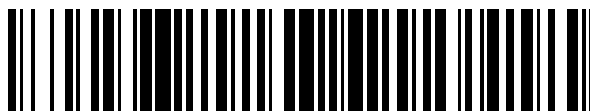


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 449 916**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/4355 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61K 31/5383 (2006.01)

C07D 491/048 (2006.01)

C07D 519/00 (2006.01)

C07D 498/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2010 E 10785377 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2014 EP 2501700**

54 Título: **Derivados de 1,4-dihidropiridina sustituidos con furopiridinilo y procedimientos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

18.11.2009 EP 09176331

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

21.03.2014

73 Titular/es:

**BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH
(100.0%)
Alfred-Nobel-Str. 10
40789 Monheim, DE**

72 Inventor/es:

**MICHELS, MARTIN;
BRIEM, HANS;
VAKALOPOULOS, ALEXANDROS;
ZIMMERMANN, KATJA y
TEUSCH, NICOLE**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 449 916 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

Derivados de 1,4-dihidropiridina sustituidos con fuopiridinilo y procedimientos de uso de los mismos

La presente invención se refiere a derivados de 4-(furo[3,2-c]piridin-2-il)-1,4-dihidropiridina novedosos que tienen actividad inhibitoria de proteínas tirosina-cinasa, a un procedimiento de fabricación de los mismos y al uso de los mismos para el tratamiento de enfermedades mediadas por c-Met o afecciones mediadas por c-Met, en particular, el cáncer y otros trastornos proliferativos.

El cáncer es una de las enfermedades extendidas más comunes. En 2002, a más de 4,4 millones de personas en todo el mundo se les diagnosticó cáncer de mama, colon, ovario, pulmón o próstata y más de 2,5 millones de personas murieron por estas enfermedades devastadoras (Globocan 2002 Report, <http://www-dep.iarc.fr/globocan/download.htm>). Solo en Estados Unidos, en 2005 se pronosticaron más de 1,25 millones de nuevos casos y más de 500.000 muertes por cáncer. Se esperaba que la mayoría de estos nuevos casos fuesen cánceres de colon (~100.000), de pulmón (~170.000), de mama (~210.000) y de próstata (~230.000). Para los próximos 10 años, se ha pronosticado un aumento tanto de la incidencia como de la prevalencia del cáncer de aproximadamente el 15 %, lo que refleja una tasa de crecimiento promedio del 1,4 % (American Cancer Society, Cancer Facts and Figures 2005; http://www.cancer.org/docroot/STT/_content/STT_lx_Cancer_Facts_Figures_2007.asp).

Los cánceres pueden surgir de muchas maneras, lo cual es una de las razones por las que su tratamiento es difícil. Una manera es la transformación de células por oncoproteínas, que surgen de proteínas celulares normales por mutaciones genéticas, lo que da lugar a una activación no fisiológica de estas proteínas. Una familia de proteínas a partir de la que derivan una serie de oncoproteínas son las tirosina-cinasas (por ejemplo, la cinasa src) y, en particular, las tirosina-cinasas receptoras (RTK). En las dos últimas décadas, numerosas líneas de investigación han demostrado la importancia de la señalización mediada por tirosina-cinasas receptoras (RTK) en la regulación de la proliferación celular en mamíferos. Recientemente, se han logrado resultados en clínica con inhibidores de molécula pequeña selectivos de tirosina-cinasas como agentes antitumorígenos.

El receptor c-Met también es una tirosina-cinasa receptora. Su potencial oncogénico se identificó a principios de los años 80, cuando se aisló una Met mutada a partir de una línea celular de osteosarcoma humano inducido químicamente que contenía el dominio cinasa del gen Met fusionado con un dominio de dimerización en su extremo N-terminal [C.S. Cooper *et al.*, Nature 311: 29-33 (1984)].

La proteína Met celular es una proteína transmembranaria heterodimérica que se sintetiza como un precursor monocatenario de 190 kd [G.A. Rodrigues *et al.*, Mol. Cell Biol. 11: 2962-70 (1991)]. El precursor se escinde dentro de la célula después del residuo de aminoácido 307 para formar la cadena α de 50 kd y la cadena β de 145 kd, que están conectadas por puentes disulfuro. La cadena α es totalmente extracelular, mientras que la cadena β atraviesa la membrana plasmática. La cadena β está compuesta por un dominio sema N-terminal que, junto con la cadena α , media la unión del ligando. El resto del ectodominio de la cadena β está compuesto por un dominio rico en cisteína y cuatro dominios de inmunoglobulina y va seguido de la región transmembranaria y el dominio intracelular. El dominio intracelular contiene un dominio yuxtapuesto a la membrana, el dominio cinasa y un dominio C-terminal, que media la señalización posterior. Tras la unión del ligando, se induce una dimerización del receptor y se activa el dominio cinasa por una cascada de etapas de autofosforilación de tirosinas en la región yuxtapuesta a la membrana (Y1003), el bucle de activación de la cinasa (Y1234 y Y1235) y el dominio carboxilterminal (Y1349 y Y1356). Las Y1349 e Y1356 fosforiladas comprenden el sitio de anclaje multisustrato para unir las proteínas de unión necesarias para la señalización de c-Met posterior [C. Ponzetto *et al.*, Cell 77: 261-71 (1994)]. Uno de los sustratos más importantes para la señalización de c-Met es la proteína adaptadora de formación de andamiaje Gab1, que se une a Y1349 o a Y1356 por medio de un sitio de unión a fosfotirosina inusual (llamado mbs: sitio de unión a met) que origina una señal intracelular prolongada única. Otro sustrato importante es la proteína adaptadora Grb2. En función del contexto celular, estos adaptadores median la activación de diversas rutas de señales intracelulares como las que señalizan por medio de ERK/MAPK, P13K/Akt, Ras, JNK, STAT, NF κ B y β -catenina.

c-Met se activa exclusivamente por el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), también conocido como factor de dispersión, y sus variantes de ajuste, que es su único ligando biológicamente activo conocido [L. Naldini *et al.*, Oncogene 6: 501-4 (1991)]. El HGF tiene una estructura clara que revela similitudes con proteinasas de la familia del plasminógeno. Está compuesto por un dominio amino terminal seguido de cuatro dominios kringle y un dominio de homología de serina-proteasa, que no es enzimáticamente activo. De forma similar al c-Met, el HGF se sintetiza como un precursor monocatenario inactivo (pro-HGF), que se escinde fuera de la célula por serina-proteasas (por ejemplo, activadores del plasminógeno y factores de coagulación) y se convierte en un heterodímero activo de cadenas α y β unidas por un puente disulfuro. El HGF se une con alta afinidad a proteoglicanos de heparán-sulfato, lo que lo mantiene asociado principalmente a la matriz extracelular y limita su difusión. Los análisis de la estructura cristalina indican que el HGF forma un dímero que, tras unirse a c-Met, induce la dimerización del receptor.

