

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 430 989**

51 Int. Cl.:

C07D 235/26 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.05.2010 E 10728768 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2013 EP 2432766**

54 Título: **Compuesto anticancerígeno y composición farmacéutica que lo contiene**

30 Prioridad:

18.05.2009 FR 0902392

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

22.11.2013

73 Titular/es:

**SANOFI (100.0%)
54, rue La Boétie
75008 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**CARRY, JEAN-CHRISTOPHE;
CHEVE, MICHEL;
CLERC, FRANÇOIS;
COMBEAU, CÉCILE;
GONTIER, SYLVIE;
KRICK, ALAIN;
LACHAUD, SYLVETTE y
SCHIO, LAURENT**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

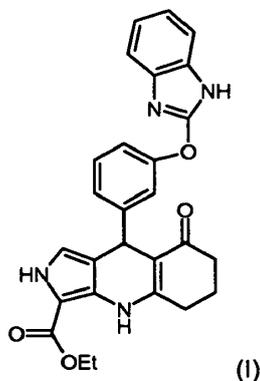
ES 2 430 989 T3

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).

DESCRIPCION

Compuesto anticancerígeno y composición farmacéutica que lo contiene

La presente invención se refiere al compuesto de fórmula (I):



- 5 así como a la composición farmacéutica que lo contiene. De preferencia, este compuesto es el compuesto levógiro (Ia). Este compuesto puede utilizarse como agente anticancerígeno. La invención se refiere a un procedimiento de obtención del compuesto (I) o (Ia) así como a algunos de los intermedios de dicho procedimiento.

[Problema técnico]

- 10 Diversas estrategias para tratar el cáncer tienen por objeto inhibir las quinasas de tipo Aurora, particularmente Aurora A y B, que están implicadas en la regulación de la mitosis; véase a este propósito Nature Reviews 2004, 4, 927-936; Cancer Res. 2002, 94, 1320; Oncogene 2002, 21, 6175; Mol.Cell.Biol. 2009, 29(4), 1059-1071; Expert Opin. Ther. Patents 2005, 15(9), 1169-1182; Clin. Cancer Res. 2008, 14(6), 1639).

- 15 Algunos compuestos inhibidores de Aurora (por ejemplo, MLN-8237 de la compañía Millenium, AZD-1152 de la compañía Astra-Zeneca o SNS-314 de la compañía Sunesis) están siendo evaluados actualmente en ensayos clínicos. MLN-8237 es selectivo frente a Aurora A mientras que AZD-1152 es selectivo frente a Aurora B. Al estar las dos quinasas, Aurora A y B, desreguladas en el cáncer, inhibir a la vez Aurora A y B procura una ventaja con relación a una inhibición selectiva de una u otra quinasa. Además, existen compuestos multiquinasas tales como el compuesto de la compañía Astex, AT-9283, que inhiben varias quinasas, entre ellas Aurora A y B. Es difícil, para este tipo de compuestos, predecir que la inhibición de las quinasas Aurora podrá realmente ser explotada en clínica, porque la inhibición de las otras quinasas distintas de Aurora A y B es susceptible de engendrar efectos secundarios.

Un problema técnico que pretende resolver la invención es por lo tanto poner a punto un compuesto que sea un inhibidor potente y selectivo de Aurora A y B.

- 25 La enzima fosfodiesterasa con nucleótido cíclico PDE3 juega un papel importante en la señalización mediada por los nucleótidos cíclicos cAMP y cGMP que tiene lugar en los miocitos de los músculos lisos cardiacos y vasculares. La inhibición de PDE3 por pequeñas moléculas tiene una acción inótrópica y vasodilatadora que puede resultar útil a corto término para el tratamiento de algunas cardiomiopatías que presentan defectos de contracción cardiaca. Sin embargo, se ha demostrado que el uso a largo plazo de estas moléculas aumenta la mortalidad en este tipo de pacientes. Además, la utilización de inhibidores de PDE3 en pacientes que no presentan este tipo de patología, tales como pacientes que padecen cáncer, puede entrafñar efectos indeseables sobre el ritmo cardiaco. Por lo tanto es importante, en el marco de una terapia anticancerosa, no inhibir PDE3. Véase a este propósito, Exp.Opin.Invest.drugs 2002, 11, 1529-1536 "Inhibitors of PDE3 as adjunct therapy for dilated cardiomyopathy"; Eur. Heart J. suplementos 2002, 4 (suplemento D), D43-D49 "What is wrong with positive inotropic drugs ? Lessons from basic science and clinical trials". Otro problema técnico que pretende resolver la invención es que el compuesto inhibidor de Aurora A y B no inhiba la enzima PDE3.

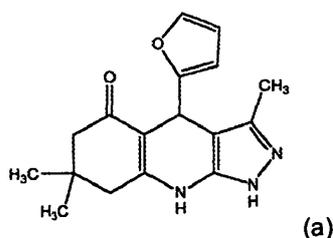
- 35 Es importante igualmente que el agente anticanceroso presente una estabilidad metabólica (véase cap.10.2.2 de « Chimie pharmaceutique » G.L.Patrick, De Boeck, ed. 2003, isbn= 2-7445-0154-9). En efecto, la insuficiencia de la farmacocinética de los compuestos farmacéuticos es una de las principales razones del fracaso de su desarrollo (Curr. Pharm. 2005,11, 3545 "Why drugs fail—a study on side effects in new chemical entities"). Además, el metabolismo a menudo es un determinante importante del aclaramiento, de las interacciones medicamentosas, de la variabilidad intraindividual de la farmacocinética, así como de la eficacia clínica y de la toxicidad (Curr.Drug Metab. 2004, 5(5), 443—462 "Human hepatocytes in primary culture: the choice to investigate drug metabolism in man"). Otro problema técnico que pretende resolver la invención es que el compuesto inhibidor de Aurora A y B presente una buena estabilidad química y metabólica.

[Técnica anterior]

Bioorg.Med.Chem.Lett. 2002, 2, 1481-1484 describe en la tabla II el compuesto 6A que tiene una estructura tricíclica diferente.

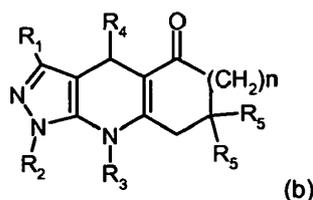
- 5 La solicitud internacional de patente WO 01/36422 describe compuestos que tienen una estructura tricíclica diferente.

La solicitud internacional de patente WO 2004/005323 describe el compuesto E5A29 de fórmula (a) :



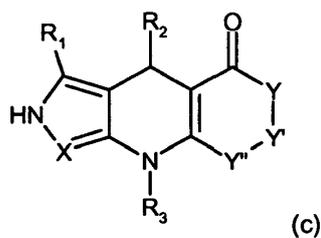
como receptor de EPO que tiene una estructura tricíclica diferente. Además, no comprende la parte superior del triciclo del núcleo fenilo sustituido con el grupo -O-benzimidazolilo.

- 10 La solicitud internacional de patente WO 2005/016245 describe compuestos anticancerosos que presentan una estructura tricíclica diferente, de fórmula (b):

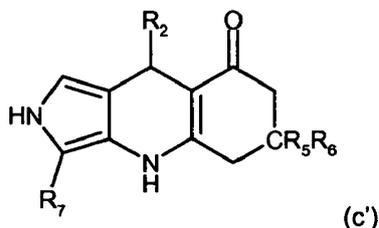


en la que R₄ puede representar un grupo fenilo sustituido. No se describe ni se sugiere la sustitución por el grupo -O-benzimidazolilo.

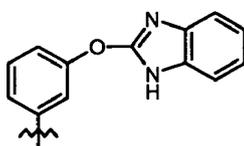
- 15 La solicitud internacional de patente WO 2007/012972 y la patente EP 1746097 describen compuestos anticancerosos de fórmula (c)



y según un modo de realización, según la fórmula (c') :

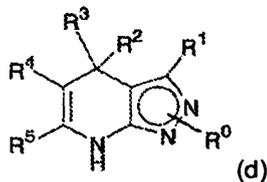


- 20 R₂ representa un grupo arilo o heteroarilo sustituido, X representa N o CR₇, R₅ y R₆ pueden representar los dos H o CH₃. Ningún ejemplo de WO 2007/012972 comprende el grupo



que caracteriza el compuesto de fórmula (I). Además, entre los compuestos que se han desdoblado, la solicitud internacional de patente WO 2007/012972 muestra que los compuestos dextrógiros son los más activos sobre Aurora A o B (véase el ej. 119 y 120 en la tabla de la página 147).

