrahidrofurano.

Ejemplos del disolvente inerte que puede usarse en la etapa anterior (c) incluyen tetrahidrofurano, éter dietílico, *metil terc-butil éter*, éter diisopropílico, dibutil éter, metanol, etanol, isopropanol, propanol, acetona, acetato de etilo, acetato de isopropilo y ciclopentil metil éter, o un disolvente mixto de los mismos, entre los que se prefiere que tetrahidrofurano, ciclopentil metil éter o *metil terc-butil éter*.

- 20 La etapa (d) de producción de un compuesto de fórmula (6) o una sal del mismo, reduciendo un grupo nitro del compuesto de fórmula (5) o una sal del mismo puede realizarse de una manera tal, que el compuesto (5) o una sal del mismo se hace reaccionar con un agente reductor de aproximadamente 0,5 moles a una cantidad molar excesiva, preferentemente de 1 a 5 moles, en relación a 1 mol del compuesto (5) o una sal del mismo, en un disolvente inerte a aproximadamente de -20 °C a 80 °C, preferentemente de 20 °C a 80 °C durante aproximadamente 0,5 a 120 horas, preferentemente aproximadamente de 0,5 a 3 horas.

En el caso en el que el compuesto de fórmula (6) sea una base libre, entonces éste puede convertirse en una sal del mismo, tratando dicho compuesto (6) con un ácido inorgánico o ácido orgánico de una manera convencional; y por el contrario, en el caso en el que el compuesto de fórmula (6) es una forma de sal, la sal también puede convertirse en un compuesto libre de una manera convencional.

- 30 Ejemplos del agente de reducción que puede usarse en la etapa anterior (d) incluyen cinc, hierro, cloruro de estaño (II), estaño, sulfuro sódico, ácido fórmico, formiato amónico, hidrógeno e hidrazina, entre los que se prefiere que cinc o hierro.

- 35 Ejemplos del disolvente inerte que puede usarse en la etapa anterior (d) incluyen tetrahidrofurano, éter dietílico, *metil terc-butil éter*, éter diisopropílico, dibutil éter, metanol, etanol, isopropanol, propanol, acetona, acetato de etilo, acetato de isopropilo y ciclopentil metil éter, o un disolvente mixto de los mismos, entre los que se prefiere etanol o alcohol isopropílico.

La "sal" del compuesto de fórmula (5) o (6) se refiere a una sal común usada en el campo de la química orgánica, por ejemplo, sal de adición de ácidos.

- 40 Las sales de adición de ácidos incluyen, por ejemplo, una sal de ácido inorgánico, tal como clorhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, perclorato; una sal de ácido orgánico, tal como maleato, fumarato, tartrato, citrato, ascorbato, trifluoroacetato, metanosulfonato, isetionato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, preferentemente clorhidrato. Se prefiere más un diclorhidrato para el compuesto compuesto de fórmula (6).

- 45 El compuesto de fórmula (1) y (2) puede estar disponible en el mercado, o puede producirse de acuerdo con procedimientos conocidos o de acuerdo con procedimientos similares a los mismos, o de acuerdo con los procedimientos de producción que se describen más adelante, o de acuerdo con los procedimientos descritos en Ejemplos y Ejemplos de Producción, opcionalmente según se combinen adecuadamente.

Los ejemplos de ensayo farmacéutico para Compuesto A se muestran más adelante.

#### Ensayo farmacológico 1 (efecto inhibidor de quinasa Weel)

(1) Purificación de quinasa Weel:

- 50 Un ADNc de quinasa Weel con glutatión-S-transferasa (GST) fusionado en el extremo amino del mismo se insertó en un vector de expresión de baculovirus para construir un baculovirus recombinante, con el cual se infectaron las células de una línea de células de insecto Sf9 para expresión elevada en las mismas. Las células infectadas se recuperaron y solubilizaron y después la proteína quinasa Weel marcada con GST se adsorbió por una columna de glutatión y se eluyó de la columna con glutatión y la fracción activa se desaló en una columna de desalado para

producir una enzima purificada.

(2) Determinación de la actividad de quinasa Weel:

Para la determinación de la actividad de quinasa Weel, se usó un péptido sintético, Poli(Lys,Tyr) bromhidrato (Lys:Tyr (4:1)) adquirido en Sigma como el sustrato.

5 La cantidad del líquido de reacción fue 21,1 µl; y la composición del tampón de reacción fue tampón Tris-HCl 50 mM (pH 7,4)/cloruro de magnesio 10 mM/ditiotreitol 1 mM. La quinasa Wee1 purificada, 2,5 µg del péptido de sustrato, 10 µM de adenosín trifosfato no marcado (ATP) y 1 µCi de ATP marcado con [ $\gamma$ -<sup>33</sup>P] (2500 Ci/mmol o más) se añadieron al mismo y se sometieron a reacción a 30 °C durante 30 minutos. A continuación, 10 µl de tampón fosfato 350 mM se añadieron al sistema de reacción para detener la reacción. El péptido de sustrato se adsorbió mediante una placa de 96 pocillos con papel de filtro P81, después se lavó unas pocas veces con tampón fosfato 130 mM y se realizó el recuento de su radiactividad con un contador de escintilación líquida. El ATP marcado con [ $\gamma$ -<sup>33</sup>P] se adquirió en Amersham Bioscience.

10 Para añadir el compuesto de ensayo al sistema de reacción, el compuesto se diluyó con dimetilsulfóxido (DMSO) para preparar una serie de diluciones. Se añadió 1,1 µl de cada dilución al sistema de reacción. Como un control, se añadió 1,1 µl de DMSO al sistema de reacción.

15 Como resultado, el valor de la mitad de la concentración inhibitoria máxima (CI<sub>50</sub>) de clorhidrato de Compuesto A obtenida en el Ejemplo de Referencia 2 fue 5 nM.

Ensayo farmacológico 2 (efecto inhibitor de crecimiento del tumor)

20 Células de cáncer de colon humanas WiDr (obtenidas en la ATCC) se implantaron en el área subcutánea del dorso de ratas desnudas Jcl-rnu F344/N. 12 días después del implante, se administraron por vía intravenosa 5 mg/kg de gemcitabina (Gemzar, de Eli Lilly); y después de 24 horas, se administró por vía oral un compuesto de ensayo suspendido en un disolvente (metil celulosa al 0,5 %) al mismo. Esto se repitió una vez a la semana durante 3 semanas. El volumen del tumor (0,5 x diámetro mayor x (diámetro menor)<sup>2</sup>) se midió los días 0, 3, 6, 10, 13, 17, 20, 24 y 27 (la primera administración de gemcitabina es el día 0). Se calculó el volumen de tumor relativo, basándose en el volumen de tumor el día 0, como 1. El índice de crecimiento de tumor (% T/C) se obtuvo de acuerdo con las fórmulas mencionadas más adelante.

25 En el caso en el que el cambio del volumen del tumor desde el día 0 en el grupo de administración de compuesto de ensayo es más de 0 (> 0):

% T/C

30 = (cambio de volumen de tumor en el grupo de compuesto de ensayo los días 3, 6, 10, 13, 17, 20, 24 y 27/cambio de volumen de tumor en el grupo de control los días 3, 6, 10, 13, 17, 20, 24 y 27) x 100.

En el caso en el que el cambio del volumen de tumor desde el día 0 en el grupo de administración de compuesto de ensayo es menos de 0 (< 0):

% T/C

35 = (cambio de volumen de tumor en el grupo de compuesto de ensayo los días 3, 6, 10, 13, 17, 20, 24 y 27/cambio de volumen de tumor en el grupo de compuesto de ensayo el día 0) x 100.

Los datos del efecto inhibitor del crecimiento de tumor se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Compuesto	n	% T/C							
		día 3	día 6	día 10	día 13	día 17	día 20	día 24	día 27
Control	5	100	100	100	100	100	100	100	100
Gemcitabina 5 mg/kg	5	62	67	66	64	57	49	52	54
Gemcitabina + Compuesto de ensayo* 1 15 mg/kg	5	-16	-6	-17	-13	-17	-5	7	13
Compuesto de ensayo* 1 15 mg/kg	5	107	100	87	91	88	85	83	88

El compuesto de ensayo\* 1 se obtuvo en el Ejemplo de Referencia 2.

Gemcitabina se administró los días 0, 7 y 14.

Compuesto de ensayo\*<sup>1</sup> se administró los días 1, 8 y 15.

5 La administración de gemcitabina redujo el índice de crecimiento tumoral, y, la administración combinada del compuesto de la invención y gemcitabina redujo adicionalmente el índice de crecimiento tumoral. En el grupo al que se proporcionó administración combinada de dosis alta, se observó involución del tumor.

Como se ha mencionado anteriormente, cuando se combina con cualquier otro agente anticáncer, el compuesto de la invención mejoró el efecto anticáncer del otro agente anticáncer.

10 El hidrato de Compuesto A novedoso o hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A y una forma cristalina de Compuesto A o de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A, así como también Compuesto A *per se* o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se pueden administrar por vía oral o por vía parenteral y después de formularse en preparaciones adecuadas para tales modos de administración, los compuestos se pueden usar como composiciones farmacéuticas o agentes anticáncer.

15 El término "cáncer" al que se hace referencia en la presente descripción incluye diversos sarcomas y carcinomas e incluye cáncer sólido y cáncer hematopoyético. El cáncer sólido al que se hace referencia en la presente memoria incluye, por ejemplo, tumor cerebral, cáncer cérvicocerebral, cáncer esofágico, cáncer de tiroides, cáncer de células pequeñas, cáncer de células no pequeñas, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de estómago, cáncer de vesícula biliar/conducto biliar, cáncer de hígado, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer ovárico, coriocarcinoma, cáncer de cuerpo del útero, cáncer úterocervical, cáncer de pelvis renal/uréter, cáncer de vejiga, 20 cáncer de próstata, cáncer de pene, cáncer de testículos, cáncer fetal, tumor de Wilm, cáncer de piel, melanoma maligno, neuroblastoma, osteosarcoma, tumor de Ewing y sarcoma de partes blandas. Por otra parte, el cáncer hematopoyético incluye, por ejemplo, leucemia aguda, leucemia linfática crónica, leucemia mielocítica crónica, policitemia vera, linfoma maligno, mieloma múltiple, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin.

25 La expresión "tratamiento del cáncer" a la que se ha referencia en la presente descripción significa que un agente anticáncer se administra a un caso de cáncer de forma de inhibir el crecimiento de las células de cáncer en el caso. Preferentemente, el tratamiento da como resultado regresión de crecimiento del cáncer o, es decir, el mismo reduce el tamaño de un cáncer detectable. Más preferentemente, el tratamiento da como resultado la desaparición completa del cáncer.