El HGF es expresado por células mesenquimales, y su unión a c-Met, que se expresa ampliamente en particular en células epiteliales, da lugar a efectos pleiotrópicos en una diversidad de tejidos que incluyen células epiteliales, endoteliales, neuronales y hematopoyéticas. Los efectos incluyen generalmente uno o todos los fenómenos

siguientes: *i*) estimulación de mitogénesis; HGF se identifica por su actividad mitogénica en hepatocitos; *ii*) estimulación de invasión y migración; en un enfoque experimental independiente, se identificó HGF como factor dispersor en base a su inducción de motilidad celular (“dispersión”); y *iii*) estimulación de morfogénesis (tubulogénesis). El HGF induce la formación de túbulos ramificados a partir de células renales caninas en una matriz de colágeno. Además, existen pruebas de ratones modificados genéticamente y de experimentos con cultivos celulares que indican que c-Met actúa como un receptor de supervivencia y protege a las células de la apoptosis [N. Tomita *et al.*, *Circulation* 107: 1411-1417 (2003); S. Ding *et al.*, *Blood* 101: 4816-4822 (2003); Q. Zeng *et al.*, *J. Biol. Chem.* 277: 25203-25208 (2002); N. Horiguchi *et al.*, *Oncogene* 21: 1791-1799 (2002); A. Bardelli *et al.*, *Embo J.* 15: 6205-6212 (1996); P. Longati *et al.*, *Cell Death Differ.* 3: 23-28 (1996); E.M. Rosen, *Symp. Soc. Exp. Biol.* 47: 227-234 (1993)]. La ejecución coordinada de estos procesos biológicos por HGF da lugar a un programa genético específico llamado “crecimiento invasivo”.

En condiciones normales, c-Met y HGF son esenciales para el desarrollo embrionario en ratones, en particular, para el desarrollo de la placenta y el hígado y para la migración direccional de los mioblastos desde las somitas de las extremidades. La alteración genética de los genes de c-Met o HGF da lugar a fenotipos idénticos, lo que demuestra su interacción exclusiva. El papel fisiológico de c-Met/HGF en el organismo adulto se comprende peor, pero las pruebas experimentales sugieren que están implicados en la cicatrización de heridas, la regeneración tisular, la hematopoyesis y la homeostasis tisular.

La identificación de la oncoproteína TPR-MET fue un primer indicio de que c-Met podía desempeñar un papel en la tumorigenia. De una serie de planteamientos experimentales diferentes se derivan pruebas sustanciales adicionales. La sobreexpresión de c-Met o HGF en líneas celulares humanas y murinas induce tumorigenicidad y un fenotipo metastásico cuando se expresan en ratones atímicos. La sobreexpresión transgénica de c-Met o HGF induce tumorigenia en ratones.

Lo más desconcertante es que se han identificado mutaciones de sentido alterado de c-Met o mutaciones que activan el receptor en carcinomas renales papilares hereditarios y esporádicos (HPRC), así como en otros tipos de cáncer como los cánceres de pulmón, gástrico, de hígado, de cabeza y cuello, ovárico y cerebral. Es significativo el hecho de que se segreguen mutaciones específicas de c-Met en familias de HPRC con la enfermedad, lo que establece una relación causal entre la activación de c-Met y el cáncer en seres humanos [L. Schmidt *et al.*, *Nat. Genet.* 16: 68-73 (1997); B. Zbar *et al.*, *Adv. Cancer Res.* 75: 163-201 (1998)]. Se localizan mutaciones de activación con las actividades transformadoras más fuertes en el bucle de activación (D1228N/H y Y1230H/D/C) y en el bucle P+1 adyacente (M1250T). Se han encontrado mutaciones adicionales más débiles cerca del bucle catalítico y dentro del lóbulo A del dominio cinasa. Además, se han observado algunas mutaciones en el dominio yuxtamembranario de c-Met en tumores de pulmón que no activan directamente la quinasa, pero que estabilizan la proteína volviéndola resistente a la ubiquitinación y a la degradación subsiguiente [M. Kong-Beltran *et al.*, *Cancer Res.* 66: 283-9 (2006); T.E. Taher *et al.*, *J. Immunol.* 169: 3793-800 (2002); P. Peschard *et al.*, *Mol. Cell* 8: 995-1004 (2001)]. Resulta interesante el hecho de que las mutaciones somáticas de c-Met se asocian con una agresividad aumentada y metástasis extensas en diversos cánceres. Aunque la frecuencia de las mutaciones somáticas y de línea germinal es baja (inferior al 5%), se han observado otros mecanismos principales que conducen a una desregulación de la señalización de c-Met, en ausencia de mutaciones, por mecanismos paracrinos o autocrinos. Se ha observado activación paracrina en tumores que derivan de células mesenquimales, como osteosarcomas o rhabdomyosarcomas, que producen HGF de forma fisiológica, y en glioblastomas y carcinomas de mama, que son de origen ectodérmico.

Sin embargo, los casos más frecuentes son los carcinomas donde se sobreexpresa c-Met, como se observa en carcinomas de colon, páncreas, estómago, mama, próstata, ovario e hígado. La sobreexpresión puede surgir, por ejemplo, por amplificación génica, como se observa en líneas celulares tumorales gástricas y de pulmón. Muy recientemente, se detectó sobreexpresión de c-Met en líneas celulares tumorales pulmonares que adquirieron resistencia a la inhibición del receptor de EGF [J.A. Engelmann *et al.*, *Science* 316: 1039-1043 (2007)]. Algunos tumores epiteliales que sobreexpresan c-Met también coexpresan HGF, lo que da lugar a una bucle autocrino estimulador de c-Met/HGF y, de este modo, eluden la necesidad de HGF derivado de células estromales.