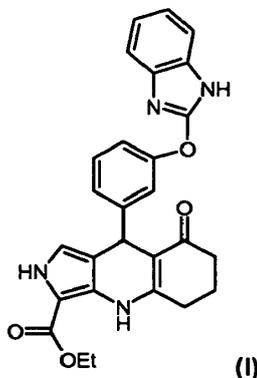
La solicitud internacional de patente WO 02/062795 describe compuestos de fórmula (d):



en la que R4 y R5 pueden opcionalmente formar un ciclo de 5 ó 6 eslabones.

[Descripción breve de la invención]

La invención se refiere al compuesto de fórmula (I) :

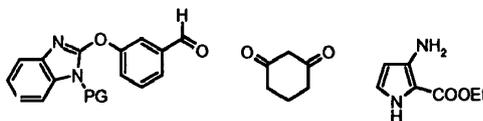


10 más particularmente en su forma levógiro (Ia), particularmente la que presenta el poder rotatorio $[\alpha]_D = -38,6 \pm 0,7$ a una concentración de 0,698 mg/ml en metanol. El compuesto puede existir en forma de base o de una sal de adición a un ácido, particularmente un ácido farmacéuticamente aceptable. Este compuesto es un inhibidor selectivo de las quinasas Aurora A y B. Puede utilizarse como agente anticancerígeno.

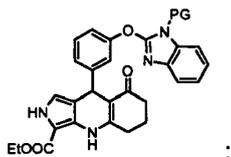
15 La invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende el compuesto así como al menos a un excipiente farmacéuticamente aceptable y al medicamento que comprende el compuesto.

La invención se refiere también al procedimiento de obtención del compuesto que consiste en :

■ hacer reaccionar juntos los 3 compuestos siguientes, designando PG un grupo protector de la función NH del bencimidazol



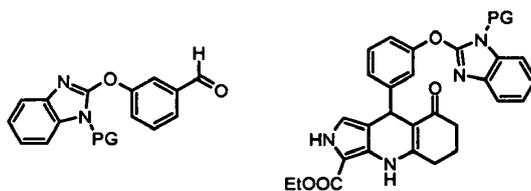
20 para obtener el compuesto :



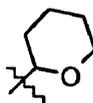
■ desproteger la función NH del bencimidazol para obtener el compuesto de fórmula (I);

■ en caso necesario, separar el compuesto levógiro.

25 La reacción entre los 3 compuestos se realiza en un alcohol a reflujo, particularmente 1-butanol. Los intermedios siguientes también forman parte de la invención :

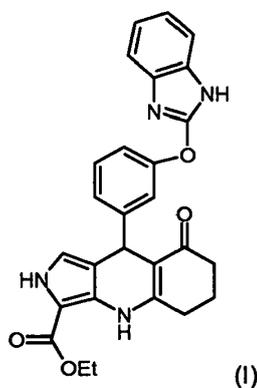


PG puede ser por ejemplo el grupo .



[Descripción de la invención]

- 5 La invención se refiere al compuesto de fórmula (I) :

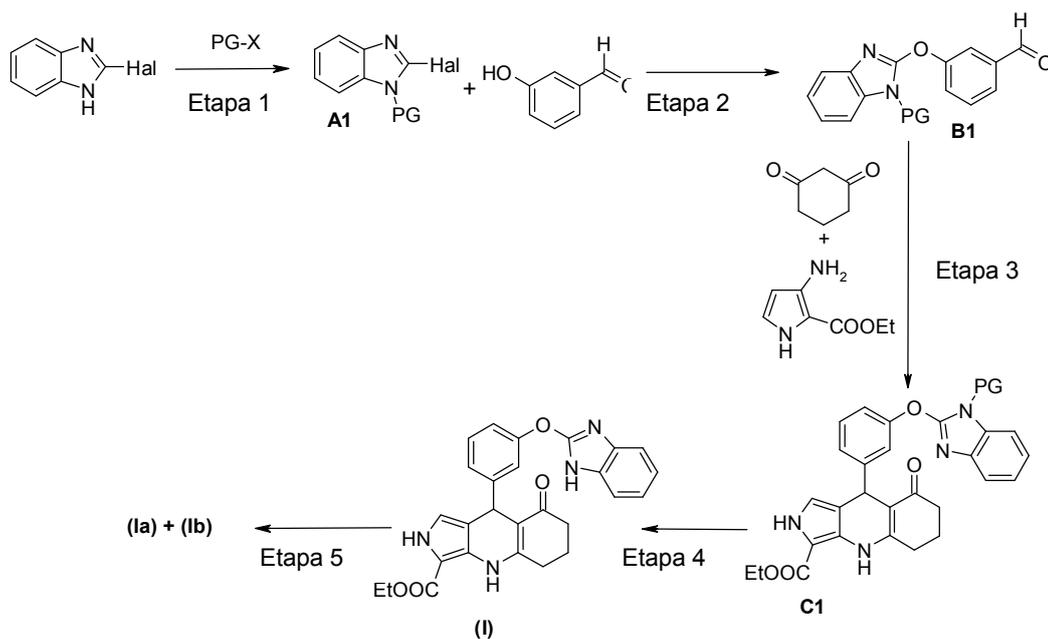


- 10 Este compuesto puede existir en forma racémica o en forma de dos enantiómeros levógiro (Ia) y dextrógiro (Ib). El compuesto levógiro (Ia) presenta una actividad inhibitora selectiva sobre las quinasas Aurora A y B muy superior a la del enantiómero dextrógiro (Ib). El compuesto levógiro (Ia) presenta igualmente una actividad antiproliferativa superior a la del enantiómero dextrógiro (Ib) (véase la Tabla I).

Los tres compuestos (I), (Ia) y (Ib) pueden existir en forma de base o de una sal de adición a un ácido. La sal se prepara ventajosamente con un ácido farmacéuticamente aceptable (véase P.Stahl, C.Wermuth; Handbook of Pharmaceutical Salts; Wiley Ed. ISBN-13: 978-3906390260, ISBN-10: 3906390268), pero la sal de otro tipo de ácido, útil por ejemplo para una etapa de purificación o de aislamiento forma parte igualmente de la invención.

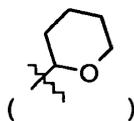
- 15 Los compuestos (I) y (Ia) pueden utilizarse como agentes anticancerígenos o para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un cáncer. El cáncer es más particularmente un cáncer en el que la/las quinasa(s) Aurora A y/o B es/están implicada(s).

Se obtienen los compuestos (I), (Ia) y (Ib) según el esquema I más abajo :1

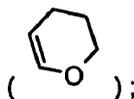


Esquema I

- 5 etapa 1 : se protege la función NH de un 2-halógeno-bencimidazol (Hal= Br o Cl) con ayuda de un grupo protector PG para obtener A1. PG-X representa un reactivo que permite la introducción del grupo protector PG. PG puede ser más particularmente dihidropirano



y en este caso, PG-X representa 3,4-dihidro-2H-pirano



- 10 etapa 2 : se hace reaccionar A1 con 3-formil-fenol en presencia de una base que permita obtener el ión fenolato correspondiente para obtener B1. La base puede ser un hidruro alcalino, como por ejemplo NaH. La reacción se realiza en un disolvente polar aprótico tal como DMF;

- 15 etapa 3 : se hacen reaccionar juntos B1, 3-amino-2-etoxicarbonilpirrol y 1,3-ciclohexanodiona, por ej. en un alcohol (por ej. 1-butanol) a reflujo, para obtener C1; etapa 4 : se desprotege la función NH de C1 para conducir al compuesto (I). Las condiciones de desprotección dependen de la naturaleza de PG. Por ejemplo, en el caso en que PG represente dihidropirano, se utiliza un ácido fuerte;

etapa 5: se separan, por ejemplo, con ayuda de una cromatografía quiral, los dos enantiómeros (Ia) y (Ib).