30 El hidrato de Compuesto A novedoso o el hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A y una forma cristalina de Compuesto A o de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto A, así como también Compuesto A *per se* o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se espera que sean eficaces especialmente para cáncer sólido humano. El cáncer sólido humano incluye, por ejemplo, cáncer cerebral, cáncer cérvicocerebral, cáncer esofágico, cáncer de tiroides, cáncer de células pequeñas, cáncer de células no pequeñas, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de estómago, cáncer de vesícula biliar/conducto biliar, cáncer de hígado, cáncer 35 pancreático, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer ovárico, coriocarcinoma, cáncer de cuerpo del útero, cáncer úterocervical, cáncer de pelvis renal/uréter, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de pene, cáncer de testículos, cáncer fetal, cáncer de Wilm, cáncer de piel, melanoma maligno, neuroblastoma, osteosarcoma, tumor de Ewing, sarcoma de partes blandas, leucemia aguda, leucemia linfática crónica, leucemia mielocítica crónica, linfoma de Hodgkin.

40 La composición farmacéutica o agente anticáncer de la invención puede contener un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. En la presente memoria, el "vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptables" se refiere a excipientes [por ejemplo, grasas, cera de abejas, polioles semisólidos y líquidos, aceites naturales o hidrogenados, etc.]; agua (por ejemplo, agua destilada, particularmente agua destilada para inyección, etc.), solución salina fisiológica, alcohol (por ejemplo, etanol), glicerol, polioles, solución de glucosa acuosa, manitol, aceites de planta, etc.); aditivos [por ejemplo, agente diluyente, agente disgregante, aglutinante, lubricante, agente humectante, 45 estabilizante, emulsionante, dispersante, conservante, edulcorante, colorante, agente de condimento o aromatizante, agente de concentración, diluyente, sustancia tampón, disolvente o agente solubilizante, agente químico para conseguir efecto de almacenamiento, sal para modificar la presión osmótica, agente de revestimiento o antioxidante] y similares.

50 Con respecto a cada preparación de la composición farmacéutica o agente anticáncer de la invención, se pueden seleccionar diversas formas de preparación y los ejemplos de las mismas incluyen preparaciones orales tales como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos o líquidos o preparaciones parenterales líquidas esterilizadas tales como soluciones o suspensiones, supositorios, ungüentos y similares.

55 Las preparaciones sólidas se pueden preparar en formas de comprimido, cápsula, gránulo y polvo sin ningún aditivo o prepararse usando vehículos apropiados (aditivos). Los ejemplos de tales vehículos (aditivos) pueden incluir sacáridos tales como lactosa o glucosa; almidón de maíz, trigo o arroz; ácidos grasos tales como ácido esteárico; sales inorgánicas tales como aluminato metasilicato de magnesio o fosfato de calcio anhidro; polímeros sintéticos

tales como polivinilpirrolidona o polialquilenglicol; alcoholes tales como alcohol estearílico o alcohol bencílico; derivados de celulosa sintéticos tales como metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa o hidroxipropilmetilcelulosa; y otros aditivos usados de forma convencional tales como gelatina, talco, aceite vegetal y goma arábica.

- 5 Estas preparaciones sólidas tales como comprimidos, cápsulas, gránulos y polvos pueden contener en general, por ejemplo, del 0,1 al 100 % en peso y preferentemente del 5 al 98 % en peso, del compuesto de la Fórmula (1) anterior como un principio activo, basándose en el peso total de la preparación.

Las preparaciones líquidas se producen en las formas de suspensión, jarabe, inyección e infusión por goteo (líquido intravenoso) usando aditivos apropiados que se usan de forma convencional en preparaciones líquidas, tales como agua, alcohol o aceite obtenido de plantas tal como aceite de soja, aceite de cacahuete y aceite de sésamo.

10 En particular, cuando la preparación se administra por vía parenteral en una forma de inyección intramuscular, inyección intravenosa o inyección subcutánea, se puede ilustrar un disolvente o diluyente apropiado mediante agua destilada para inyección, una solución acuosa de clorhidrato de lidocaína (para inyección intramuscular), solución salina fisiológica, solución de glucosa acuosa, etanol, polietilenglicol, propilenglicol, líquido para inyección intravenosa (por ejemplo, una solución acuosa de ácido cítrico, citrato de sodio y similares) o una solución electrolítica (para infusión por goteo intravenosa e inyección intravenosa) o una solución mezclada de los mismos.

15 Tal inyección puede estar en forma de una solución disuelta de forma preliminar o en forma de polvo *per se* o de polvo asociado con un vehículo adecuado (aditivo) que se disuelve en el momento del uso. El líquido para inyección puede contener, por ejemplo, del 0,1 al 10 % en peso de un principio activo basándose en el peso total de la preparación.

20 Las preparaciones líquidas tales como suspensión o jarabe para administración oral pueden contener, por ejemplo, del 0,1 al 10 % en peso de un principio activo basándose en el peso total de la preparación.

La preparación la puede preparar una persona con experiencia habitual en la técnica de acuerdo con procedimientos convencionales o técnicas comunes. Por ejemplo, una preparación se puede llevar a cabo, si la preparación es una preparación oral, por ejemplo, mezclando una cantidad apropiada del compuesto de la invención con una cantidad apropiada de lactosa y llenando esta mezcla en cápsulas de gelatina dura que son adecuadas para administración oral. Por otra parte, la preparación se puede llevar a cabo, si la preparación que contiene el compuesto de la invención es una inyección, por ejemplo, mezclando una cantidad apropiada del compuesto de la invención con una cantidad apropiada de solución salina al 0,9 % y llenando esta mezcla en viales para inyección.

25 El hidrato de Compuesto A novedoso o hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto A y una forma cristalina de Compuesto A o de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A, así como también Compuesto A *per se* o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede usar, opcionalmente en combinación con cualquier otro agente útil para el tratamiento de diversos cánceres o con radioterapia. Los ingredientes individuales para tal combinación se pueden administrar en momentos diferentes o al mismo tiempo como preparaciones divididas o como una preparación durante el plazo de tratamiento. Por consiguiente, la invención se ha de interpretar que incluye todos los modos de administración al mismo tiempo o en momentos diferentes y la administración en la presente invención se ha de interpretar de esa misma forma. El alcance de la combinación del compuesto de la invención y cualquier otro agente útil para las enfermedades mencionadas anteriormente debe incluir, en principio, cualquiera y todas las combinaciones de las mismas con cualquiera y todos los agentes farmacéuticos útiles para el tratamiento de las enfermedades mencionadas anteriormente.

La propia terapia de radiación significa un procedimiento habitual en el campo del tratamiento del cáncer. Para terapia de radiación, se pueden usar diversas radiaciones tales como rayos X, rayos  $\gamma$ , rayos neutrónicos, haz de electrones y haz de protones; y fuentes de radiación. En una terapia de radiación más popular, se usa un acelerador lineal para irradiación con radiaciones externas, rayos  $\gamma$ .

45 El hidrato de Compuesto A novedoso o hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A y una forma cristalina de Compuesto A o de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A, así como también Compuesto A *per se* o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede combinar con una terapia de radiación para potenciar el efecto terapéutico en terapia de radiación; y por lo tanto los mismos pueden ser útiles como sensibilizadores de radiación en el campo de tratamiento del cáncer.

50 Otro aspecto del hidrato de Compuesto A novedoso o hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A y una forma cristalina de Compuesto A o de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A, así como también Compuesto A *per se* o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es que los compuestos también son útiles como sensibilizadores para cualquier otro agente anticáncer en el campo de tratamiento del cáncer.

55 El hidrato de Compuesto A novedoso o hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A y una forma cristalina de Compuesto A o de una sal farmacéuticamente aceptable de Compuesto A, así como también Compuesto A *per se* o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede combinar con terapia de radiación

y/o combinarse con quimioterapia usando cualquier otro agente anticáncer descrito más adelante en su uso para tratamiento del cáncer.

5 "Sensibilizador" para terapia de radiación o agente anticáncer como se hace referencia en la presente memoria tiene por objeto indicar un agente médico que, cuando se usa combinado con terapia de radiación y/o quimioterapia con un agente anticáncer, puede aumentar de forma aditiva o sinérgica el efecto terapéutico de la terapia de radiación y/o quimioterapia.

10 Los agentes que tienen que estar en las preparaciones combinadas en la invención pueden tener cualquier forma seleccionada de cualquier manera y los mismos se pueden producir de la misma manera que las preparaciones mencionadas anteriormente. El agente combinado que comprende el compuesto de la invención y algún otro agente anticáncer se puede producir fácilmente por un experto en la técnica de acuerdo con procedimientos habituales o técnicas convencionales.

15 La combinación mencionada anteriormente incluye no solo las composiciones de la invención que contienen además un principio activo diferente sino también aquellas que contienen además dos o más sustancias activas diferentes. Existen muchos ejemplos de la combinación de la composición de la invención y una o dos o más sustancias activas seleccionadas entre los agentes farmacéuticos para las enfermedades mencionadas anteriormente.

20 Los agentes que se tienen que combinar con las composiciones incluyen, por ejemplo, un agente anticáncer seleccionado entre el grupo que consiste en agentes alquilantes anticáncer, antimetabólicos anticáncer, antibióticos anticáncer, agentes anticáncer obtenidos de planta, compuestos de coordinación de platino anticáncer, derivados de camptotecina anticáncer, inhibidores de tirosina quinasa anticáncer, anticuerpos monoclonales, interferones, modificadores de respuesta biológica y otros agentes anticáncer así como también sal o sales o éster o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos.

25 El término "agente alquilante anticáncer" como se usa en la presente memoria descriptiva se refiere a un agente alquilante que tiene actividad anticáncer y el término "agente alquilante" en la presente memoria se refiere generalmente a un agente que da un grupo alquilo en la reacción de alquilación en la cual un átomo de hidrógeno de un compuesto orgánico se sustituye con un grupo alquilo. El término "agente alquilante anticáncer" se puede ilustrar mediante N-óxido de mostaza nitrogenada, ciclofosfamida, y fosfamida, melfalán, busulfán, mitobronitol, carbocouona, tiotepa, ranimustina, nimustina, temozolomida o carmustina.

30 El término "antimetabolito anticáncer" como se usa en la memoria descriptiva se refiere a un antimetabolito que tiene actividad anticáncer y el término "antimetabolito" en la presente memoria incluye, en un sentido amplio, sustancias que alteran el metabolismo normal y sustancias que inhiben el sistema de transferencia de electrones para evitar la producción de intermedios con alto nivel de energía, debido a sus similitudes estructurales o funcionales con metabolitos que son importantes para organismos vivos (tales como vitaminas, coenzimas, aminoácidos y sacáridos). El término "antimetabolitos anticáncer" se puede ilustrar mediante metotrexato, ribósido de 6-mercaptopurina, mercaptopurina, 5-fluorouracilo, tegafur, doxifluridina, carmofur, citarabina, ocfosfato de citarabina, enocitabina, S-1, gemcitabina, fludarabina o pemetrexed disódico y se prefieren citarabina, gemcitabina y similares.