En general, se ha descubierto que, de forma típica, la activación anómala de c-Met en el cáncer humano se asocia con un mal pronóstico, independientemente del mecanismo específico [J.G. Christensen *et al.*, *Cancer Lett.* 225: 1-26 (2005)].

En resumen, se han realizado gran cantidad de estudios *in vitro* e *in vivo* que validan c-Met como un importante objetivo del cáncer; se puede ver una lista completa en <http://www.vai.org/met> [C. Birchmeier *et al.*, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 4: 915-25 (2003)]. Se han seguido varias estrategias para atenuar señalización de Met aberrante en tumores humanos que incluyen antagonistas de HGF e inhibidores moleculares pequeños, entre otras cosas. Actualmente, están en desarrollo clínico una serie de inhibidores de molécula pequeña, tales como ARQ-197 (Arqule), XL-880 (Exelixis) y PH-2341066 (Pfizer); se han revisado recientemente [J.J. Cui, *Expert Opin. Ther. Patents* 17: 1035-45 (2007)].

Por lo tanto, el problema técnico que se ha de resolver de acuerdo con la presente invención se puede ver en proporcionar compuestos alternativos con potente actividad inhibitoria sobre la cinasa c-Met, de modo que se ofrezcan nuevas opciones terapéuticas para el tratamiento de enfermedades mediadas por c-Met, en particular el

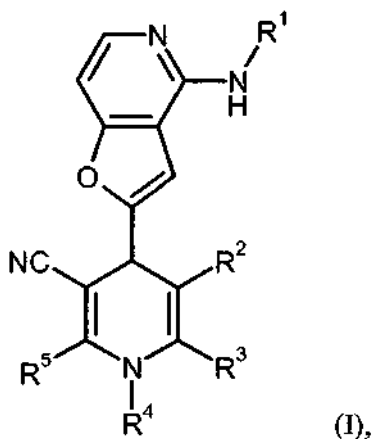
cáncer y otros trastornos proliferativos.

Los derivados de 1,4-dihidropiridina que tienen un grupo heteroarilo bicíclico en la posición 4 que son útiles como agentes cardiovasculares con actividad agonista o antagonista del calcio se conocen por los documentos EP 0 217 530-A1 y EP 0 630 895-A1. En el documento WO 2006/066011-A2 se han descrito 3-ciano-4-(hetero)aril-1,4-dihidropiridinas como moduladores tanto como receptores de esteroides y como con actividad del canal de calcio que son valiosos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Recientemente en el documento WO 2008/071451-A1 se han divulgado determinadas 3-ciano-4-heteroaril-1,4-dihidropiridinas que poseen actividad inhibidora de c-Met cinasa.

El documento WO 2008/071451 se refiere a derivados de dihidropiridina sustituidos con grupos heterocíclicos y que poseen actividad inhibidora de tirosina cinasa útiles para el tratamiento de enfermedades mediadas por c-Met tales como trastornos de proliferación celular.

El documento EP 0 755 931 A1 divulga derivados de dihidropiridina sustituidos con fenilo útiles para el tratamiento de trastornos de proliferación celular.

En un aspecto, la presente invención se refiere a derivados de 4-(furo[3,2-c]piridin-2-il)-1,4-dihidropiridina de fórmula general (I)



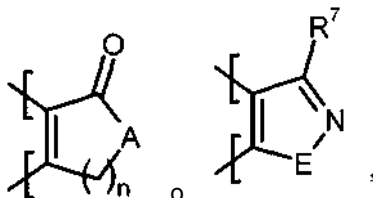
en la que

R¹ es hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), alquil (C₁-C₆)-carbonilo, bencilo o benzoilo, donde la porción fenilo de dichos grupos bencilo y benzoilo, respectivamente, puede estar sustituida con uno o dos restos seleccionados independientemente del grupo que consiste en fluoro, cloro, bromo, ciano, metilo, difluorometilo, trifluorometilo, etilo, metoxi, difluorometoxi y trifluorometoxi,

R² es ciano

R³ es alquilo (C₁-C₄) opcionalmente sustituido con hasta tres átomos de flúor, o

R² y R³ están unidos y, tomados junto con los átomos de carbono a los que están ligados, forman un anillo condensado de la fórmula



en las que

n es un número entero de 1 o 2;

A es -CH₂-, -O- o -NR⁶-, en el que R⁶ es hidrógeno o alquilo (C₁-C₄),

E es -O-, -NH- o -NCH₃-, y

R⁷ es hidrógeno o metilo,

R⁴ es hidrógeno, alquilo (C₁-C₄) o ciclopropilo,

R⁵ es alquilo (C₁-C₆) opcionalmente sustituido con hasta tres átomos de fluro,

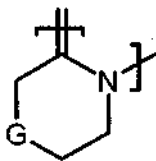
o

5 es fenilo o piridilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido con uno o dos restos seleccionados de forma independiente del grupo que consiste en fluro, cloro, bromo, ciano, metilo, difluorometilo, trifluorometilo, etilo, metoxi, difluorometoxi y trifluorometoxi,

o

R⁴ y R⁵ están unidos y, tomados junto con el átomo de nitrógeno y el átomo de carbono a los que están ligados, forman un anillo condensado de la fórmula

10



en la que

G es -CH₂- o -O-.

15 Los compuestos de acuerdo con la presente invención también pueden estar presentes en forma de sus sales, hidratos y/o solvatos.

Salas para los propósitos de la presente invención son preferentemente sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la invención (por ejemplo, véase S. M. Berge *et al.*, "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19).

20 Salas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácido de ácidos minerales, ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos, por ejemplo, sales de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido acético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico y ácido benzoico.