Para cada una de las etapas 1-5, se podrán imponer las condiciones específicas descritas en el ejemplo 1.

[Ejemplos]

- 20 Métodos analíticos

Método LC/MS-A

- 25 Los productos que se van a analizar se separan sobre una columna UPLC modelo Acquity Beh C18 1,7 μm 2,1x50 mm (Waters) termostatazada a 70°C y que se eluye con un caudal de 1 ml/min con un gradiente de acetonitrilo que contiene 0,1% de ácido fórmico (disolvente B) en agua que contiene 0,1% de ácido fórmico (disolvente A) programa de elución: intervalo isocrático a 5% de disolvente B durante 0,15 min, gradiente de 5 a 100% de disolvente B en 3,15 min, después vuelta a las condiciones iniciales en 0,1 min. Los productos se detectan mediante un detector UV/vis de barra de diodo modelo PDA Acquity (Waters, gama de longitudes de onda considerada 192-400 nm), un

detector de difusión de luz modelo Sedex 85 (Sedere, gas de nebulización : nitrógeno, temperatura de nebulización : 32°C, presión de nebulización 3,8 bar) y un espectrómetro de masas Acquity SQD (Waters, funcionando en modo positivo y negativo, gama de masas considerada 80 a 800 uma).

Método LC/MS-B

- 5 Los espectros se han obtenido en un aparato Waters UPLC-SQD en modo de ionización electropositiva y/o negativa (ES+/-), en las condiciones de cromatografía líquida siguientes: columna : ACQUITY BEH C18 1,7 μm , 2,1x50 mm; T_{columna} : 50°C; caudal: 1 ml/min; disolventes: A: H₂O (ácido fórmico al 0,1%) B: CH₃CN (0,1% ácido fórmico); gradiente (2 min) : 5 a 50% B en 0,8 min; 1,2 min: 100% de B; 1,85 min 100% de B; 1,95 min 5% de B.

¹H RMN

- 10 Los espectros se han registrado en un espectrómetro de marca Brüker, estando disuelto el producto en DMSO-d₆. Los desplazamientos químicos δ se expresan en ppm.

IR

El espectro infrarrojo se registra sobre un espectrómetro Nicolet Nexus en pastilla de KBr con una resolución de 2 cm^{-1} .

- 15 Medida del poder rotatorio

Los poderes rotatorios se han registrado con un polarímetro 341 Perkin-Elmer.

Análisis elemental

Los análisis elementales se han realizado con un analizador EA1108 Thermo.

Medida de la actividad sobre Aurora A y B

- 20 Se ha estimado la capacidad para inhibir la actividad quinasa de la enzima midiendo la actividad quinasa residual de la enzima en presencia de diferentes concentraciones del compuesto que se va a ensayar (generalmente de 0,17 a 10.000 nM). Se ha establecido una curva dosis-respuesta que permite determinar una CI_{50} (concentración inhibitoria al 50%). La medida de la actividad quinasa realizada por una dosificación radiactiva de la cantidad de fosfato radiactivo (33P) incorporada en un fragmento de la proteína NuMA (proteína del Aparato Mitótico Nuclear) después de 30 min
- 25 de incubación a 37°C. El compuesto que se ha de ensayar se disuelve primero a diferentes concentraciones en sulfóxido de dimetilo (DMSO). La reacción se efectúa en los pocillos de una placa de microtitulación de tipo FlashPlate (Nickel Chelate FlashPlate-96, PerkinElmer). Cada pocillo (100 μl) contiene 10 nM de Aurora A, 500 nM de NuMA, 1 μM ATP y 0,2 μCi de ATP- γ -33P en un tampón 50 mM Tris-HCl pH=7,5; 10 mM MgCl₂; 50 mM NaCl, 1 mM de ditiotreitól. El porcentaje de DMSO final es de 3%. Después de la homogeneización por agitación, la placa se
- 30 incuba durante 30 min a 37°C. Se elimina el contenido de los pocillos y los pocillos se lavan con tampón PBS. Se mide la radiactividad con ayuda de un contador de tipo TRILUX I450 Microbeta (WALLAC). En cada placa se realizan 8 pocillos testigos : 4 testigos positivos (actividad quinasa máxima) para los que la medida se hace en presencia de enzima y de sustrato y en ausencia del compuesto de la invención y 4 testigos negativos (ruido de fondo) para los que la medida se hace en ausencia de enzima, de sustrato y de compuesto que se va a ensayar. Las
- 35 medidas se proporcionan en la Tabla I.

Aurora A

La enzima recombinante humana Aurora A utilizada se expresa en forma entera con una etiqueta poli-Histidina en posición N-terminal y producida en E.Coli. Un fragmento (aminoácidos 1701-2115) de la proteína humana NuMA con una etiqueta poli-Histidina en posición C-terminal se expresa en forma recombinante en E.coli.

- 40 Aurora B/Incenp

La enzima humana Aurora B entera se coexpresa con un fragmento de la proteína humana Incenp (aa 821-918) en un sistema baculovirus y se expresa en células de insecto. Aurora B presenta una cola poli-Histidina en posición N-terminal mientras que el fragmento Incenp posee una cola Glutión-S-Transferasa (GST) en posición N-terminal. Las 2 proteínas forman un complejo llamado Aurora B/Incenp. Un fragmento (aa1701-2115) de la proteína humana

45 NuMA con una cola poli-Histidina en posición C-terminal se expresa en forma recombinante en E.coli. Este fragmento se utiliza como sustrato.

Medida de la proliferación celular

- Las células (línea celular tumoral HeLa ref.: ATCC CCL-2 y HCT116 ref: ATCC CCL-247) se ponen en presencia del compuesto que se va a ensayar durante 96 h y se añade ¹⁴C-timidina durante las últimas 24 h. La proliferación
- 50 celular se estima por la cantidad de ¹⁴C-timidina incorporada en las células.

El compuesto que se va a ensayar se pone en disolución madre a 10 mM en DMSO, esta disolución madre se utiliza para realizar una gama de diluciones en serie generalmente de 10000 μM a 0,3 μM , estas diluciones en serie se diluyen ellas mismas a 1/50 en el medio celular (disolución 20x) que se utilizarán para una dilución a 1/20 en las placas de cultivo celular. Las concentraciones finales del compuesto que se va a ensayar estarán comprendidas igualmente entre 10000 y 0,3 nM.

J0 : las células se siembran en placas Cytostar de 96 pocillos en 180 μL de medio de cultivo. A continuación las placas se colocan durante 4 h en un incubador a 37°C y 5% CO_2 . Los productos que se van a ensayar se añaden a continuación en un volumen de 10 μL por pocillo partiendo de una disolución 20x. Esta disolución contiene 2% de DMSO en un medio de cultivo. La concentración final de DMSO es por tanto de 0,1%. A continuación las placas se colocan durante 72 h en un incubador a 37°C / 5% CO_2 .

J3 : después de 72 h, se añaden 10 μL por pocillo de ^{14}C -timidina a 10 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$ en el medio de cultivo. A continuación las placas se colocan durante 24 h en un incubador a 37°C y 5% CO_2 .

J4 : la incorporación de ^{14}C timidina se mide con un contador de radioactividad Micro-Beta (Perkin-Elmer) después de estas 24 h de « pulso ». La duración total del tratamiento de las células con el producto a ensayar es de 96 h.

El cálculo de los porcentajes de inhibición IC_{50} se hace en Excel gracias a la fórmula :

$$I\% \text{ Inhibición} = 100 * \left(1 - \left(\frac{X - \text{Blanco}}{TC - \text{Blanco}} \right) \right)$$

X = Medida para la muestra

TC = Testigo células

Blanco = Medida en los pocillos sin células

El cálculo de IC_{50} se hace con el programa informático XLfit (IDBS, UK) con ayuda de la fórmula 205, con el parámetro D (número de Hill) fijado en el valor 1. Los resultados se muestran en la Tabla I.