35 El término "antibiótico anticáncer" como se usa en la memoria descriptiva se refiere a un antibiótico que tiene actividad anticáncer, y el "antibiótico" en la presente memoria incluye sustancias que se producen por microorganismos e inhiben el crecimiento celular y otras funciones de microorganismos y de otros organismos vivos. El término "antibiótico anticáncer" se puede ilustrar mediante actinomicina D, doxorubicina, daunorrubicina, neocarzinostatina, bleomicina, peplomycin, mitomicina C, aclarrubicina, pirarrubicina, epirubicina, zinostatina, idarrubicina, sirolimus o valrubicina y se prefieren doxorubicina, mitomicina C y similares.

40 La expresión "agente anticáncer obtenido de planta" como se usa en la memoria descriptiva incluye compuestos que tienen actividades anticáncer que se originan a partir de plantas o compuestos preparados aplicando la modificación química a los compuestos anteriores. La expresión "agente anticáncer obtenido de plantas" se puede ilustrar mediante vincristina, vinblastina, vindesina, etopósido, sobuzoxano, docetaxel, paclitaxel y vinorelbina y se prefieren etopósido y similares.

45 La expresión "derivado de camptotecina anticáncer" como se usa en la memoria descriptiva se refiere a compuestos que están relacionados estructuralmente con camptotecina y que inhiben el crecimiento de células de cáncer, incluyendo camptotecina *per se*. La expresión "derivado de camptotecina anticáncer" no se limita particularmente a, pero se puede ilustrar mediante, camptotecina, 10-hidroxycamptotecina, topotecán, irinotecán o 9-aminocamptotecina, prefiriéndose camptotecina. Además, irinotecán se metaboliza *in vivo* y muestra efecto anticáncer como SN-38. El mecanismo de acción y la actividad de los derivados de camptotecina se cree que son prácticamente los mismos que los de camptotecina (por ejemplo, Nitta, y col., Gan to Kagaku Ryoho, 14, 850-857 (1987)).

55 La expresión "compuesto de coordinación de platino anticáncer" como se usa en la memoria descriptiva se refiere a un compuesto de coordinación de platino que tiene actividad anticáncer, y la expresión "compuesto de coordinación de platino" en la presente memoria se refiere a un compuesto de coordinación de platino que proporciona platino en forma de ión. Los compuestos de platino preferidos incluyen cisplatino; ión cis-diaminodiacuoplatino (II); cloruro de

cloro(dietilenotriamina)-platino (II); dicloro(etilenodiamina)-platino (II); diamina(1,1-ciclobutanodicarboxilato) platino (II) (carboplatino); espiroplatino; iuproplatino; diamina(2-etilmalonato) platino (II); etilenodiaminamalonatoplatino (II); acua(1,2-diaminodiciclohexano)sulfatoplatino (II); acua(1,2-diaminodiciclohexano)malonatoplatino (II); (1,2-diaminodiciclohexano)malonatoplatino (II); (4-carboxifalato)(1,2-diaminodiciclohexano)platino (II); (1,2-diaminodiciclohexano)-(isocitrato)platino (II); (1,2-diaminodiciclohexano)oxalatoplatino (II); ormaplatino; tetraplatino; carboplatino, nedaplatino y oxaliplatino y se prefiere cisplatino. Además, otros compuestos de coordinación de platino anticáncer mencionados en la memoria descriptiva se conocen y están disponibles en el mercado y/o se pueden producir por una persona con experiencia habitual en la técnica mediante técnicas convencionales.

La expresión "inhibidor de tirosina quinasa anticáncer" como se usa en la memoria descriptiva se refiere a un inhibidor de tirosina quinasa que tiene actividad anticáncer y la expresión "inhibidor de tirosina quinasa" en la presente memoria se refiere a una sustancia química que inhibe "tirosina quinasa" que transfiere un grupo  $\gamma$ -fosfato de ATP a un grupo hidroxilo de una tirosina específica en proteína. La expresión "inhibidor de tirosina quinasa anticáncer" se puede ilustrar mediante gefitinib, imatinib o erlotinib.

El término "anticuerpo monoclonal" como se usa en la memoria descriptiva, que también se conoce como anticuerpo clonal único, se refiere a un anticuerpo producido mediante una célula productora de anticuerpo monoclonal y los ejemplos de los mismos incluyen cetuximab, bevacizumab, rituximab, alemtuzumab y trastuzumab.

El término "interferón" como se usa la memoria descriptiva se refiere a un interferón que tiene actividad anticáncer y es una glicoproteína que tiene un peso molecular de aproximadamente 20.000 que se produce y secreta por la mayoría de las células animales tras infección viral. El mismo tiene el efecto de inhibir no solo el crecimiento viral sino también diversos mecanismos efectores inmunes incluyendo inhibición del crecimiento de células (en particular, células tumorales) y mejora de la actividad de células asesinas naturales, designándose por tanto como un tipo de citoquina. Los ejemplos de "interferón" incluyen interferón  $\alpha$ , interferón  $\alpha$ -2a, interferón  $\alpha$ -2b, interferón  $\beta$ , interferón  $\gamma$ -1a e interferón  $\gamma$ -1n.

La expresión "modificador de respuesta biológica" como se usa en la memoria descriptiva es el denominado modificador de respuesta biológica o BRM y es de forma general el término genérico para sustancias o fármacos para modificar los mecanismos de defensa de organismos vivos o respuestas biológicas tales como supervivencia, crecimiento o diferenciación de células de tejido con el fin de dirigirlas para ser útiles para un individuo frente a tumor, infección y otras enfermedades. Los ejemplos de "modificador de respuesta biológica" incluyen creстина, lentinán, sizofirán, picibanil y ubenimex.

La expresión "otro agente anticáncer" como se usa en la memoria descriptiva se refiere a un agente anticáncer que no pertenece a ninguno de los agentes descritos anteriormente que tiene actividades anticáncer. Los ejemplos del "otro agente anticáncer" incluyen mitoxantrona, L-asparaginasa, procarbacin, dacarbacin, hidroxycarbamida, pentostatina, tretinoína, alefacept, darbepoetina alfa, anastrozol, exemestano, bicalutamida, leuprorelina, flutamida, fulvestrant, pegaptanib octasodio, denileucina difitox, aldesleuquina, tirotropina alfa, trióxido de arsénico, bortezomib, capecitabina y goserelina.

Las expresiones descritas anteriormente "agente alquilante anticáncer", "antimetabolito anticáncer", "antibiótico anticáncer", "agente anticáncer obtenido de planta", "compuesto de coordinación de platino anticáncer", "derivado de camptotecina anticáncer", "inhibidor de tirosina quinasa anticáncer", "anticuerpo monoclonal", "interferón", "modificador de respuesta biológica" y "otro agente anticáncer" son todas conocidas y están disponibles en el mercado o son producibles por un experto en la técnica mediante procedimientos conocidos *per se* o mediante procedimientos bien conocidos o convencionales. El procedimiento para la preparación de gefitinib se describe, por ejemplo, en USP N° 5.770.599; el procedimiento de preparación de cetuximab se describe, por ejemplo, en el documento WO 96/40210; el procedimiento de preparación de bevacizumab se describe, por ejemplo, en el documento WO 94/10202; el procedimiento de preparación de oxaliplatino se describe, por ejemplo, en USP N° 5.420.319 y 5.959.133; el procedimiento de preparación de gemcitabina se describe, por ejemplo, en USP N° 5.434.254 y 5.223.608; y el procedimiento de preparación de camptotecina se describe en USP N° 5.162.532, 5.247.089, 5.191.082, 5.200.524, 5.243.050 y 5.321.140; el procedimiento de preparación de irinotecán se describe, por ejemplo, en USP N° 4.604.463; el procedimiento de preparación de topotecán se describe, por ejemplo, en USP N° 5.734.056; el procedimiento de preparación de temozolomida se describe, por ejemplo, en JP-B N° 4-5029; y el procedimiento de preparación de rituximab se describe, por ejemplo, en JP-W N° 2-503143.

Los agentes alquilantes anticáncer mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: N-óxido de mostaza nitrogenada en Mitsubishi Pharma Corp. como Nitromin (nombre comercial); ciclofosfamida en Shionogi & Co., Ltd. como Endoxan (nombre comercial); ifosfamida en Shionogi & Co., Ltd. como Ifomide (nombre comercial); melfalán en GlaxoSmithKline Corp. como Alkeran (nombre comercial); busulfán en Takeda Pharmaceutical Co., Ltd. como Mabin (nombre comercial); mitobronitol en Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd. como Myebrol (nombre comercial); carbocuaona en Sankyo Co., Ltd. como Esquinon (nombre comercial); tiotepa en Sumitomo Pharmaceutical Co., Ltd. como Tespamin (nombre comercial); ranimustina en Mitsubishi Pharma Corp. como Cymerin (nombre comercial); nimustina en Sankyo Co., Ltd. como Nidran (nombre comercial); temozolomida en Schering Corp. como Temodar (nombre comercial); y carmustina en Guilford Pharmaceuticals Inc. como Gliadel Wafer (nombre comercial).

Los antimetabolitos anticáncer mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: metotrexato en Takeda Pharmaceutical Co., Ltd. como Methotrexate (nombre comercial); 6-mercaptopurina ribósido en Aventis Corp. como Thioinosine (nombre comercial); mercaptopurina en Takeda Pharmaceutical Co., Ltd. como Leukerin (nombre comercial); 5-fluorouracilo en Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. como 5-FU (nombre comercial); tegafur en Taiho Pharmaceutical Co., Ltd. como Futraful (nombre comercial); doxifluridina en Nippon Roche Co., Ltd. como Furutulon (nombre comercial); carmofur en Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd. como Yamafur (nombre comercial); citarabina en Nippon Shinyaku Co., Ltd. como Cylocide (nombre comercial); citarabina ocfosfato en Nippon Kayaku Co., Ltd. como Strasid (nombre comercial); enocitabina en Asahi Kasei Corp. como Sanrabin (nombre comercial); S-1 en Taiho Pharmaceutical Co., Ltd. como TS-1 (nombre comercial); gemcitabina en Eli Lilly & Co. como Gemzar (nombre comercial); fludarabina en Nippon Schering Co., Ltd. como Fludara (nombre comercial); y pemetrexed disódico en Eli Lilly & Co. como Alimta (nombre comercial).

Los antibióticos anticáncer mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: actinomicina D en Banyu Pharmaceutical Co., Ltd. como Cosmegen (nombre comercial); doxorubicina en Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. como adriacin (nombre comercial); daunorrubicina en Meiji Seika Kaisha Ltd. como Daunomycin; neocarzinostatina en Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd. como Neocarzinostatin (nombre comercial); bleomicina en Nippon Kayaku Co., Ltd. como Bleo (nombre comercial); pepromicina en Nippon Kayaku Co., Ltd. como Peppo (nombre comercial); mitomicina C en Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. como Mitomycin (nombre comercial); aclarrubicina en Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd. como Aclacinon (nombre comercial); pirarubicina en Nippon Kayaku Co., Ltd. como Pinorubicin (nombre comercial); epirubicina en Pharmacia Corp. como Pharmorubicin (nombre comercial); cinostatina estimalamer en Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd. como Smancs (nombre comercial); idarrubicina en Pharmacia Corp. como Idamycin (nombre comercial); sirolimus en Wyeth Corp. como Rapamune (nombre comercial); y valrubicina en Anthra Pharmaceuticals Inc. como Valstar (nombre comercial).