25 Salas farmacéuticamente aceptables también incluyen sales de bases habituales, tales como, por ejemplo y preferentemente, sales de metales alcalinos (por ejemplo, sales de sodio y de potasio), sales de metales alcalinotérreos (por ejemplo, sales de calcio y de magnesio) y sales de amonio derivadas de amoniaco o de aminas orgánicas, tales como, de forma ilustrativa y preferente, etilamina, dietilamina, trietilamina, etildiisopropilamina, *N,N*-diisopropiletilamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dimetilaminoetanol, colina, etilendiamina, dicitclohexilamina, dibencilamina, *N*-metilmorfolina, *N*-metilpiperidina, dihidroabietilamina, arginina y lisina.

30 Hidratos de los compuestos de la invención o de sus sales son composiciones estequiométricas de los compuestos o sales con agua, tales como, por ejemplo, hemi-, mono- o dihidratos.

Solvatos de los compuestos de la invención o sus sales son composiciones estequiométricas de los compuestos o sales con disolventes.

35 Los compuestos de la presente invención pueden, bien por la naturaleza de los centros asimétricos o bien por rotación restringida, estar presentes en forma de isómeros (enantiómeros, diastereómeros). Cualquier isómero puede estar presente en el que el centro asimétrico está en configuración (*R*)-, (*S*)-, o (*R,S*).

Se apreciará también que cuando estén presentes dos o más centros asimétricos en los compuestos de la invención, con frecuencia serán posibles varios diastereómeros y enantiómeros de las estructuras ejemplificadas, y que los diastereómeros puros y los enantiómeros puros representan las realizaciones preferentes.

40 Todos los isómeros, bien sean separados, puros, parcialmente puros, o bien estén en forma diastereomérica o racémica, de los compuestos de la presente invención están abarcados dentro del alcance de la presente invención. La purificación de dichos isómeros y la separación de dichas mezclas isómeras se puede llevar a cabo por técnicas ordinarias conocidas en la técnica. Por ejemplo, las mezclas diastereómeras se pueden separar en los isómeros individuales por procedimientos cromatográficos o cristalización, y los racematos se pueden separar en los respectivos enantiómeros por procedimientos cromatográficos sobre fases quirales o por resolución.

45

Además, todas las formas tautómeras posibles de los compuestos descritos anteriormente están incluidas de acuerdo con la presente invención.

A no ser que se indique de otro modo, las siguientes definiciones son de aplicación para los sustituyentes y restos usados a lo largo de la presente memoria descriptiva y reivindicaciones.

5 alquilo (C₁-C₆), alquilo (C₁-C₅) y alquilo (C₁-C₄) representan un radical hidrocarbonado saturado de cadena lineal o ramificado que tiene 1 a 6, 1 a 5 y 1 a 4 átomos de carbono, respectivamente. Se prefiere un radical alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada que tiene 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos no limitantes incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo, *iso*-butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, 1-etilpropilo, *n*-pentilo, *iso*-pentilo, *neo*-pentilo, *n*-hexilo e *iso*-hexilo. La misma definición es de aplicación a radicales como alquilcarbonilo y similares.

10 alquil (C₁-C₆)-carbonilo representa un radical alquilo de cadena lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono que está unido al resto de la molécula a través de un grupo carbonilo [-C(=O)-]. Ejemplos no limitantes incluyen acetilo, *n*-propionilo, *n*-butirilo, *iso*-butirilo, *n*-pentanoilo, pivaloilo, *n*-hexanoilo y *n*-heptanoilo.

A lo largo del presente documento, por cuestiones de simplicidad, se da preferencia al uso del lenguaje en singular sobre el lenguaje en plural, aunque por lo general se pretende incluir el lenguaje en plural si no se indica lo contrario.

15 Por ejemplo, se pretende que la expresión "Un procedimiento de tratamiento de una enfermedad en un paciente, que comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I)" incluya el tratamiento simultáneo de más de una enfermedad, así como la administración de más de un compuesto de fórmula (I).

En un modo de realización preferente, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula general (I), en la que

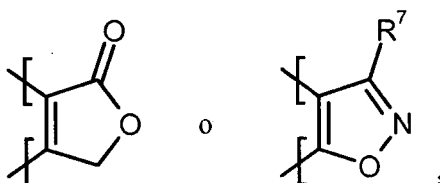
20 R¹ es hidrógeno, metilo, acetilo o benzoilo,

R² es ciano

R³ es metilo, difluorometilo o trifluorometilo,

o

25 R² y R³ están unidos y, tomados junto con los átomos de carbono a los que están ligados, forman un anillo condensado de la fórmula



en la que

R⁷ es hidrógeno o metilo.

R⁴ es hidrógeno o metilo,

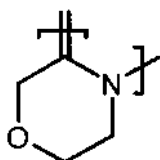
30 R⁵ es alquilo (C₁-C_a) opcionalmente sustituido con hasta tres átomos de fluro,

o

es fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos restos seleccionados independientemente del grupo que consiste en fluro, cloro, metilo y trifluorometilo,

o

35 R⁴ y R⁵ están unidos y, tomados junto con el átomo de nitrógeno y de carbono a los que están ligados, forman un anillo de morfolina condensado de la fórmula



En un modo de realización particularmente preferente, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula general (I), en la que

R¹ es hidrógeno o benzoilo,

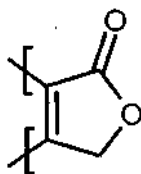
R² es ciano

5 R³ es metilo, difluorometilo o trifluorometilo,

o

R² y R³ están unidos y, tomados junto con los átomos de carbono a los que están ligados, forman un anillo de lactona condensado

de la fórmula



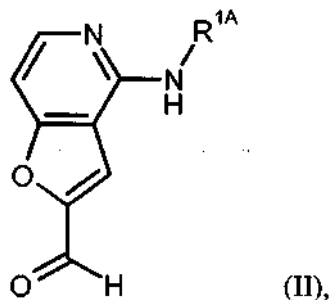
10

R⁴ es hidrógeno, y

R⁵ es metilo, difluorometilo o trifluorometilo, o es fenilo opcionalmente sustituido con fluoro o cloro.