Evaluación del efecto de los compuestos de la invención sobre la actividad de la enzima PDE3

El efecto de los compuestos de la invención sobre la actividad de la enzima PDE3 ha sido evaluado por la compañía CEREP (Le bois l'Evêque, 86600 Celle l'Evescault, Francia; <http://www.cerep.fr>) según su protocolo estándar (véase Bender, A.T., Beavo, J.A. Pharmacol Rev. 2006, 58, 488-520 : la enzima PDE3A es recombinante expresada en células Sf9, el sustrato es cAMP y el AMPc residual se mide con HTRF. El inhibidor de referencia del ensayo es la milrinona, cuyo IC_{50} es de 270 nM. Los % de actividad residuales se refieren al control sin inhibidor). Los resultados se expresan bien en concentración que induce una inhibición de 50% (IC_{50}) bien en porcentaje de inhibición medido a una concentración fija del compuesto. Los resultados se muestran en la Tabla I.

Medida de la estabilidad química de los compuestos

La estabilidad química de los compuestos se ha medido en diferentes medios : ácido clorhídrico 0,05 N en una mezcla agua/acetonitrilo 50/50 (v/v); sosa 0,05 N en una mezcla agua/acetonitrilo 50/50 (v/v); tampón fosfato de sodio 25 mM pH=7,4 en una mezcla agua/acetonitrilo 50/50 (v/v); tampón fosfato de sodio 25 mM pH=7,4 en una mezcla agua/acetonitrilo 50/50 (v/v) que contiene 1% (p/v) de hidrocloreuro de bencilamina; tampón fosfato de sodio 25 mM pH=7,4 en una mezcla agua/acetonitrilo 50/50 (v/v) que contiene 1% (v/v) de 2-mercaptoetanol. Los compuestos se diluyen en los medios de estudio a una concentración final de 100 μM por dilución de una disolución madre a 10 mM en DMSO. Las disoluciones se guardan a 20°C durante un tiempo total de 48 h, y se mide la concentración de los compuestos estudiados durante el tiempo (t=0, 1, 6, 12, 24 y 48 h) mediante HPLC. El análisis HPLC se realiza con un aparato Agilent system 1100 equipado con un detector de barras de diodos sobre una columna Luna C18, 30x4,6 mm, 3 μm (Phenomenex) eluida con un gradiente de acetonitrilo (disolvente B) en agua que contiene 0,5% (v/v) de ácido fórmico (disolvente A) a un caudal de 1,5 ml/min y una temperatura de 25°C. El programa de elución está constituido por un gradiente de 10 a 90% de disolvente B en 5 min seguido de un escalón isocrático de un minuto a 90% de disolvente B y vuelta a las condiciones iniciales en 1 min). Se estima la concentración de los productos estudiados según la altura y el área del pico característico del producto estudiado sobre un cromatógrafo a la longitud de onda máxima para cada producto. El área y la altura medidas a cada tiempo de muestreo se llevan al área y la altura obtenidas para la muestra a tiempo 0. Cuando se observa una degradación, se mide un tiempo de semi-vida a partir de la curva tiempo-concentración obtenida. Los resultados se muestran en la Tabla II.

Evaluación del metabolismo en presencia de preparaciones microsomales de hígados humanos y murinos.

Si bien las preparaciones de microsomas siguen siendo importantes para la determinación de la estabilidad metabólica de un compuesto farmacéutico, el cultivo primario de hepatocitos permite una evaluación más fina de su aclaramiento intrínseco y mejores correlaciones vitro-vivo que permiten anticipar el aclaramiento hepático en el ser humano.

Los compuestos de la invención (5 µM) se incuban a temperatura fisiológica sobre fracciones microsomales de hígados humanos y murinos (1 mg/ml de proteínas), diluidas en un tampón fosfato, en presencia de albúmina de suero bovino (1 mg/ml BSA), y de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, forma reducida (1 mM NADPH). Para terminar la incubación, se añaden 4 volúmenes de acetonitrilo que contiene la corticosterona como estándar interno (IS). Las muestras se centrifugan y se analizan los sobrenadantes por acoplamiento cromatografía líquida/espectrometría de masas en tándem (LC/MS-MS). El análisis LC/MS-MS se realiza sobre un espectrómetro de masas API4000-QTRAP (Sciex) equipado con un sistema cromatográfico serie 1100 (Agilent) y con un inyector automático Pal CTC. Se recogen y se analizan los datos con ayuda de un programa informático Analyst 1.4.1. Las muestras se separan sobre una columna Polaris C18, 3 µm eluida a un caudal de 0,7 ml/min con un gradiente de acetonitrilo (disolvente B) en agua que contiene 0,1% de ácido fórmico (disolvente A). El programa de elución está constituido por un gradiente de 20 a 90% de disolvente B en 2 min, un escalón isocrático al 90 % de disolvente B de 0,9 min y vuelta a las condiciones iniciales en 0,1 min. El área de los picos cromatográficos del compuesto y del patrón interno se integran con ayuda del algoritmo Analyst-Classic. Se estima la estabilidad metabólica de los productos de la invención por comparación de las relaciones de integraciones (corrientes iónicas de los compuestos/corriente iónica IS) medidas después de 0 min (t₀) y 20 min (t₂₀) de incubación. La estabilidad metabólica se expresa entonces en porcentaje de desaparición según la siguiente fórmula :

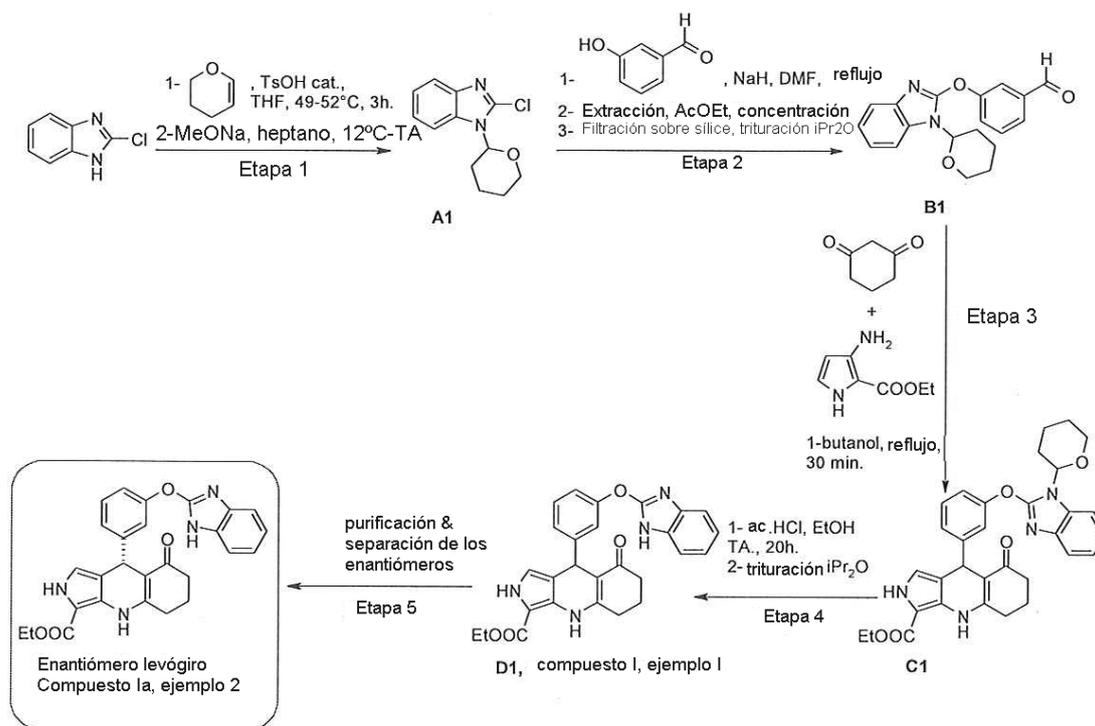
$$\% \text{ Metabolismo} = (\text{relación de los picos a } t_0 - \text{relación de los picos a } t_{20}) / \text{relación de los picos a } t_0$$

Los resultados se muestran en la Tabla III.

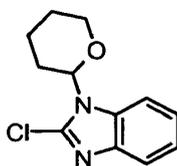
Evaluación del aclaramiento en presencia de hepatocitos humanos.