Los agentes anticáncer obtenidos de planta mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: vincristina en Shionogi & Co., Ltd. como Oncovin (nombre comercial); vinblastina en Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd. como Vinblastine (nombre comercial); vindesina en Shionogi & Co., Ltd. como Fildesin (nombre comercial); etopósido en Nippon Kayaku Co., Ltd. como Lastet (nombre comercial); sobuzoxano en Zenyaku Kogyo Co., Ltd. como Perazolin (nombre comercial); docetaxel en Aventis Corp. como Taxotere (nombre comercial); paclitaxel en Bristol-Myers Squibb Co. como Taxol (nombre comercial); y vinorelbina en Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. como Navelbine (nombre comercial).

Los compuestos de coordinación de platino anticáncer mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: cisplatino en Nippon Kayaku Co., Ltd. como Randa (nombre comercial); carboplatino en Bristol-Myers Squibb Co. como Paraplatin (nombre comercial); nedaplatino en Shionogi & Co., Ltd. como Aqupla (nombre comercial); y oxaliplatino en Sanofi-Synthelabo Co. como Eloxatin (nombre comercial).

Los derivados de camptotecina anticáncer mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: irinotecán en Yakult Honsha Co., Ltd. como Campto (nombre comercial); topotecán en GlaxoSmithKline Corp. como Hycamtin (nombre comercial); y camptotecina en Aldrich Chemical Co., Inc., EE.UU.

Los inhibidores de tirosina quinasa anticáncer mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: gefitinib en AstraZeneca Corp. como Iressa (nombre comercial); imatinib en Novartis AG como Gleevec (nombre comercial); y erlotinib en OSI Pharmaceuticals Inc. como Tarceva (nombre comercial).

Los anticuerpos monoclonales mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: cetuximab en Bristol-Myers Squibb Co. como Erbitux (nombre comercial); bevacizumab en Genentech, Inc. como Avastin (nombre comercial); rituximab en Biogen Idec Inc. como Rituxan (nombre comercial); alemtuzumab en Berlex Inc. como Campath (nombre comercial); y trastuzumab en Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. como Herceptin (nombre comercial).

Los interferones mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: interferón  $\alpha$  en Sumitomo Pharmaceutical Co., Ltd. como Sumiferon (nombre comercial); interferón  $\alpha$ -2a en Takeda Pharmaceutical Co., Ltd. como Canferon-A (nombre comercial); interferón  $\alpha$ -2b en Schering-Plough Corp. como Intron A (nombre comercial); interferón  $\beta$  en Mochida Pharmaceutical Co., Ltd. como IFN $\beta$  (nombre comercial); interferón  $\gamma$ -1a en Shionogi & Co., Ltd. como Imunomax- $\gamma$  (nombre comercial); e interferón  $\gamma$ -n1 en Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd. como Ogamma (nombre comercial).

Los modificadores de respuesta biológica mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: creстина en Sankyo Co., Ltd. como krestin (nombre comercial); lentinán en Aventis Corp. como Lentinan (nombre comercial); sizofirán en Kaken Seiyaku Co., Ltd. como Sonifiran (nombre comercial); picibanil en Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. como Picibanil (nombre comercial); y ubenimex en Nippon Kayaku Co., Ltd. como Bestatin (nombre comercial).

Los otros agentes anticáncer mencionados anteriormente están disponibles en el mercado, como se ilustra mediante los siguientes: mitoxantrona en Wyeth Lederle Japan, Ltd. como Novantrone (nombre comercial); L-asparaginasa en

5 Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. como Leunase (nombre comercial); procarbacin en Nippon Roche Co., Ltd. como Natulan (nombre comercial); dacarbacin en Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. como Dacarbazine (nombre comercial); hidroxycarbamida en Bristol-Myers Squibb Co. como Hydrea (nombre comercial); pentostatina en Kagaku Oyobi Kessei Ryoho Kenkyusho como Coforin (nombre comercial); tretinoína en Nippon Roche Co., Ltd. como Vesanoid (nombre comercial); alefacept en Biogen Idec Inc. como Amevive (nombre comercial); darbeopetina alfa en Amgen Inc. como Aranesp (nombre comercial); anastrozol en AstraZeneca Corp. como Arimidex (nombre comercial); exemestano en Pfizer Inc. como Aromasin (nombre comercial); bicalutamida en AstraZeneca Corp. como Casodex (nombre comercial); leuprorelina en Takeda Pharmaceutical Co., Ltd. como Leuplin (nombre comercial); flutamida en Schering-Plough Corp. como Eulexin (nombre comercial); fulvestrant en AstraZeneca Corp. como Faslodex (nombre comercial); pegaptanib octasodio en Gilead Sciences, Inc. como Macugen (nombre comercial); denileucina difitox en Ligand Pharmaceuticals Inc. como Ontak (nombre comercial); aldesleuquina en Chiron Corp. como Proleukin (nombre comercial); tiotropina alfa en Genzyme Corp. como Thyrogen (nombre comercial); trióxido de arsénico en Cell Therapeutics, Inc. como Trisenox (nombre comercial); bortezomib en Millennium Pharmaceuticals, Inc. como Velcade (nombre comercial); capecitabina en Hoffmann-La Roche, Ltd. como Xeloda (nombre comercial); y goserelina en AstraZeneca Corp. como Zoladex (nombre comercial).

20 En el procedimiento de acuerdo con la invención, la unidad terapéutica preferida puede variar de acuerdo con, por ejemplo, la vía de administración del compuesto de la invención, el tipo de compuesto de la invención usado y la forma de dosificación del compuesto de la invención usada; el tipo, vía de administración y forma de dosificación del otro agente anticáncer usado en combinación; y el tipo de células que se tienen que tratar, la condición del paciente y similares. El tratamiento óptimo en condiciones dadas se puede determinar por un experto en la técnica, basándose en la unidad terapéutica convencional establecida y/o basándose en el contenido de la presente memoria descriptiva.

25 En el procedimiento de acuerdo con la invención, la unidad terapéutica para el compuesto de la invención puede variar de acuerdo con, específicamente, el tipo de compuesto usado, el tipo de composición en compuesto, la frecuencia de aplicación y el sitio específico que se tiene que tratar, la gravedad de la enfermedad, la edad del paciente, el diagnóstico del médico, el tipo de cáncer o similares. Sin embargo, como una referencia ilustrativa, la dosis diaria para un adulto puede estar dentro del intervalo de, por ejemplo, 1 a 1000 mg en el caso de administración oral. En el caso de administración parenteral, preferentemente administración intravenosa, y más preferentemente infusión por goteo intravenosa, la dosis diaria puede estar dentro de un intervalo de, por ejemplo, 1 a 100 mg/m<sup>2</sup> (área de superficie corporal). En la presente memoria, en el caso de infusión por goteo intravenosa, la administración se puede llevar a cabo de forma continua durante, por ejemplo, 1 a 48 horas. Además, la frecuencia de administración puede variar dependiendo del procedimiento de administración y los síntomas, pero es, por ejemplo, una a cinco veces al día. Como alternativa, se puede emplear también administración intermitente periódicamente tal como en días alternos, administración cada dos días o similares en el procedimiento de administración. El periodo de retirada de la medicación en el caso de administración parental es, por ejemplo, una a seis semanas.

Aunque la unidad terapéutica para el otro agente anticáncer usado en combinación con el compuesto de la invención no está particularmente limitada, la misma se puede determinar, si fuera necesario, por los expertos en la técnica de acuerdo con bibliografía conocida. Los ejemplos pueden ser los siguientes.

40 La unidad terapéutica de 5-fluorouracilo (5-FU) es tal que, en el caso de administración oral, por ejemplo 200 a 300 mg por día se administran en una a tres veces consecutivamente y en el caso de inyección, por ejemplo, 5 a 15 mg/kg por día se administran una vez al día durante los primeros 5 días consecutivos mediante inyección intravenosa o infusión por goteo intravenosa y después se administran 5 a 7,5 mg/kg una vez al día en días alternos mediante inyección intravenosa o infusión por goteo intravenoso (la dosis se puede aumentar o disminuir de forma apropiada).

50 La unidad terapéutica de S-1 (Tegafur, Gimestat y Ostat potasio) es tal que, por ejemplo, la dosis inicial (dosis única) se establece para la siguiente cantidad convencional de acuerdo con el área de superficie corporal y se administra por vía oral dos veces al día, después del desayuno y después de la cena, durante 28 días consecutivos, seguido por retirada de la medicación durante 14 días. Esto se establece como un ciclo de administración, que se repite. La cantidad convencional inicial por unidad de área de superficie corporal (equivalente Tegafur) es 40 mg en una administración para un área menor de 1,25 m<sup>2</sup>; 50 mg en una administración para un área de 1,25 m<sup>2</sup> a menos de 1,5 m<sup>2</sup>; 60 mg en una administración para un área de 1,5 m<sup>2</sup> o más. Esta dosis se aumenta o disminuye de forma apropiada dependiendo de la condición del paciente.

55 La unidad terapéutica para gemcitabina es, por ejemplo, 1 g como gemcitabina/m<sup>2</sup> en una administración, que se administra mediante infusión por goteo intravenosa durante un periodo de 30 minutos y una administración por semana se continúa durante 3 semanas, seguido por retirada de la medicación en la cuarta semana. Esto se establece como un ciclo de administración, que se repite. La dosis se reduce de forma apropiada de acuerdo con la edad, síntoma o desarrollo de efectos secundarios.

60 La unidad terapéutica para doxorrubicina (por ejemplo, clorhidrato de doxorrubicina) es tal que, por ejemplo, en el caso de inyección intravenosa, se administran 10 mg (0,2 mg/kg) (título) una vez al día mediante administración

única intravenosa durante 4 a 6 días consecutivos, seguido por retirada de la medicación durante 7 a 10 días. Esto se establece como un ciclo de administración que se repite dos o tres veces. En la presente memoria, la dosis total es preferentemente de 500 mg (título)/m<sup>2</sup> (área de superficie corporal) o menos, y se puede aumentar o disminuir de forma apropiada dentro del intervalo.

5 La unidad terapéutica para etopósido es tal que, por ejemplo, en el caso de inyección intravenosa, se administran de 60 a 100 mg/m<sup>2</sup> (área de superficie corporal) por día durante 5 días consecutivos, seguido por retirada de la medicación durante tres semanas (la dosis se puede aumentar o disminuir de forma apropiada). Esto se establece como un ciclo de administración, que se repite. Mientras tanto, en el caso de administración oral, por ejemplo, se administran de 175 a 200 mg por día durante 5 días consecutivos, seguido por retirada de la medicación durante tres semanas (la dosis se puede aumentar o disminuir de forma apropiada). Esto se establece como un ciclo de administración, que se repite.