15 Las definiciones de residuos indicadas específicamente en las respectivas combinaciones o combinaciones de restos preferentes también se reemplazan según se desee por definiciones de restos o sus combinaciones, independientemente de las combinaciones particulares indicadas para los restos. Son particularmente preferentes las combinaciones de dos o más de los intervalos preferentes mencionados anteriormente.

En otra forma de realización, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de compuestos de la fórmula general (I) en la que R⁴ es hidrógeno y R¹ representa hidrógeno, alquil (C₁-C₆)-carbonilo o benzoilo opcionalmente sustituido, caracterizado porque un furopiridinil aldehído de fórmula (II)

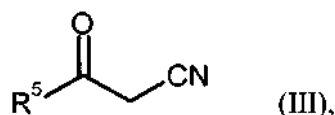


20

en la que

R^{1A} representa alquil (C₁-C₆)-carbonilo o benzoilo opcionalmente sustituido como se ha definido antes para R¹, se hace reaccionar bien

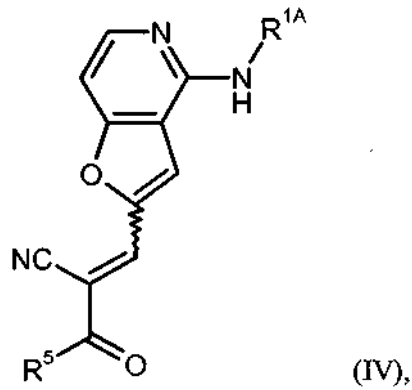
[A] con una cianocetona de fórmula (III)



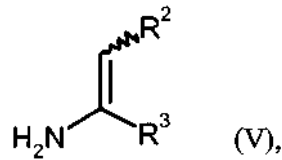
25

o con un enolato de sodio de la misma, en la que R⁵ tiene el significado definido anteriormente,

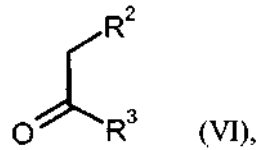
en presencia de un ácido, una combinación ácido/base y/o un agente deshidratante para dar un compuesto de fórmula (IV))



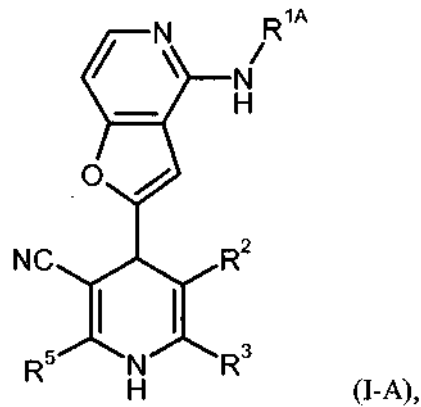
en la que R^{1A} y R^5 tienen los significados definidos anteriormente,
y el último se condensa después bien con una enamina de fórmula (V)



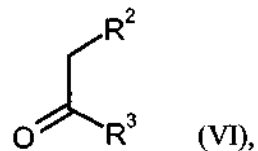
5 en la que R^2 y R^3 tienen los significados definidos anteriormente,
o con una cetona de fórmula (VI)



en la que R^2 y R^3 tienen los significados definidos anteriormente,
en combinación con una fuente de amoniaco tal como acetato de amonio para dar el compuesto de fórmula (I-A)

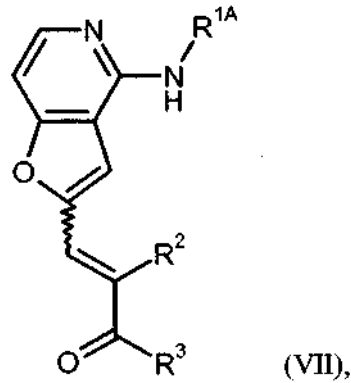


10 en la que R^{1A} , R^2 , R^3 y R^5 tienen los significados definidos anteriormente,
o
[B] con una cetona de fórmula (VI)



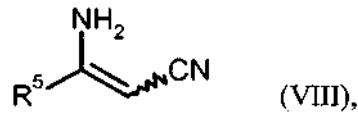
15 en la que R^2 y R^3 tienen los significados definidos anteriormente,

en presencia opcional de un ácido, base y/o un agente deshidratante para dar un compuesto de fórmula (VII)

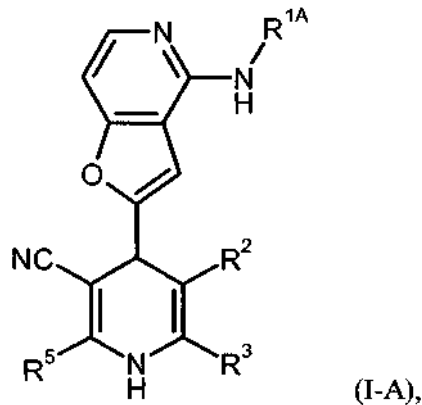


en la que R^{1A}, R² y R³ tienen los significados definidos anteriormente,
y el último se condensa después con un enamionitrilo de fórmula (VIII)

5

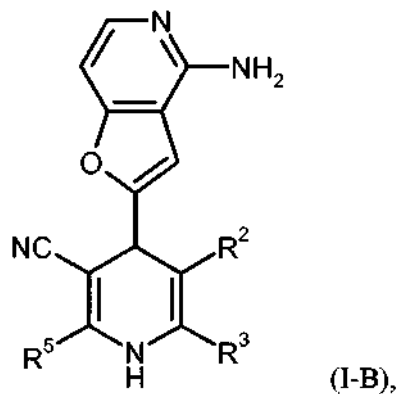


en la que R⁵ tiene el significado definido anteriormente,
en presencia opcional de un ácido para proporcionar también el compuesto de fórmula (I-A)



10

en la que R^{1A}, R², R³ y R⁵ tienen los significados definidos anteriormente,
seguido opcionalmente por escisión hidrolítica del grupo acilo R^{1A} para dar el compuesto de amina (I-B)



en la que R², R³ y R⁵ tienen los significados definidos anteriormente,
y seguido opcionalmente, cuando sea apropiado, de (i) separar los compuestos (I-A) y (I-B) así obtenidos en sus respectivos enantiómeros y/o diastereómeros, preferentemente usando procedimientos cromatográficos, y/o (ii)

convertir los compuestos (I-A) y (I-B) en sus respectivos hidratos, solvatos, sales y/o hidratos o solvatos de las sales por tratamiento con los correspondientes disolventes y/o ácidos o bases.