Los compuestos de la invención (0,5 o 5 µM) se incuban durante 24 h en placas de 48 pocillos recubiertas de colágeno en presencia de hepatocitos humanos frescos o crioconservados (~200000 células/pocillo) procedentes de donantes específicos en una incubadora a una temperatura fisiológica. Las incubaciones se realizan con un medio de cultivo (HAM F12 – William E). A diferentes tiempos (0, 0,5; 1; 2; 4 6: 8 y 24 h), se extraen 100 µl de cada pocillo y se detiene la cinética por adición de 700 µl de una mezcla de acetonitrilo/agua 70/30 (v/v) que contiene corticosterona como patrón interno (IS). A continuación las células se disocian y los medios intra- y extracelular se mezclan y se almacenan congelados a -20°C hasta su análisis. Después de descongelar las muestras éstas se centrifugan a 300 g durante 20 min y los sobrenadantes se analizan por acoplamiento cromatografía líquida/espectrometría de masas en tándem (LC/MS-MS). El análisis LC/MS-MS se realiza sobre un espectrómetro de masas API4000-QTRAP (Sciex) equipado con un sistema cromatográfico serie 1100 (Agilent) y con un inyector automático Pal CTC. Se recogen y se analizan los datos con ayuda de un programa informático Analyst 1.4.1. Las muestras se separan sobre una columna Polaris C18, 3 µm eluida a un caudal de 0,7 ml/min con un gradiente de acetonitrilo (disolvente B) en agua que contiene 0,1% de ácido fórmico (disolvente A). El programa de elución está constituido por un gradiente de 20 a 90% de disolvente B en 2 min, un escalón isocrático al 90 % de disolvente B de 0,9 min y vuelta a las condiciones iniciales en 0,1 min. La concentración de los productos de la invención se mide por integración de la corriente iónica de los iones característicos de los productos con relación al patrón interno (IS). Las relaciones compuesto/IS obtenidas se relacionan con los patrones de calibraciones de concentraciones conocidas, permitiendo así la determinación de la concentración de los productos de la invención. El aclaramiento intrínseco (expresado en ml.h⁻¹.10⁶ células) se determina entonces a partir de los perfiles cinéticos (concentraciones/tiempo) utilizando el programa informático WinNonLin (5.0). Los resultados se muestran en la Tabla IV.

Ejemplo 1: preparación de 8-oxo-9-[3-(1H-bencimidazol-2-iloxi)-fenil]-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrol[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo(l)



A1. 2-Cloro-1-(tetrahidro-pirano-2-il)-1H-bencimidazol (CAS N° 208398-29-2)

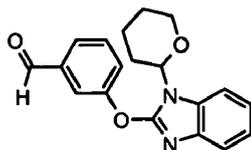


5

En un reactor de 10 l, bajo argón y con agitación, se cargan 2,5 l de THF, 180 g de 2-clorobencimidazol (1,18 moles) y 325 ml de 3,4-dihidro-2H-pirano (6,56 moles, 3 eq.). El reactor se calienta hasta la solubilización (temperatura del medio : 40°C). Se introducen 6,3 g de ácido para-toluenosulfónico (0,033 mol, 0,028 eq.). La temperatura se mantiene entre 49 y 52 °C durante 2,5 h. Se enfría a 12°C y se añaden 7,65 g de metilato de sodio (0,142 moles, 0,12 eq.), manteniendo la agitación una duración total de 15 min. La temperatura se lleva a 18°C, se añaden 5 l de n-heptano y el conjunto se filtra sobre 300 g de Clarcel FLO-M, se lava el retenido con 5 l de n-heptano. El filtrado se concentra a sequedad bajo presión reducida y se obtienen 292,6 g de 2-cloro-1-(tetrahidro-pirano-2-il)-1H-bencimidazol en forma de un aceite ligeramente amarillo (rendimiento cuantitativo). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 1,42 a 2,01 (m, 5H); 2,21 a 2,34 (m, 1 H); 3,69 a 3,78 (m, 1 H); 4,12 (d, J = 11,4 Hz, 1 H); 5,72 (dd, J = 2,4 y 11,2 Hz, 1 H); 7,22 a 7,34 (m, 2H); 7,62 (d, J = 7,2 Hz, 1 H); 7,78 (d, J = 7,2 Hz, 1 H).

15

B1 : 3-[1-(tetrahidro-pirano-2-il)-1H-bencimidazol-2-iloxi]-benzaldehído



20

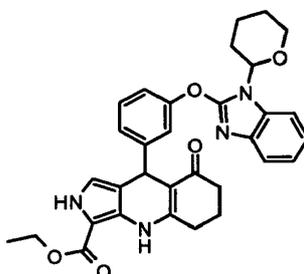
En 2 matraces de tres bocas de 2 l, equipados cada uno con un refrigerante, un termómetro y un brazo de agitación, bajo argón, se carga N,N-dimetilformamida (0,4 l por matraz), y 3-hidroxibenzaldehído (68,5 g, matraz 1; 64,2 g, matraz 2; 1,08 moles). Se añade hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite mineral) en porciones (matraz 1: 26 g; matraz 2: 24 g; 1,25 moles, 1,2 eq.), la temperatura máxima durante la adición es de 32°C. Se introduce 2-cloro-1-(tetrahidro-pirano-2-il)-1H-bencimidazol (A1), título estimado al 85%) (matraz 1: 151 g en 0,5 l de N,N-dimetilformamida; matraz 2: 142 g en 0,5 l de N,N-dimetilformamida; 1,05 moles, 0,97 eq.). El medio se lleva a reflujo (temperatura 140°C, tiempo de aumento de la temperatura 40 min) y se mantiene el reflujo durante 1 h. El

calentamiento se para y se deja que el medio se enfríe durante 1,5 h. El contenido de los 2 matraces se reúne. El conjunto se mezcla lentamente con 5 l de agua helada. La fase acuosa obtenida se extrae con 4x2,5 l de acetato de etilo (AcOEt). Las fases orgánicas se reúnen, se lavan con 3 l de agua, con 2 l de una disolución saturada de NaCl y por último se secan por adición de MgSO₄ durante una noche. La fase orgánica obtenida se filtra sobre un vidrio fritado (porosidad 4) y se concentra a sequedad bajo presión reducida para obtener 385 g de un aceite marrón (LC/MS-A, tr (tiempo de retención)=1,86 min, MS modo positivo : m/z = 323,16).

Una fracción de 158 g del material bruto obtenido anteriormente se solubiliza en caliente en 1,5 l de una mezcla n-heptano/AcOEt (8/2 en volúmenes), combinado con 500 g de sílice (malla 70-30) y el conjunto se agita durante 45 min. La suspensión obtenida se filtra sobre Celite, se lava con 3 l de una mezcla n-heptano/AcOEt (8/2 en volúmenes). La fase orgánica obtenida se seca y se concentra a sequedad bajo presión reducida. El residuo se pone en suspensión en 200 ml de éter isopropílico por agitación mecánica y tratamiento con ultrasonidos, después se filtra sobre vidrio fritado (porosidad 3). El sólido obtenido se lava con 2x40 ml de éter isopropílico y se seca bajo presión reducida a 40°C durante 16 h para proporcionar 68 g de sólido. Un tratamiento similar aplicado al resto del bruto permite obtener 87,8 g de sólido. Los sólidos obtenidos se reúnen y se homogenizan para obtener 155,8 g de 3-[1-(tetrahidro-piran-2-il)-1H-bencimidazol-2-iloxi]-benzaldehído en forma de cristales beis claro (LC/MS-A, tr=1,87 min, MS modo positivo m/z=323,13). MS(LC/MS-B): tr = 1,00 min; [M+H]⁺: m/z 323; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 1,54 a 1,62 (m, 1H); 1,63 a 1,84 (m, 2H); 1,92 a 2,03 (m, 2H); 2,30 a 2,42 (m, 1 H); 3,70 a 3,79 (m, 1 H); 4,10 (d, J = 11,5 Hz, 1 H); 5,74 (dd, J = 2,1 y 11,1 Hz, 1H); 7,13 a 7,22 (m, 2H); 7,43 (d, J = 7,3 Hz, 1H); 7,65 (d, J = 7,3 Hz, 1H); 7,73 (t, J = 7,8 Hz, 1 H); 7,78 a 7,83 (m, 1 H); 7,87 (d, J = 7,8 Hz, 1 H); 7,96 (s, 1 H); 10,05 (s, 1 H).