15 La unidad terapéutica para docetaxel (hidrato de docetaxel) es tal que, por ejemplo, se administran 60 mg como docetaxel/m<sup>2</sup> (área de superficie corporal) una vez al día mediante infusión por goteo intravenosa a lo largo de un periodo de 1 hora o más en un intervalo de 3 a 4 semanas (la dosis se puede aumentar o disminuir de forma apropiada).

La unidad terapéutica de paclitaxel es tal que, por ejemplo, se administran 210 mg/m<sup>2</sup> (área de superficie corporal) una vez al día mediante infusión por goteo intravenosa a lo largo de un periodo de 3 horas, seguido por retirada de la medicación durante al menos 3 semanas. Esto se establece como un ciclo de administración, que se repite. La dosis se puede aumentar o disminuir de forma apropiada.

20 La unidad terapéutica para cisplatino es tal que, por ejemplo, en el caso de inyección intravenosa, se administran 50 a 70 mg/m<sup>2</sup> (área de superficie corporal) una vez al día, seguido por retirada de la medicación durante 3 semanas o más (la dosis se puede aumentar o disminuir de forma apropiada). Esto se establece como un ciclo de administración, que se repite.

25 La unidad terapéutica de carboplatino es tal que, por ejemplo, se administran de 300 a 400 mg/m<sup>2</sup> una vez al día mediante infusión por goteo intravenosa a lo largo de un periodo de 30 minutos o más, seguido por retirada de la medicación durante al menos 4 semanas (la dosis se puede aumentar o disminuir de forma apropiada). Esto se establece como un ciclo de administración, que se repite.

30 La unidad terapéutica para oxaliplatino es tal que se administran 85 mg/m<sup>2</sup> una vez al día mediante inyección intravenosa, seguido por retirada de la medicación durante dos semanas. Esto se establece como un ciclo de administración, que se repite.

La unidad terapéutica para irinotecán (por ejemplo, clorhidrato de irinotecán) es tal que, por ejemplo, se administran 100 mg/m<sup>2</sup> una vez al día mediante infusión por goteo intravenosa durante 3 o 4 veces en un intervalo de una semana, seguido por retirada de la medicación durante al menos dos semanas.

35 La unidad terapéutica para topotecán es tal que por ejemplo, se administran 1,5 mg/m<sup>2</sup> una vez al día mediante infusión por goteo intravenosa durante 5 días, seguido por retirada de la medicación durante al menos 3 semanas.

40 La unidad terapéutica para ciclofosfamida es tal que, por ejemplo, en el caso de inyección intravenosa, se administran 100 mg una vez al día mediante inyección intravenosa durante días consecutivos. Si el paciente lo puede tolerar, la dosis diaria se puede aumentar a 200 mg. La dosis total es de 3.000 a 8.000 mg que se puede aumentar o disminuir de forma apropiada. Si fuera necesario, se puede inyectar o administrar por infusión por vía intramuscular, por vía intratorácica o por vía intratumoral. Por otra parte, en el caso de administración oral, por ejemplo, se administran de 100 a 200 mg por día.

La unidad terapéutica para gefitinib es tal que se administran 250 mg por vía oral una vez al día.

45 La unidad terapéutica para cetuximab es tal que, por ejemplo, se administran 400 mg/m<sup>2</sup> el primer día mediante infusión por goteo intravenosa y después se administran 250 mg/m<sup>2</sup> cada semana mediante infusión por goteo intravenosa.

La unidad terapéutica para bevacizumab es tal que, por ejemplo, se administran 3 mg/kg cada semana mediante infusión por goteo intravenosa.

50 La unidad terapéutica para trastuzumab es tal que, por ejemplo, normalmente para un adulto, una vez al día, se administran 4 mg de trastuzumab/kg (peso corporal) inicialmente, seguido por infusión por goteo intravenosa de 2 mg/kg a lo largo de un periodo de 90 minutos o más cada semana desde la segunda administración.

La unidad terapéutica para exemestano es tal que, por ejemplo, normalmente para un adulto se administran por vía oral 25 mg una vez al día después de la comida.

La unidad terapéutica para leuprorelina (por ejemplo, acetato de leuprorelina) es tal que, por ejemplo, normalmente para un adulto, se administran 11,25 mg por vía subcutánea una vez en 12 semanas.

55

La unidad terapéutica para imatinib es tal que, por ejemplo, normalmente para un adulto en la fase crónica de leucemia mielógena crónica, se administran por vía oral 400 mg una vez al día después de la comida.

5 La unidad terapéutica para una combinación de 5-FU y leucovorina es tal que, por ejemplo, se administran 425 mg/m<sup>2</sup> de 5-FU y 200 mg/m<sup>2</sup> de leucovorina desde el primer día hasta el quinto día mediante infusión por goteo intravenosa y este ciclo se repite en un intervalo de 4 semanas.

La invención se describe más concretamente con referencia a los siguientes Ejemplos y Ejemplos de Producción, que, sin embargo, no pretenden restringir el alcance de la invención.

10 Se usó cromatografía de capa fina en los Ejemplos y Ejemplos de Producción, se usó Gel de Sílice<sub>60</sub>F<sub>254</sub> (Merck) para la placa y se usó un detector UV para la detección. Se usó Wakogel™ C-300 o C-200 (Wako Pure Chemical Industries) o NH (Fuji Silysia Chemical) para gel de sílice de columna. En la espectrometría EM, se usó JMS-SX102A (JEOL) o QUATTROII (Micromass). En la espectrometría RMN, se usó dimetilsulfóxido como patrón interno en una solución de dimetilsulfóxido pesada; se usó un espectrómetro de Gemini-300 (300 MHz; Varian), VXR-300 (300 MHz; Varian), Mercury 400 (400 MHz; Varian), JNM-AL400(400 MHz; JEOL) o Inova 400 (400 MHz; Varian); y todos los valores  $\delta$  están en ppm.

15 Los patrones XRPD se recogieron en un BRUKER axs D8 ADVANCE. Se usó radicación de Cobre K-Alpha 1 a 35 kV, 40 mA. Se exploraron las muestras entre 4 y 400 2Theta a 0,20 /min. seg./etapa (etapa; 0,014, tiempo de etapa; 42,4 s). Se obtuvo intensidad de difracción de rayos X como recuentos o recuentos por segundo en el eje Y. Las intensidades no dependen únicamente de grado de 2 theta si no también de la cantidades de una muestra, cristalinidad de una muestra, forma cristalina de una muestra o una muestra y forma de sal de una muestra.

20 Los significados de las abreviaturas en la sección de Ejemplos se mencionan a continuación.

s: singlete

d: doblete

dd: doblete doble

t: triplete

25 dt: triplete doble

c: cuadruplete

m: multiplete

a: ancho

J: constante de acoplamiento

30 Hz: hertzios

DMSO-d<sub>6</sub>: dimetilsulfóxido pesado

BH<sub>3</sub>-DMS: complejo borano-sulfuro de dimetilo

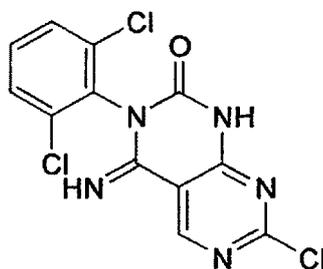
Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub>: hidrógenosulfato de tetrabutilamonio

Hf(OTf)<sub>4</sub>: trifluorometanosulfonato de hafnio

35 MTBE: metil *terc*-butil éter

### Ejemplo de Producción 1:

Producción de 7-cloro-3-(2,6-diclorofenil)-4-imino-3,4-dihidropirimidof[4,5-d]pirimidin-2(1H)-ona

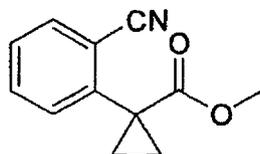


40 Se añadieron 1,12 g de hidruro sódico una solución en *N,N*-dimetilformamida (35 ml) de 3,0 g de 4-amino-2-cloropirimidin-5-carbonitrilo y se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se añadieron 4,38 g de isocianato de 2,6-diclorofenilo al líquido de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadieron acetato de etilo y una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico se añadieron a la solución de reacción, y la fase orgánica se separó. Ésta se lavó con una solución salina acuosa saturada, se secó con sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se retiró por evaporación. El sólido precipitado se solidificó con un disolvente mixto de metanol/acetato de etilo y se recogió a través de filtración para obtener 3,8 g del compuesto del título en forma de un sólido de color blanco. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 9,33 (1H, s), 7,66 (2H, d, J = 8,2 Hz), 7,53 (1H, t, J = 8,2 Hz)

45 IEN-EM Encontrado: m/z [M+H] 342

**Ejemplo de referencia 1:**Producción de 2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-amina

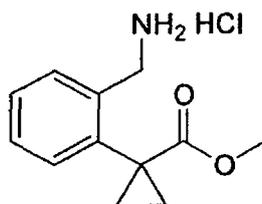
1) Producción de 1-(2-cianofenil)ciclopropanocarboxilato de metilo:



5 Se añadieron 1,5 g de bromuro de tetra-n-butilamonio, 6,5 g de 1,2-dibromoetano y 20 ml de una solución acuosa al 50 % de hidróxido sódico a una solución en tolueno (40 ml) de 4,0 g de 2-cianofenilacetato de metilo, y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió agua al líquido de reacción y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con una solución salina acuosa saturada, se secó con sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se retiró por evaporación a presión reducida. El producto en bruto se purificó a través de cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano/acetato de etilo) para obtener 3,0 g del compuesto del título en forma de un compuesto incoloro.