5 Las variantes del proceso [A] (II) + (III) \rightarrow (IV), (IV) + (V)/(VI) \rightarrow (I-A) y [B] (II) + (VI) \rightarrow (VII), (VII) + (VIII) \rightarrow (I-A) se pueden llevar a cabo ambas en dos etapas separadas como se ha descrito antes, o usando un procedimiento en una etapa, es decir, sin aislamiento explícito de los respectivos compuestos intermedios (IV) y (VII). En algunos casos, dependiendo de la reactividad de los reaccionantes particulares, puede ser factible al preparar los compuestos de fórmula (I-A) llevar a cabo una reacción de condensación en un matraz/tres componentes de los compuestos (II), (III) y (V)/(VI) [A], o (II), (VI) y (VIII) [B] [para la síntesis de 1,4-dihidropiridinas en general, véase, por ejemplo, D.M. Stout, A.I. Meyers, Chem. Rev. 1982, 82, 223-243; H. Meier *et al.*, Liebigs Ann. Chem. 1977, 1888; H. Meier *et al.*, *ibid.* 1977, 1895; H. Meier *et al.*, *ibid.* 1976, 1762; F. Bossert *et al.*, Angew. Chem. 1981, 93, 755].

10 Las fuentes de amoniaco adecuadas para reacción (IV) + (VI) \rightarrow (I-A) son, por ejemplo, formiato de amonio, acetato de amonio, cloruro de amonio o hidrogenosulfato de amonio; se da preferencia a acetato de amonio.

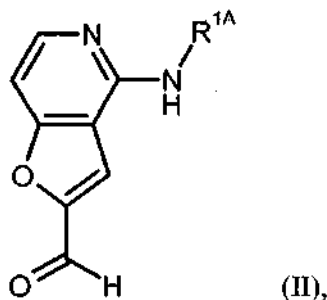
15 Por lo general, las etapas de proceso (II) + (III) \rightarrow (IV), (IV) + (V)/(VI) \rightarrow (I-A), (II) + (VI) \rightarrow (VII) y (VII) + (VIII) \rightarrow (I-A) se llevan a cabo en un disolvente inerte en un intervalo de temperaturas de desde +20 °C hasta el punto de ebullición del disolvente a presión atmosférica.

20 Son disolventes adecuados para este fin, por ejemplo, alcoholes tales como metanol, etanol, *N*-propanol, isopropanol, *N*-butanol, *terc*-butanol o *N*-pentanol, hidrocarburos tales como hexano, ciclohexano, benceno, tolueno o xileno, halohidrocarburos tales como diclorometano, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, 1,2-dicloroetano, clorobenceno o clorotolueno, éteres tales como tetrahydrofurano, 1,4-dioxano o 1,2-dimetoxietano, u otros disolventes tales como acetonitrilo o ácido acético. También es posible usar mezclas de estos disolventes. Las reacciones (II) + (III) \rightarrow (IV) y (II) + (VI) \rightarrow (VII) se llevan a cabo preferentemente en diclorometano, tolueno, etanol, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol o *n*-pentanol a la temperatura de reflujo respectiva a presión atmosférica, y las reacciones (IV) + (V)/(VI) \rightarrow (I-A) y (VII) + (VIII) \rightarrow (I-A) se llevan a cabo preferentemente en *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol, *n*-pentanol, xileno, ácido acético o mezclas de los mismos, también a temperatura de reflujo a presión atmosférica.

25 De forma ventajosa, la reacción (II) + (III) \rightarrow (IV) se puede producir en presencia de un ácido, una combinación de ácido/base y/o un agente de deshidratación inerte tal como, por ejemplo, tamices moleculares. Son ejemplos de catalizadores ácidos adecuados, el ácido acético, el ácido trifluoroacético, el ácido metanosulfónico, el ácido bencenosulfónico o el ácido *p*-toluenosulfónico; son bases adecuadas, en particular, la piperidina o la piridina. Dependiendo de la reactividad de los componentes, la conversión I(II) + (VI) \rightarrow (VII) se puede llevar a cabo sin otros reaccionantes auxiliares, o puede verse facilitada por una base amina particular, tal como, por ejemplo, piperidina, por un ácido tal como ácido acético y/o por un agente de deshidratación tal como tamices moleculares. De forma similar, las reacciones (IV) + (V)/(VI) \rightarrow (I-A) y (VII) + (VIII) \rightarrow (I-A) se pueden llevar a cabo sin otros catalizadores o con la ayuda de un aditivo ácido; en el último caso, se usa preferentemente ácido acético como catalizador ácido y disolvente o codisolvente.

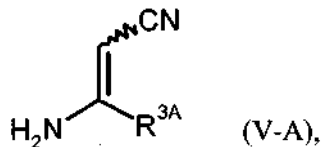
30 En caso de que R^{1A} sea un grupo benzoilo opcionalmente sustituido, la reacción de escisión (I-A) \rightarrow (I-B) se lleva a cabo preferentemente exponiendo el compuesto (I-A) a temperatura elevada (por ejemplo, de +50 °C a +120 °C) a un ácido fuerte, tal como cloruro de hidrógeno o bromuro de hidrógeno, en solución de ácido acético glacial. En el caso de que R^{1A} sea un grupo alquil (C₁-C₆)-carbonilo, la hidrólisis se lleva a cabo normalmente en condiciones básicas tratando el compuesto (I-A) con hidróxido alcalino acuoso, tal como hidróxido de litio, de sodio o de potasio, en un disolvente prótico o miscible en agua, tal como metanol, etanol, iso-propanol, tetrahydrofurano, 1,4-dioxano o 1,2-dimetoxietano, en un intervalo de temperatura de 0 °C a +60 °C.