El lavado de las fases de sílice utilizadas anteriormente con 2 l de una mezcla de n-heptano/AcOEt (1/1 en volúmenes) permite obtener 67 g de material después de concentración a sequedad bajo presión reducida. Este material se recoge con 2 l de una mezcla de n-heptano/AcOEt (9/1 en volúmenes), se combina con 285 g de sílice (malla 70-30), se agita y se trata con ultrasonidos durante 1 h. La suspensión se filtra sobre Celite, se lava la fase sólida con 2 l de una mezcla de n-heptano/AcOEt (9/1 en volúmenes). El filtrado se concentra a sequedad bajo presión reducida y el residuo se tritura en 400 ml de una mezcla de n-heptano/etanol (95/5 en volúmenes), se filtra sobre vidrio fritado (porosidad 3) y se seca bajo presión reducida para proporcionar 35 g de 3-[1-(tetrahidro-piran-2-il)-1H-bencimidazol-2-iloxi]-benzaldehído en forma de cristales beis claro. (LC/MS-A, tr=1,93 min, MS modo positivo m/z=323,16).

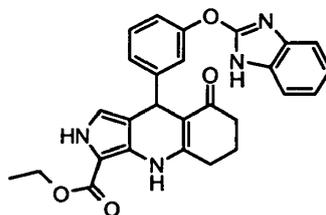
C1: 8-Oxo-9-{3-[1-(tetrahidro-piran-2-il)-1H-bencimidazol-2-iloxi]-fenil}-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrol[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo



En un Erlenmeyer de 2 l con agitación magnética, se añaden 50 g de hidrocloreuro de 3-amino-2-etoxicarbonilpirrol y 0,204 l de sosa 2N. El conjunto se agita durante 15 min a temperatura ambiente (TA), después se extrae con 3x0,3 l de diclorometano. Las fases orgánicas se reúnen, se secan sobre MgSO₄ y se concentran a sequedad bajo presión reducida. El residuo se tritura con n-pentano, se filtra y se seca bajo presión reducida hasta un peso constante para proporcionar 36,4 g de 3-amino-2-etoxicarbonilpirrol en forma de un sólido marrón.

En un matraz de tres bocas de 2 l provisto de un brazo de agitación, de un termómetro y de un refrigerante, se cargan 1,2 l de 1-butanol, 145 g de 3-[1-(tetrahidro-piran-2-il)-1H-bencimidazol-2-iloxi]-benzaldehído (0,405 mol, B1), 62,4 g de 3-amino-2-etoxicarbonilpirrol (1 eq., 0,405 mole), 46,8 g de 1,3-ciclohexanodiona al 97% (1 eq., 0,405 mol) y 70,5 ml de N,N-diisopropiletilamina (1 eq.) y se lleva a reflujo (tiempo de subida de temperatura 55 min, reflujo mantenido 30 min, temperatura 114°C). El medio se enfría a TA y se concentra a sequedad bajo presión reducida para proporcionar 290 g de un aceite marrón que contiene 8-oxo-9-{3-[1-(tetrahidro-piran-2-il)-1H-bencimidazol-2-iloxi]-fenil}-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrol[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo. (LC/MS-A, tr=1,96 min, MS modo positivo m/z=553,33). Una operación similar conducida con 35 g de 3-[1-(tetrahidro-piran-2-il)-1H-bencimidazol-2-iloxi]-benzaldehído (0,098 mol, ejemplo B1) permite obtener 72 g de un aceite marrón que contiene 8-oxo-9-{3-[1-(tetrahidro-piran-2-il)-1H-bencimidazol-2-iloxi]-fenil}-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrol[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo. (LC/MS-A, tr=1,96 min, MS modo positivo m/z=553,35).

D1 : 8-Oxo-9-[3-(1H-benzimidazol-2-iloxi)-fenil]-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrolo[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo (compuesto I)



5 En un matraz de 2 l se cargan 224 g del aceite marrón que contiene 8-oxo-9-[3-[1-(tetrahidro-piran-2-il)-1H-benzimidazol-2-iloxi]-fenil]-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrolo[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo (ej.1.3), 0,7 l de etanol y 0,243 l de ácido clorhídrico 2N. La mezcla se agita 16 h a TA, se filtra sobre vidrio fritado (porosidad 4). El filtrado se concentra a sequedad bajo presión reducida y el residuo se tritura con 0,5 l de éter isopropílico. El sólido obtenido se seca bajo presión reducida hasta un peso constante para proporcionar 253 g de un sólido marrón que contiene 8-oxo-9-[3-(1H-benzimidazol-2-iloxi)-fenil]-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrolo[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo. (LC/MS-A, tr=1,46 min, MS modo positivo m/z=469,29). Una operación similar conducida con 54 g del aceite marrón que contiene 8-oxo-9-[3-[1-(tetrahidro-piran-2-il)-1H-benzimidazol-2-iloxi]-fenil]-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrolo[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo (C1) permite obtener 60 g de un sólido marrón que contiene 8-oxo-9-[3-(1H-benzimidazol-2-iloxi)-fenil]-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrolo[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo. (LC/MS-A, tr=1,48 min, MS modo positivo m/z=469,29).

15 Una fracción alícuota de 0,8 g del material obtenido puede purificarse por cromatografía sobre un cartucho de 50 g de sílice (10-90 μ m) (Biotage SNAP, KP-Sil) eluido mediante un intervalo isocrático de diclorometano de 20 min, después un gradiente de 0 a 1% en volúmenes de isopropanol en diclorometano en 1 h y por último un intervalo isocrático de diclorometano/isopropanol (99/1 en volúmenes de 20 min. Las fracciones que contienen el producto esperado se reúnen para proporcionar 0,21 g de un sólido amarillo. Los productos de 2 separaciones cromatográficas similares conducidas a la misma escala se cristalizan en acetonitrilo para proporcionar en total 0,16 g de 8-oxo-9-[3-(1H-benzimidazol-2-iloxi)-fenil]-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrolo[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo en forma de cristales beis. (LC/MS-A, tr=1,61 min, MS modo positivo m/z=469,28). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 1,29 (t, J = 7,0 Hz, 3H); 1,80 a 1,97 (m, 2H); 2,19 a 2,27 (m, 2H); 2,55 a 2,69 (m, 1 H); 2,81 (dt, J=4,8 y 17,2 Hz, 1 H); 4,26 (q, J = 7,0 Hz, 2H); 5,11 (s, 1 H); 6,73 (d, J = 3,3 Hz, 1 H); 7,02 a 7,16 (m, 5H); 7,25 (t, J = 7,9 Hz, 1 H); 7,31 a 7,38 (m, 2H); 8,34 (s, 1 H); 11,33 (s ancho, 1 H); 12,26 (s ancho, 1 H). Análisis elemental: C= 68,72%; H= 5,10%; N= 11,82%; H₂O= 0,38%.