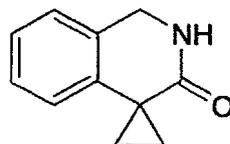
10 RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,66 (1H, dd, J = 7,6, 1,2 Hz), 7,55 (1H, td, J = 7,6, 1,2 Hz), 7,43-7,36 (2H, m), 3,66 (3H, s), 1,82 (2H, c, J = 3,7 Hz), 1,30 (2H, c, J = 3,7 Hz) IEN-EM Encontrado: m/z [M+H] 202

2) Producción de monohidrato de 1-[2-(aminometil)fenil]ciclopropanocarboxilato de metilo:



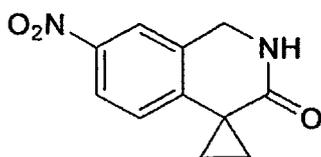
15 Se añadieron 1,6 g de paladio al 10 %-carbono a una solución en etanol (50 ml) de 2,95 g del compuesto obtenido en la reacción 1) anterior, y se agitó en una atmósfera de hidrógeno a una presión de 2 atmósferas, a temperatura ambiente durante 3 horas. El paladio-carbono se retiró a través de filtración, el filtrado se concentró a presión reducida y el producto en bruto se lavó con éter dietílico para obtener 3,2 g del compuesto del título en forma de un sólido incoloro. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8,47 (2H, s), 7,55 (1H, d, J = 6,8 Hz), 7,38 (3H, td, J = 7,2, 2,1 Hz), 7,36-7,29 (2H, m), 4,04 (2H, d, J = 4,9 Hz), 3,54 (3H, s), 1,61-1,56 (2H, m), 1,33-1,29 (2H, m) IEN-EM Encontrado: m/z [M+H] 206

3) Producción de 1',2'-dihidro-3'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-3'-ona:



25 Se añadieron 4 ml de una solución acuosa 5 N de hidróxido sódico a una solución en metanol (50 ml) de 3,2 g del compuesto obtenido en la reacción 2) anterior, y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Ésta se neutralizó con ácido clorhídrico 1 N añadido a la misma, y se retiró metanol por evaporación a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con una solución salina acuosa saturada, se secó con sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se retiró por evaporación a presión reducida para obtener 2,1 g del compuesto del título en forma de un sólido incoloro. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,23 (1H, td, J = 7,8, 1,1 Hz), 7,18 (1H, td, J = 7,3, 1,1 Hz), 7,10 (1H, dd, J = 7,3, 1,0 Hz), 6,73 (1H, dd, J = 7,8, 1,0 Hz), 4,69 (2H, d, J = 1,5 Hz), 1,85 (2H, c, J = 3,7 Hz), 1,24 (2H, c, J = 3,7 Hz) IEN-EM Encontrado: m/z [M+H] 174

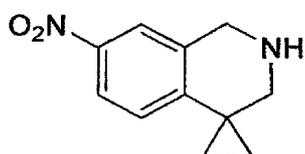
4) Producción de 7'-nitro-1',2'-dihidro-3'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-3'-ona:



5 Se añadieron gradualmente 1,3 g de nitrato potásico a una solución en ácido sulfúrico (60 ml) de 2,1 g del compuesto obtenido en la reacción 3) anterior, llevando 5 minutos, y se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 10 minutos. El líquido de reacción se vertió en agua enfriada con hielo, el cristal precipitado se recogió a través de filtración y se lavó con agua para obtener 2,4 g del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo.

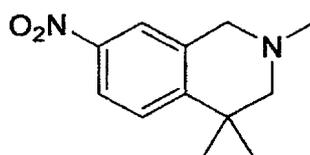
RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,09 (1H, dd, J = 8,8, 2,4 Hz), 8,01 (1H, t, J = 2,4 Hz), 6,86 (1H, d, J = 8,8 Hz), 6,30 (1H, s), 4,78 (2H, d, J = 1,5 Hz), 2,01 (2H, c, J = 4,1 Hz), 1,35 (2H, c, J = 4,1 Hz) IEN-EM Encontrado: m/z [M+H] 219

10 5) Producción de 7'-nitro-1',2'-dihidro-3'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolina]:



15 Con refrigeración con hielo, se añadieron 6,3 g de complejo trifluoruro de boro-éter dietílico a una suspensión en tetrahidrofurano de 1,3 g de borohidruro sódico, y se agitó durante 1 hora. Se añadió una solución en tetrahidrofurano (100 ml) de 2,4 g del compuesto obtenido en la reacción 4) anterior al líquido de reacción, y se calentó a reflujo durante 2 horas. El líquido de reacción se enfrió, y después se neutralizó con una solución acosa saturada de bicarbonato sódico. El disolvente se retiró por evaporación a presión reducida, el residuo se disolvió en etanol, se le añadió ácido clorhídrico 5 N y se calentó a reflujo durante 1 hora. El líquido de reacción se enfrió, después el disolvente se retiró por evaporación a presión reducida y el residuo se neutralizó con una solución acuosa de carbonato potásico. La fase acuosa se extrajo con cloroformo, la fase orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se retiró por evaporación a presión reducida para obtener el compuesto del título. IEN-EM Encontrado: m/z [M+H] 205

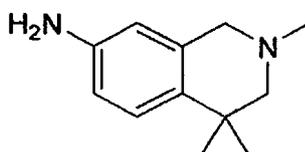
6) Producción de 2'-metil-7'-nitro-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolina]:



25 Se añadieron 1,5 g de cianoborohidruro sódico a una solución en metanol (50 ml) del compuesto (2,3 g) obtenido en la reacción 5) anterior, 2,7 ml de una solución acuosa al 37 % de formaldehído y 0,7 ml de ácido acético, y se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. El líquido de reacción se neutralizó con una solución acosa saturada de bicarbonato sódico y se retiró metanol por evaporación a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro, el disolvente se retiró por evaporación a presión reducida y el producto en bruto se purificó a través de cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano/acetato de etilo) para obtener 1,7 g del compuesto del título en forma de un sólido incoloro.

30 RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,97 (1H, dd, J = 8,8, 2,4 Hz), 7,91 (1H, d, J = 2,4 Hz), 6,78 (1H, d, J = 8,8 Hz), 3,77 (2H, s), 2,57 (2H, s), 2,48 (3H, s), 1,16-1,12 (2H, m), 1,10-1,06 (2H, m) IEN-EM Encontrado: m/z [M+H] 219

7) Producción de 2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-amina:

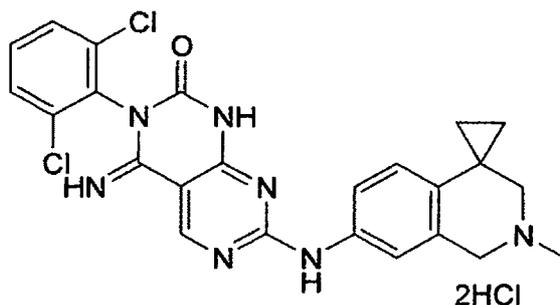


Se añadieron 800 mg de paladio al 10 %-carbono a una solución en etanol (20 ml) de 1,7 g del compuesto obtenido en la reacción 6) anterior y se agitó en una atmósfera de hidrógeno, a 1 atmósfera de presión, a temperatura ambiente durante 15 horas. Se retiró paladio-carbono a través de filtración, el filtrado se concentró a presión reducida y el producto en bruto se purificó a través de cromatografía básica en columna sobre gel de sílice (hexano/acetato de etilo) para obtener 1,1 g del compuesto del título en forma de un sólido incoloro.

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 6,50-6,48 (2H, m), 6,38-6,36 (1H, m), 3,61 (2H, s), 3,50 (2H, s), 2,49 (2H, s), 2,42 (3H, s), 0,91 (2H, dd, J = 6,3, 4,6 Hz), 0,81 (2H, dd, J = 6,3, 4,6 Hz) IEN-EM Encontrado: m/z [M+H] 189

### Ejemplo de Referencia 2:

Producción de diclorhidrato de 3-(2,6-diclorofenil)-4-imino-7-[(2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-il) amino]-3,4-dihidropirimido[4,5-d]pirimidin-2(1H)-ona



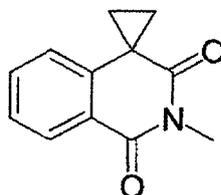
Una solución en 1-butanol de 1,5 g de 7-cloro-3-(2,6-diclorofenil)-4-imino-3,4-dihidropirimido[4,5-d]pirimidin-2(1H)-ona obtenida en Ejemplo de Producción 1, 1 g de 2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-amina obtenida en el Ejemplo de Referencia 1 y 0,83 g de ácido p-toluenosulfónico monohidrato se agitó a 90 °C durante 15 minutos. El líquido de reacción se enfrió, después se diluyó con cloroformo y la fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y después con una solución salina acuosa saturada, y se secó con sulfato de magnesio anhidro, se filtró y el disolvente se retiró por evaporación. El producto apenas purificado así obtenido se purificó a través de cromatografía básica en columna sobre gel de sílice para obtener 3-(2,6-diclorofenil)-4-imino-7-[(2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-il)amino]-3,4-dihidropirimido[4,5-d]pirimidin-2(1H)-ona. Ésta se disolvió en un disolvente mixto de cloroformo/metanol y se les añadieron 1,5 equivalentes de una solución acuosa de ácido clorhídrico, y se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Después, el disolvente se retiró por evaporación y el residuo se lavó con acetato de etilo para obtener 1,5 g (rendimiento, 64 %) del compuesto del título en forma de un sólido de color amarillo.

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 11,83 (1H, s a), 10,05 (1H, s a), 9,10 (1H, s), 8,88 (1H, s), 7,79-7,68 (1H, m), 7,63-7,59 (2H, m), 7,47 (1H, t, J = 8,2 Hz), 7,38 (1H, d, J = 8,3 Hz), 6,63 (1H, d, J = 8,5 Hz), 3,59 (2H, s), 2,44 (2H, s), 2,32 (3H, s), 0,90-0,81 (4H, m) IEN-EM Encontrado: m/z [M+H]<sup>+</sup> 494

### Ejemplo 1:

Producción de diclorhidrato de 2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-amina

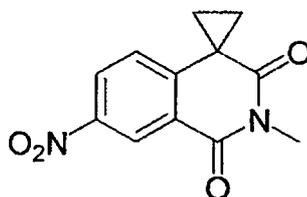
1) Producción de 2'-metil-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolina]-1',3'(2'H)-diona



A una solución de *N*-metilhomoftalimida (4,05 kg), 1,2-dibromoetano (2,39 l) y Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> (785 g) en *N,N*-dimetilformamida (32 l) se le añadieron K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6,39 kg) y *N,N*-dimetilformamida (8,5 l) a temperatura ambiente. Después, la solución se calentó a 70 °C y se agitó durante 2 horas a 68 ~70 °C. Después de enfriar la mezcla de reacción a 40 °C, se añadió agua (81 l). Después de agitar la suspensión durante 1 hora a 40 °C, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La suspensión se filtró y el cristal húmedo obtenido se lavó con la mezcla de *N,N*-dimetilformamida y agua (*N,N*-dimetilformamida:agua = 1:1, 20 l), dos veces y agua (20 l), secuencialmente. Se secó a temperatura ambiente en un flujo de N<sub>2</sub> durante varias horas y después a presión reducida durante una noche para proporcionar el compuesto del título en forma de un cristal de color rosa pálido (4,67 kg, ensayo de 4,30 kg, rendimiento del 92 %).

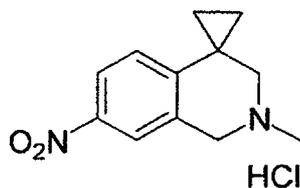
RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8,26 (1H, dd, J = 7,9, 0,9 Hz), 7,59-7,54 (1H, m), 7,41-7,35 (1H, m), 6,81 (1H, d, J = 8,1 Hz), 3,41 (3H, s), 2,14 (2H, dd, J = 7,9, 4,0 Hz), 1,63 (2H, dd, J = 7,9, 4,0 Hz).