35 Los compuestos de fórmula (1-A), en la que R² es ciano y R³ y R⁵ representan ambos restos alquilo (C₁-C₄) opcionalmente sustituidos con fluoro son idénticos entre sí [es decir, compuestos de fórmula (I-A) que tienen una subestructura de 1,4-dihidropiridina simétrica], se pueden preparar de forma alternativa condensando el furopiridinil aldehído de fórmula (II)



en la que R^{1A} tiene el significado definido anteriormente,

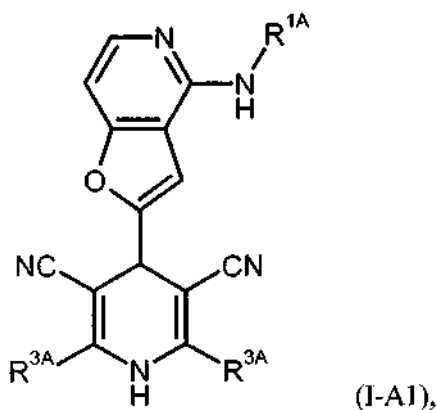
en presencia de un ácido con dos equivalentes de la ciano-enamina de fórmula (V-A)



en la que

R^{3A} representa alquilo (C₁-C₄) opcionalmente sustituido con hasta tres átomos de fluro,

5 dando el compuesto de la fórmula (I-A1)

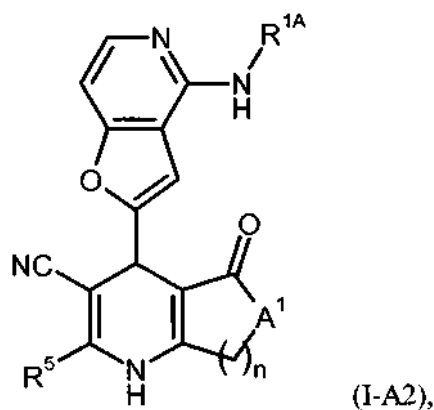


en la que R^{1A} y R^{3A} tienen los significados definidos anteriormente.

10 La reacción de condensación (II) + (V-A) → (I-A1) se lleva a cabo normalmente en disolventes orgánicos práticos como alcoholes, tales como metanol, etanol, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol, *terc*-butanol o *n*-pentanol, o ácido acético. También es posible usar mezclas de estos disolventes. Ejemplos de catalizadores ácidos que benefician esta conversión son el ácido acético, el ácido trifluoroacético, el ácido metanosulfónico, el ácido bencenosulfónico y el ácido *p*-toluenosulfónico. Preferentemente, se usa simultáneamente ácido acético como disolvente y codisolvente.

La etapa de proceso (II) + (V-A) → (I-A1) se lleva a cabo en general en un intervalo de temperatura de +20 °C a +150 °C, preferentemente de +80 °C a +125 °C, a presión atmosférica.

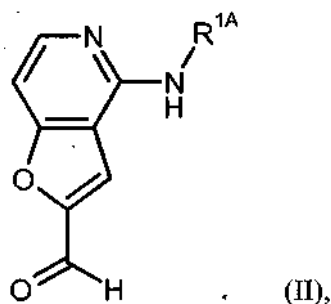
15 Los compuestos de la invención que tienen la fórmula (I-A2)



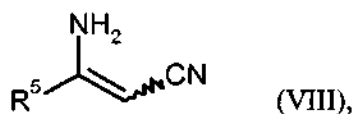
en la que R^{1A}, R⁵ y n tienen los significados definidos anteriormente,

y

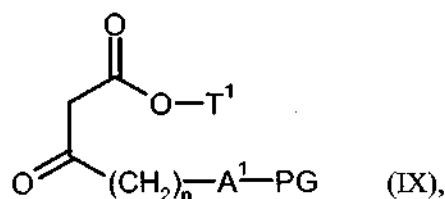
20 A¹ representa -O- o -NR⁶-, en el que R⁶ tiene el significado definido anteriormente, también se pueden preparar por una reacción de condensación de tres componentes del furopiridinil aldehído (II)



en la que R^{1A} tiene el significado definido anteriormente,
y un cetoéster de fórmula (VII)



5 en la que R^5 tiene el significado definido anteriormente,
y un cetoéster de fórmula (IX)



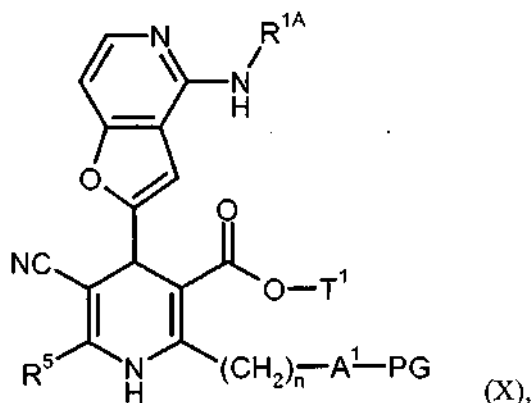
en la que n y A^1 tienen los significados definidos anteriormente,

T^1 representa alquilo (C_1 - C_4),

10 y

PG representa un grupo protector de hidroxilo o de amino adecuado, tal como acetilo, trimetilsililo, tetrahidropiraniilo, *tert*-butoxicarbonilo o benciloxicarbonilo, respectivamente,

dando un compuesto intermedio de fórmula (X)



15 en la que R^{1A} , R^5 , n , A^1 , T^1 y PG tienen los significados definidos anteriormente,

que, seguidamente se desprotege y cicla proporcionando el compuesto deseado de fórmula (I-A2).

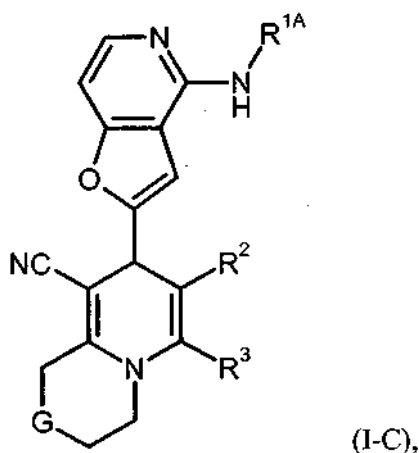
La reacción de condensación (II) + (VIII) + (IX) \rightarrow (X) se lleva a cabo preferentemente en un disolvente alcohol tal como metanol, etanol, *N*-propanol, isopropanol, *N*-butanol, *tert*-butanol o *N*-pentanol, opcionalmente en combinación con un catalizador ácido tal como ácido acético. En general, la conversión se lleva a cabo en un intervalo de temperatura de +20 °C a +150 °C, preferentemente de +80 °C a +125 °C, a presión atmosférica.