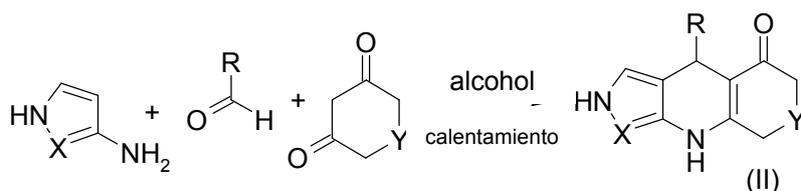
Ejemplo 2: Enantiómero levógiro (Ia) de 8-oxo-9-[3-(1H-benzimidazol-2-iloxi)-fenil]-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrolo[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo

30 El enantiómero levógiro se purifica a partir del producto bruto del ejemplo D1 sobre una columna quiral Welk-01RR, 10 μ M, 80x350 mm (Regis, USA) eluida con una mezcla de n-heptano/diclorometano/etanol/trietilamina (50/47,5/2,5/0,1 en volumen). La elución de los productos se detecta por espectroscopía UV a 265 nm. Se inyectan cantidades de 10 g del producto bruto descrito en el ejemplo D1 durante cada operación. En estas condiciones, el pico correspondiente al enantiómero levógiro se eluye con un tr entre 50 y 80 min. Las fracciones de enantiómero levógiro purificado correspondiente a las operaciones necesarias para purificar 310 g del producto bruto descrito en el ejemplo D1 se reúnen, se homogenizan y se concentran a sequedad bajo presión reducida para proporcionar 50 g de un sólido beis. Espectro de masas (LC/MS-B): tr = 0,77 min; [M+H]⁺: m/z 469; [M-H]⁻: m/z 467. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 1,29 (t, J = 7,1 Hz, 3H); 1,79 a 1,97 (m, 2H); 2,19 a 2,27 (m, 2H); 2,55 a 2,66 (m, 1 H); 2,81 (dt, J=4,9 y 17,1 Hz, 1 H); 4,26 (q, J=7,1 Hz, 2H); 5,12 (s, 1 H); 6,73 (d, J = 3,4 Hz, 1H); 7,02 a 7,16 (m, 5H); 7,25 (t, J = 8,3 Hz, 1H); 7,29 a 7,41 (m, 2H); 8,32 (s, 1H); 11,31 (s ancho, 1 H); 12,26 (s ancho, 1H). IR: principales bandas : 1678; 1.578; 1.525; 1.442; 1.188; 1043 y 743 cm⁻¹. Poder rotatorio : $[\alpha]_D = -38,6 \pm 0,7$ a C=0,698 mg/ml en metanol. Análisis elemental: C= 68,18%; H= 5,92%; N= 11,22%; H₂O= 1,25%.

Ejemplo 3: Enantiómero dextrógiro (Ib) de 8-oxo-9-[3-(1H-benzimidazol-2-iloxi)-fenil]-4,5,6,7,8,9-hexahidro-2H-pirrolo[3,4-b]quinolina-3-carboxilato de etilo

45 El enantiómero dextrógiro se obtiene por purificación del producto purificado del ejemplo D1 por cromatografía sobre una columna quiral Welk-01SS, 10 μ M, 60x350 mm (Regis, USA) eluida con una mezcla de n-heptano/etanol (7/3 después 6/4 en volumen). La elución de los productos se detecta por espectroscopía UV. Las fracciones del enantiómero dextrógiro se reúnen, se homogenizan y se concentran a sequedad a presión reducida para proporcionar 1,9 g de un polvo amarillo. MS(LC/MS-B): tr = 0,77 min; [M+H]⁺: m/z= 469,2; [M-H]⁻: m/z=467,2. Poder rotatorio : $[\alpha]_D = +53,1 \pm 1,1$ a C=3,6 mg/ml en metanol.

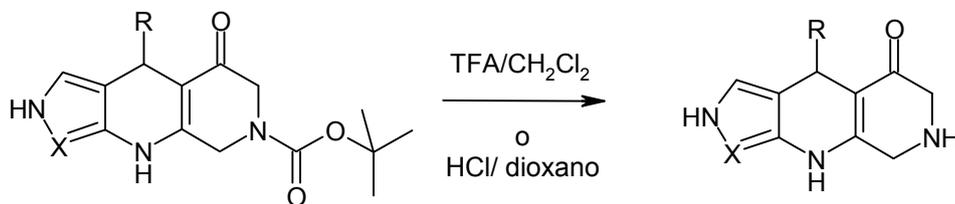
50 Ejemplos 4-13 : los compuestos de los ejemplos 4-11 se han preparado según la enseñanza de WO 2007/012972 (véase el procedimiento de la rev. 26). Los productos dihidropiridinas tricíclicas de fórmula (II) pueden prepararse según el esquema II :



Esquema II

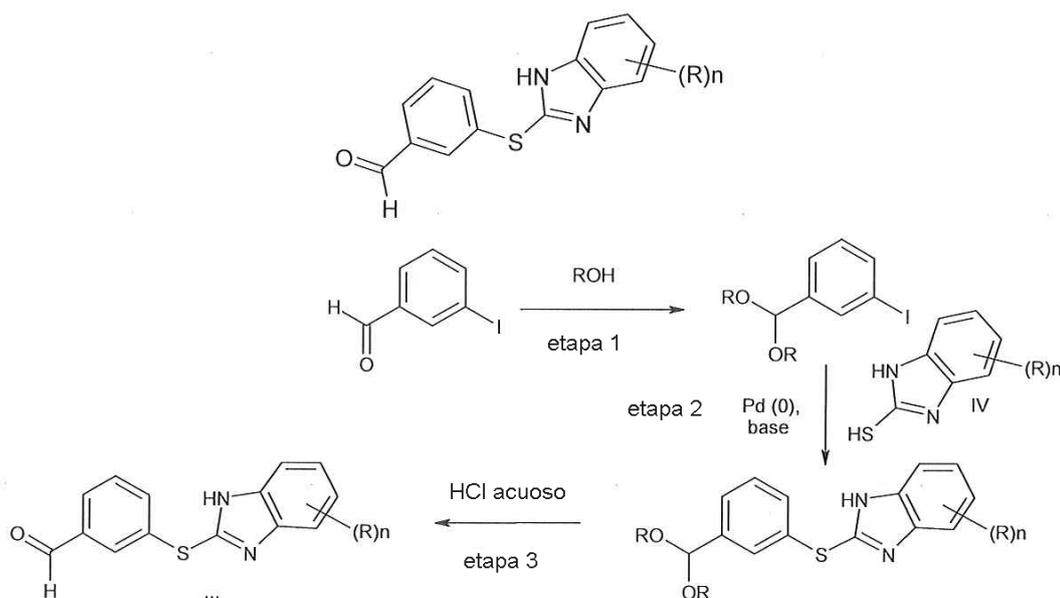
Una mezcla de 1 equivalente de pirazol (X=N) o de pirrol-2-carboxilato (X=COOEt), 1 equivalente de aldehído R-CHO y 1 equivalente de derivado dicetona (Y=CH₂, CMe₂, N-Boc) se calienta a reflujo en un alcohol tal como etanol o 1-butanol durante un período comprendido entre ½ h y varias h. La mezcla se enfría a continuación a temperatura ambiente. Los productos deseados se aíslan por filtración o bien el disolvente se evapora a sequedad. Si es necesario, el producto bruto se purifica por cromatografía sobre gel de sílice o bien por cromatografía líquida preparativa de alta resolución (HPLC).

Cuando Y representa N-Boc, los productos pueden desprotegerse utilizando una disolución de ácido trifluoroacético en diclorometano (50/50) o bien una disolución de ácido clorhídrico en dioxano (Esquema III) :



Esquema III

Los aldehídos de fórmula general (III), utilizados en la preparación del compuesto 4 (R=H), pueden obtenerse según el esquema IV. R designa un (n=1) o varios sustituyentes (n va de 2 a 4) del núcleo bencimidazol elegidos entre : H, F, Cl, Br, OH, SH, CF₃, OCF₃, OCH₃, SCF₃, SCH₃, OCHF₂, OCH₂F, SCH₂F, alquilo(C₁-C₆), O-alilo, fenilo opcionalmente sustituido con uno o varios átomo(s) de halógeno.