## 2) Producción de 2'-metil-7'-nitro-1'-H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolina]-1',3'(2'H)-diona



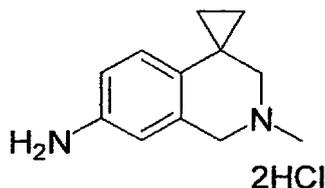
- 5 A una mezcla enfriada de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (9,80 l) y  $\text{HNO}_3$  (4,90 l) se le añadió el compuesto preparado por el procedimiento 1) (4,65 kg) a  $0 \sim 5^\circ\text{C}$  durante 2 horas. La suspensión obtenida se agitó durante 1 hora a  $0 \sim 5^\circ\text{C}$ . La mezcla se diluyó con ácido acético (19 l) por debajo de  $10^\circ\text{C}$ . Después, la solución obtenida se vertió en agua fría (90 l) durante 1 hora. Se usaron ácido acético (5,5 l) y agua (8 l) para el enjuague. La suspensión de color amarillo obtenida se agitó durante una noche a  $10^\circ\text{C}$ . Después de filtrar la suspensión, el cristal húmedo obtenido se lavó con agua (25 l), dos veces. Se secó a temperatura ambiente en un flujo de  $\text{N}_2$  durante 3,5 h, después a presión reducida durante una noche para proporcionar el compuesto en bruto en forma de un cristal de color amarillo pálido (6,57 kg, ensayo de 4,93 kg, rendimiento del 94 %). El cristal en bruto se suspendió en el MTBE (62 l) y se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Después de filtrarse, el cristal húmedo obtenido se lavó con MTBE (24 l, 12 l), dos veces. Se secó a temperatura ambiente en un flujo de  $\text{N}_2$  durante 1 h, después a presión reducida durante una noche para proporcionar el compuesto del título en forma de un cristal de color amarillo pálido (4,76 kg, ensayo de 4,52 kg, recuperado 92 %).
- 10
- 15 RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 9,11 (1H, d, J = 2,4 Hz), 8,39 (1H, dd, J = 8,8,2,4 Hz), 6,98 (1H, d, J = 8,8 Hz), 3,44 (3H, s), 2,32 (2H, dd, J = 8,2, 4,2 Hz), 1,77 (2H, dd, J = 8,2, 4,2 Hz).

## 3) Producción de clorhidrato de 2'-metil-7'-nitro-2',3'-dihidro-1'-H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolina]



- 20 El compuesto preparado por el procedimiento 2) (4003 g) se suspendió en tetrahidrofurano (28 l) y la mezcla se calentó a  $60^\circ\text{C}$ . Se añadió gota a gota  $\text{BH}_3\text{-DMS}$  (6,39 l) a la misma temperatura durante 2 horas. La mezcla de reacción se agitó a  $57\text{-}62^\circ\text{C}$  durante 24 h, y después a  $60\text{-}65^\circ\text{C}$  durante 24 horas en un flujo de  $\text{N}_2$ . Se añadió tetrahidrofurano (2,43 l) después de 20 h, debido a la disminución de la cantidad del disolvente. Después de enfriarse la solución a  $10^\circ\text{C}$ , se añadió lentamente (24 l). Se agitó adicionalmente durante 1 hora. Después, la solución se calentó para retirar tetrahidrofurano con la temperatura del baño controlada de  $80$  a  $100^\circ\text{C}$ . Finalmente,
- 25 la temperatura de la solución alcanzó  $75^\circ\text{C}$ . Después de retirarse casi completamente el tetrahidrofurano, se añadió  $\text{HCl}$  3 M (40 l) y la solución se calentó a  $78^\circ\text{C}$  durante 2 horas. Después de enfriarse la solución a  $10^\circ\text{C}$ , se añadieron  $\text{NaOH}$  5 M (32 l) y diclorometano (40 l) con refrigeración ( $<15^\circ\text{C}$ ) y la fase orgánica se separó. Después de extraerse la fase acuosa con diclorometano (60 l), se filtró para retirar los materiales insolubles y se extrajo de nuevo con diclorometano (20 l). La fase orgánica combinada se concentró a 30 l. El disolvente se cambió por tolueno y su volumen redujo a 20 l. A la solución, se le añadieron tolueno (60 l) y carbón activado (400 g) y se agitó durante una noche. Después de la filtración, se lavó con tolueno (12 l), dos veces. La fase acuosa restante en la solución de tolueno se separó y la fase orgánica se secó a través de sulfato sódico (2 kg). Después de la filtración, el agente de secado se lavó con tolueno (5 l), dos veces. Se añadió en porciones  $\text{HCl}$  4 M-dioxano (3,75 l) a la solución combinada a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La suspensión se filtró. El cristal obtenido se lavó
- 30 dos veces con tolueno (20 l) y se secó al vacío durante un día para proporcionar el producto del título (3,19 kg, ensayo de 2,27 kg de anilina libre, rendimiento del 64,0 %).
- 35 RMN  $^1\text{H}$  de la base libre (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7,97 (1H, dd, J = 8,8, 2,4 Hz), 7,91 (1H, d, J = 2,4 Hz), 6,78 (1H, d, J = 8,8 Hz), 3,77 (2H, s), 2,56 (2H, s), 2,48 (3H, s), 1,17-1,11 (2H, m), 1,10-1,05 (2H, m).

## 4) Producción de diclorhidrato de 2-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-amina



A una solución del compuesto preparado por el procedimiento 3) se le añadió (5,9 kg, 4,0 kg en forma libre) en etanol (20 l) polvo de cinc (4,79 kg) a 70 °C durante 10 minutos, y después HCl 12 M (10,69 l) en etanol (12 l) durante 60 minutos a 70 ~ 78 °C. La suspensión de color amarillo obtenida se agitó durante 1 hora a 70 °C. Después de enfriar a 5 °C, se añadieron diclorometano (53,24 kg) y NaOH 5 M (37,74 kg). Se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente y después se filtró a través de Celite. La torta húmeda se lavó con la mezcla de agua y diclorometano (1:1, 20 l), dos veces. El filtrado y los lavados se combinaron y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con diclorometano (53,05 kg, 26,63 kg), dos veces. La fase orgánica combinada se lavó con NaOH 1 M (20 l) y agua (20 l). La fase orgánica obtenida se evaporó y el disolvente se cambió por 2-propanol. El volumen se ajustó a 40 l. Después, la solución se trató con carbono activado (400 g) durante 40 minutos a temperatura ambiente. La suspensión se filtró y el carbono húmedo se lavó con 2-propanol (20 l), dos veces. Al filtrado combinado y los lavados se les añadió HCl 2 M en etanol (18,3 l) durante 60 minutos a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La suspensión se filtró y el cristal húmedo se lavó con 2-propanol (12 l), dos veces. Se secó a temperatura ambiente en un flujo de N<sub>2</sub> durante varias horas, después a presión reducida durante una noche para proporcionar el compuesto del título en forma de un cristal de color amarillo pálido (6,35 kg, ensayo de 3,83 kg de anilina libre, rendimiento cuantitativo).

RMN <sup>1</sup>H de base libre (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 6,50-6,48 (2H, m), 6,38-6,36 (1H, m), 3,61 (2H, s), 3,50 (2H, s), 2,49 (2H, s), 2,42 (3H, s), 0,91 (2H, dd, J = 6,3, 4,6 Hz), 0,81 (2H, dd, J = 6,3, 4,6 Hz). IEN-EM Encontrado: M/Z [M+H] 189

**Ejemplo 2:**Producción de hidrato 3,5 de diclorhidrato de 3-(2,6-diclorofenil)-4-imino-7-[(2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-il)amino]-3,4-dihidropirimido[4,5-d]pirimidin-2(1H)-ona

A una suspensión agitada de diclorhidrato de 2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-amina (1,90 kg, 7,27 mol, 1,09 equiv.) en cloroformo (19 l) a temperatura ambiente se le añadió NaOH 5 N (3,8 l), y la mezcla se agitó durante 5 minutos. La fase de cloroformo se separó y la fase acuosa se extrajo con cloroformo (9,5 l). Las fases de cloroformo combinadas se lavaron con NaCl acuoso al 5 % (9,5 l), después se secaron sobre sulfato sódico anhidro (3,8 kg) durante 1 hora. Se filtró sulfato sódico y se lavó con cloroformo (3,8 l). El filtrado y el lavado combinados se evaporaron para dar aceite en bruto. Se añadió metanol (4,6 l) y la solución se evaporó para dar 2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-amina (1,40 kg) en forma de cristales de color parduzco con una recuperación en bruto del 102 %.

A una solución agitada del compuesto obtenido anteriormente (1,40 kg, 7,27 mol, 1,09 equiv.) en metanol (10 l) se le añadieron HCl 4 N-acetato de etilo (1,92 l) por debajo de 15 °C y después se añadió Hf(OTf)<sub>4</sub> (103 g). Después enfriar a 14 °C, se añadieron 7-cloro-3-(2,6-diclorofenil)-4-imino-3,4-dihidropirimido[4,5-d]pirimidin-2(1H)-ona (2,28 kg, 6,66 mol) y metanol (1,5 l) y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. Se añadieron metanol (6,9 l) y acetato de etilo (9,2 l) y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió acetato de etilo (4,6 l) y la suspensión se agitó durante 1 hora. Después, se añadió acetato de etilo (4,6 l) y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La suspensión se filtró, se lavó con metanol-acetato de etilo (1:1, 6,9 l) y después metanol-acetato de etilo (1:2, 6,9 l) y se secó a temperatura ambiente aspirando en un flujo de N<sub>2</sub> durante 6 horas. Después a presión reducida con flujo de N<sub>2</sub> durante una noche para dar el diclorhidrato de 3-(2,6-diclorofenil)-4-imino-7-[(2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-il) amino]-3,4-dihidropirimido[4,5-d]pirimidin-2(1H)-ona (3,883 kg, ensayo de 3,324 kg de base libre) en forma de cristales de color amarillo con un rendimiento del 101 %.