Esquema IV

etapa 1 : se protege la función aldehído del 3-iodo-benzaldehído con ayuda de un grupo protector alcohol y más particularmente diol (etilenglicol por ejemplo) en presencia de un ácido tal como ácido para-toluenosulfónico en un

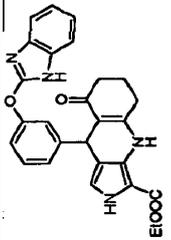
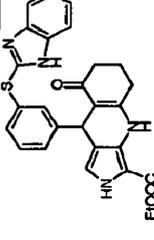
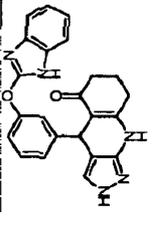
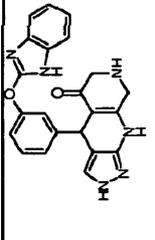
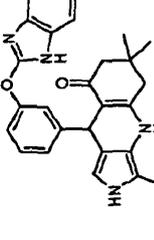
disolvente inerte tal como tolueno y a una temperatura comprendida entre 20°C y la temperatura de ebullición del medio de reacción;

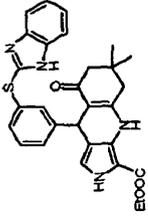
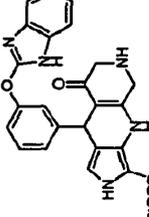
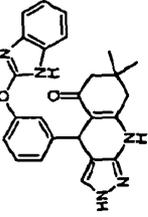
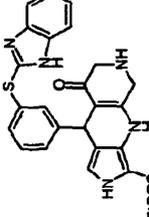
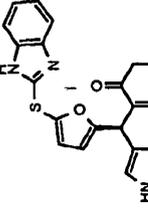
- 5 etapa 2 : se hace reaccionar el intermedio formado con un producto de fórmula (IV) en presencia de un complejo de paladio tal como bis(dibencilidenacetona)paladio, un derivado de fosfina tal como bis[(2-difenilfosfino)fenil] éter y una base tal como terc-butolato de sodio, en un disolvente inerte tal como tolueno y a una temperatura comprendida entre 20°C y la temperatura de ebullición del medio de reacción;

etapa 3 : se desprotege la función aldehído en presencia de una disolución acuosa de ácido tal como ácido clorhídrico, opcionalmente en un disolvente tal como acetona y a una temperatura comprendida entre 20°C y la temperatura de ebullición del medio de reacción.

- 10 En la Tabla I, se comparan las actividades de inhibición sobre Aurora A y B, las actividades antiproliferativas sobre las líneas HeLa y HCT116, la actividad de inhibición de PDE3, así como el metabolismo. Se constata que el compuesto (I) o (Ia) presenta una fuerte inhibición de las quinasas Aurora A y B, así como una muy buena actividad sobre las líneas HeLa y HCT116.

TABLA I

Ejemplo	compuesto	IC50 AuroraB/Incenp [nM]	IC50 Aurora A [nM]	CI50 HeLa [nM]	IC50 HCT116 [nM]	IC50 PDE3 [nM]	microsoma humano [%]	microsoma ratón [%]
1 - según invención	 1a	4	6	205	nd	78% inhibición a 1000 nM	37%	31 %
2 - según	compuesto levógiro (1a)	1	1	67	20	4.000	32%	50%
3 - comparativo	compuesto dextrógiro (1b)	900	3.800	>10.000	nd	nd	nd	nd
4 - comparativo		6	72	9664	nd	nd	77%	67%
5 - comparativo		6	23	9633	nd	nd	nd	nd
6 - comparativo		13	109	>10.000	nd	nd	nd	nd
7 - comparativo	 en forma de trifluoroacetato	4	3	430	nd	nd	65 %	96 %

Ejemplo	compuesto	IC50 AuroraB/Incenp [nM]	IC50 Aurora A [nM]	Ci50 HeLa [nM]	IC50 HCT116 [nM]	IC50 PDE3 [nM]	microsoma humano [%]	microsoma ratón [%]
8 - comparativo		21	102	6863	nd	nd	80%	84%
9 - comparativo		8	15	9 462	nd	nd	nd	nd
10 - comparativo		9	22	6692	nd	nd	nd	nd
11 - comparativo	 en forma de hidrocloreuro	107	1755	>10.000	nd	nd	nd	nd
12 - comparativo								
13 - comparativo		10	11	20	nd	93% inhibición a 1000 nM	53 %	74 %

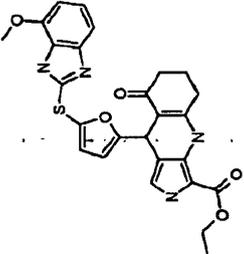
Ejemplo	compuesto	IC50 AuroraB/Incenp [nM]	IC50 Aurora A [nM]	Ci50 HeLa [nM]	IC50 HCT116 [nM]	IC50 PDE3 [nM]	microsoma humano [%]	microsoma ratón [%]
								
nd: no determinado								

Tabla II

Compuesto	HCl agua/acetoneitrilo 50/50	0,05N NaOH agua/acetoneitrilo 50/50	0,05N fosfato 25 mM agua/acetoneitrilo	Tampón pH=7,4 50/50	25 mM agua/acetoneitrilo	1% bencilamina 50/50	Tampón fosfato 25 mM pH=7,4 + 2-mercaptoetanol 50/50	agua/acetoneitrilo	25 mM pH=7,4 + 2-mercaptoetanol 50/50	agua/acetoneitrilo	T1/2=2,06 h	de	semi-vida
compuesto (comparativo)	12 estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable
compuesto (compuesto levógiro (Ia))	2 estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable	estable

Tabla III

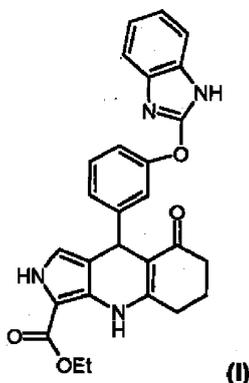
Ejemplo	Metabolismo medido en presencia de fracción microsomal humana	Metabolismo medido en presencia de fracción microsomal murina
compuesto 12 (comparativo)	75 %	81%
compuesto 2 (compuesto levógiro (Ia))	32%	50%

Tabla IV

Ejemplo	Aclareamiento intrínseco medido en presencia de hepatocitos humanos (en $\text{ml}\cdot\text{h}^{-1}\cdot 10^{-6}$ células)
compuesto 12 (comparativo)	0,29 (media de 3 determinaciones obtenidas con 3 preparaciones diferentes de hepatocitos)
compuesto 2 (compuesto levógiro (la))	0,121 (media de 5 determinaciones obtenidas con 5 preparaciones diferentes de hepatocitos)

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I) :



2. Compuesto según la reivindicación 1 en forma levógiro.

5 3. Compuesto según la reivindicación 2 que presenta un poder rotatorio $[\alpha]_D = -38,6 \pm 0,7$ a una concentración de 0,698 mg/ml en metanol.

4. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en forma e base o de sal de adición a un ácido, particularmente a un ácido farmacéuticamente aceptable.

10 5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 como inhibidor selectivo de las quinasas Aurora A y B.

6. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 como anticancerígeno.

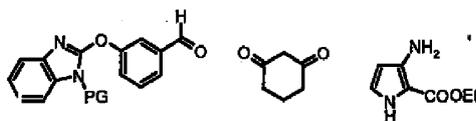
7. La utilización del compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un cáncer.

15 8. Composición farmacéutica que comprende el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 así como al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

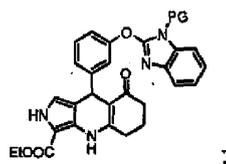
9. Medicamento que comprende el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

10. Procedimiento de obtención de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que consiste en :

20 ■ hacer reaccionar juntos los 3 compuestos siguientes, designando PG un grupo protector de la función NH del benzimidazol



para obtener el compuesto :



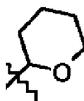
■ desproteger la función NH del benzimidazol para obtener el compuesto de fórmula (I);

25 ■ en caso necesario, separar el compuesto levógiro.

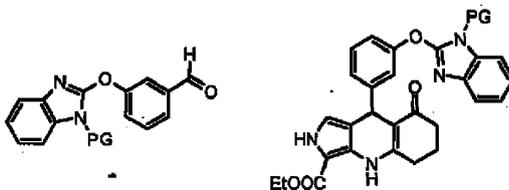
11. Procedimiento según la reivindicación 10 en el que la reacción entre los 3 compuestos se realiza en un alcohol a reflujo, particularmente el 1-butanol.

12. Procedimiento según una de las reivindicaciones 10 a 11 en el que PG representa el

grupo

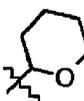


13. Compuesto elegido en la lista siguiente :



5 designando PG un grupo protector de la función NH del bencimidazol.

14. Compuesto según la reivindicación 13 en el que PG representa el grupo .



15. Utilización de un compuesto tal como se define en la reivindicación 13 ó 14 como intermedio en la preparación de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.