A una suspensión agitada del compuesto en bruto obtenido anteriormente (3,862 kg, ensayo de 3,306 kg de base libre, 6,687 mol) en cloroformo (79 l) y metanol (33 l) a temperatura ambiente se le añadió NaHCO<sub>3</sub> acuoso al 5 % (33 l) y la mezcla se agitó durante unos pocos minutos. La fase orgánica se separó y se secó sobre sulfato sódico anhidro (6,62 kg). Se retiró sulfato sódico por filtración y se lavó con cloroformo-metanol (12:5, 14,1 l). El filtrado y el lavado se concentraron a 6 l, se añadió etanol (33 l) y la solución se concentró a 10 l. Se añadió de nuevo etanol (33 l) y la solución se concentró a 10 l. Se añadieron etanol (16,5 l) y N,N-dimetilformamida (6,6 l) a la suspensión y se calentó a 55 °C. Se añadió HCl 2 N-etanol (3,34 l) a 55 °C, después se añadió hidrato 3,5 de diclorhidrato de 3-(2,6-diclorofenil)-4-imino-7-[(2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro[ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-il)amino]-3,4-dihidropirimido[4,5-d]pirimidin-2(1H)-ona (17 g) y se añadió gota a gota HCl 2 N-etanol (3,68 l) durante 1 hora a 55 °C y se maduró durante 1 hora a la misma temperatura. Después, la suspensión se enfrió gradualmente a temperatura ambiente y se maduró durante una noche a temperatura ambiente. La suspensión se filtró, se lavó con

5 etanol (9,9 l x 2 veces), y se secó a la temperatura ambiente en un flujo de N<sub>2</sub> durante varias horas, después a presión reducida durante una noche. El cristal secado se trató con N<sub>2</sub> húmedo para controlar el contenido de agua en el cristal. Se obtuvo hidrato 3,5 de diclorhidrato de 3-(2,6-diclorofenil)-4-imino-7-[(2'-metil-2',3'-dihidro-1'H-espiro [ciclopropano-1,4'-isoquinolin]-7'-il)amino]-3,4-dihidropirimido[4,5-d]pirimidin-2(1H)-ona (3,401 kg, ensayo de 2,600 kg de base libre) en forma de cristales de color amarillo pálido con un rendimiento del 79 %. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 11,83 (1H, s a), 10,05 (1H, s a), 9,10 (1H, s), 8,88 (1H, s), 7,79-7,68 (1H, m), 7,63-7,59 (2H, m), 7,47 (1H, t, J = 8,2 Hz), 7,38 (1H, d, J = 8,3 Hz), 6,63 (1H, d, J = 8,5 Hz), 3,59 (2H, s), 2,44 (2H, s), 2,32 (3H, s), 0,90-0,81 (4H, m). IEN-EM Encontrado: m/z [M+H] 494

Patrones XRPD:

10 (2 theta (grados), Intensidad (cps)): (8,4°, 26,4), (12,7°, 20,4), (15,3°, 18,8), (16,3°, 18,1), (22,32°, 30,9), (24,5°, 24,5), (24,9°, 31,2), (26,5°, 24,6), (28,6°, 16,6).

Contenido de agua:

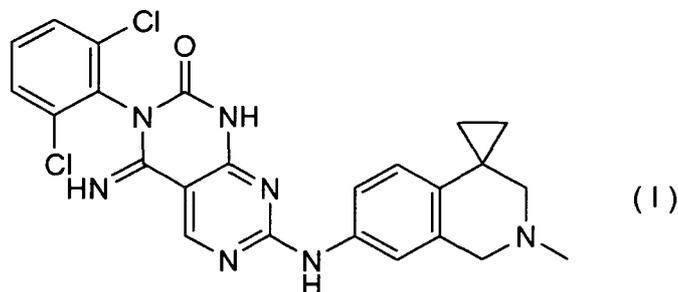
15 Cuando el contenido de agua del material cristalino se midió mediante un ensayo Karl Fischer usando un aparato MKC-510 de Kyoto Electronics Manufacturing, el contenido de agua del material cristalino fue 10,3 %, teóricamente 10,0 %.

### **Aplicabilidad industrial**

Los compuestos de la invención tienen efecto inhibidor de quinasa Weel excelente y por lo tanto son útiles en el campo de medicinas, especialmente tratamiento de diversos cánceres.

REIVINDICACIONES

1. Un hidrato del Compuesto A o un hidrato de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto A de fórmula (I):



2. Un hidrato de la Reivindicación 1, que es un hidrato de un diclorhidrato del Compuesto A de fórmula (I).

5 3. Una forma cristalina de un hidrato de la Reivindicación 1.

4. Una forma cristalina de la Reivindicación 3, que es una forma cristalina de un hidrato de diclorhidrato del Compuesto A de fórmula (I).

5. La forma cristalina de acuerdo con la Reivindicación 4, en la que el hidrato es un hidrato 3,5.

10 6. La forma cristalina de acuerdo con la Reivindicación 5, que tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X, obtenido usando una radiación CuK alfa, que contiene los siguientes valores de ángulo 2 theta: 8,4°, 22,3° y 24,9°, y al menos un valor de ángulo 2 theta seleccionado de entre el grupo que consiste en: 12,7°, 15,3°, 16,3°, 24,4°, 26,5° y 28,6°.

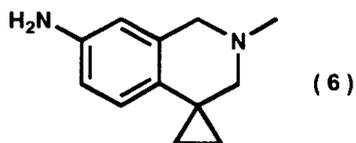
7. Un procedimiento para la preparación de una forma cristalina de un hidrato 3,5 de diclorhidrato del Compuesto A de fórmula (I), que comprende las etapas de:

- 15 (a) concentrar una solución del Compuesto A en un disolvente orgánico para formar una suspensión;  
 (b) tratar la suspensión de la etapa (a) con cloruro de hidrógeno en un disolvente con calentamiento;  
 (c) enfriar la suspensión de la etapa (b) a temperatura ambiente;  
 (d) recoger los cristales de la suspensión resultante de la etapa (c);  
 (e) secar los cristales de la etapa (d); y  
 20 (f) tratar los cristales secados de la etapa (e) con un gas inerte a la humedad para estabilizar el contenido de agua en la forma cristalina deseada.

8. Una forma cristalina de diclorhidrato del Compuesto A de fórmula (I), que se prepara por el procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 7.

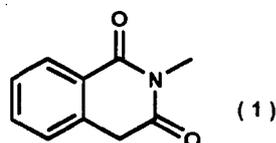
25 9. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del hidrato o de la forma cristalina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 u 8, y un vehículo o un diluyente farmacéuticamente aceptables.

10. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (6):

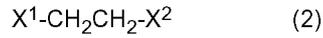


o una sal del mismo, que comprende las etapas de:

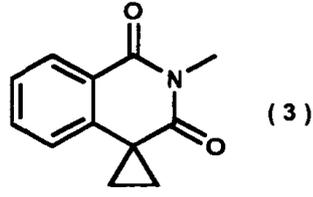
30 (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (1):



con un compuesto de fórmula (2):

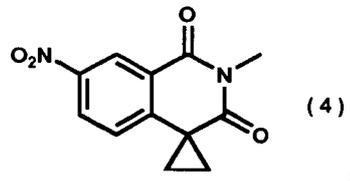


en la que  $X^1$  y  $X^2$  son cada uno independientemente un grupo saliente, para obtener un compuesto de fórmula (3):

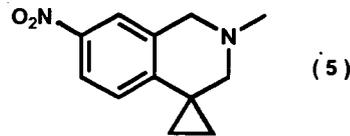


5

(b) nitrar un compuesto de fórmula (3) para obtener un compuesto de fórmula (4):



(c) reducir los grupos oxo del compuesto de fórmula (4) para obtener un compuesto de fórmula (5):



- 10 o una sal del mismo;
- (d) reducir un grupo nitro del compuesto de fórmula (5) o una sal del mismo para obtener un compuesto de fórmula (6) o una sal del mismo; y convertir opcionalmente dicho compuesto de fórmula (6) en una sal del mismo.
11. Un hidrato o una forma cristalina de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6 u 8 para uso en terapia.
- 15 12. Un hidrato o una forma cristalina de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6 u 8 para uso en el tratamiento del cáncer.

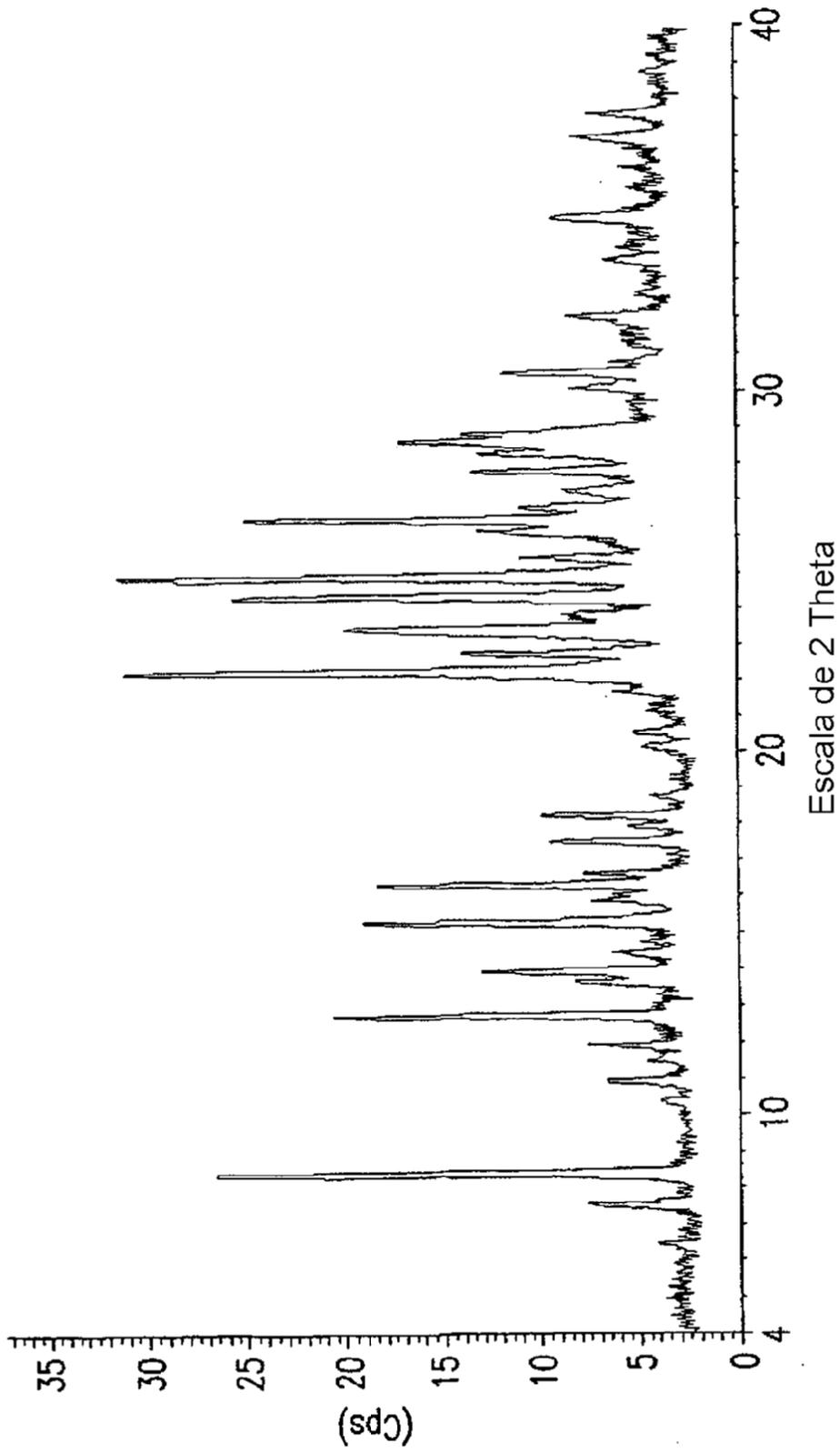


FIG.1