20 Por lo general, la retirada del grupo protector PG en la etapa de proceso (X) \rightarrow (I-A2) se lleva a cabo por

procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica [véanse, por ejemplo, T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, Nueva York, 1999]. Como grupo protector de hidroxilo, se usa preferentemente acetilo. En este caso, la desprotección y posterior formación de lactona [A¹ = O en (I-A2)] se pueden llevar a cabo en un procedimiento en un solo recipiente, es decir, sin aislamiento del intermedio desprotegido, tratando el compuesto (X) con una solución acuosa de un ácido fuerte, tal como cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno o ácido trifluoroacético, a temperatura elevada (por ejemplo de +50 °C a +120 °C).

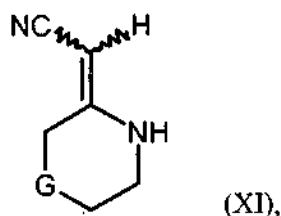
Para la protección del nitrógeno, se emplea preferentemente *tert*-butoxicarbonilo(Boc) como grupo PG. La desprotección por tratamiento convencional con cloruro de hidrógeno anhidro o ácido trifluoroacético, y la ciclación final a la lactama (I-A2) [A¹ = NR⁶] exponiendo la sal amina intermedia a una base habitual puede llevarse a cabo de nuevo usando un procedimiento en un recipiente o en dos etapas separadas.

Los compuestos de la invención que tienen la fórmula (I-C)



en la que R^{1A}, R², R³ y G tienen los significados definidos anteriormente,

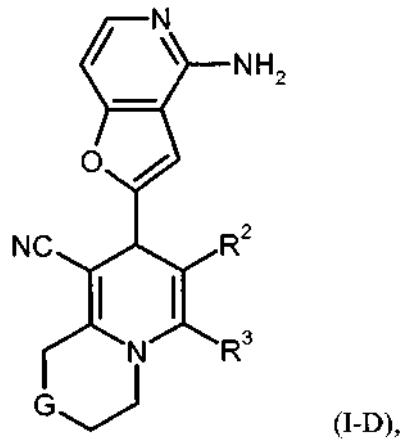
se pueden preparar de forma muy similar a las reacciones de condensación descritas antes sustituyendo el compuesto de fórmula (XI)



en la que G tiene el significado definido anteriormente,

por el enaminonitrilo de fórmula (VIII) [véanse las transformaciones (VII) + (VIII) → (I-A) y (II) + (VIII) + (IX) → (X) → (I-A2), respectivamente]. De forma análoga, son de aplicación los parámetros de reacción especificados antes, tales como disolventes y catalizadores ácidos.

El compuesto (I-C) se puede convertir seguidamente, si se desea, en el derivado correspondiente de 4-aminofuropiridinilo de fórmula (I-D).

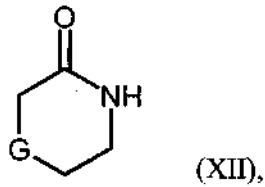


en la que R^2 , R^3 y G tienen los significados definidos anteriormente,

mediante la retirada hidrolítica del grupo acilo R^{1A} [véase la transformación (I-A) \rightarrow (1-B)].

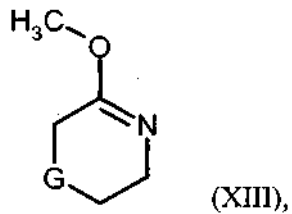
La enamina exocíclica de fórmula (XI) se puede preparar partiendo de una lactama de fórmula (XII)

5



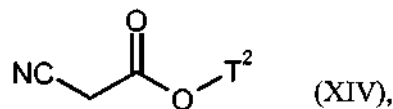
en la que G tiene el significado definido anteriormente,

que se condensa en primer lugar a través de su derivado de éter lactama de fórmula (XIII)



en la que G tiene el significado definido anteriormente, con un cianoacetato de fórmula (XIV)

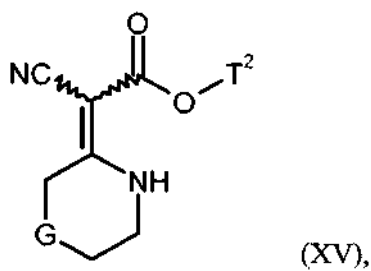
10



en la que

T^2 representa alquilo (C_1 - C_4) o bencilo,

dando un compuesto de la fórmula (XV)



15 en la que G y T^2 tienen los significados descritos anteriormente,

después de lo cual la escisión del éster y descarboxilación proporcionan la ciano-enamina de fórmula (XI) [véase el esquema de reacción 5 siguiente].

Este intermedio se emplea normalmente en posteriores reacciones como una solución del material bruto, es decir, sin posterior aislamiento y purificación.

- 5 Se pueden preparar compuesto de fórmula (I), en la que R^4 es alquilo (C_1-C_4) o ciclopropilo, haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (I-A) en presencia de una base con un compuesto de fórmula (XVI)



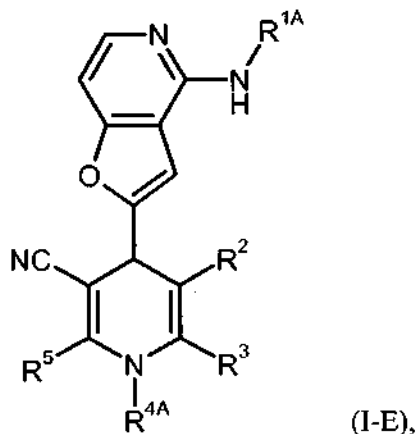
en la que

R^{4A} representa alquilo (C_1-C_4) o ciclopropilo,

10 y

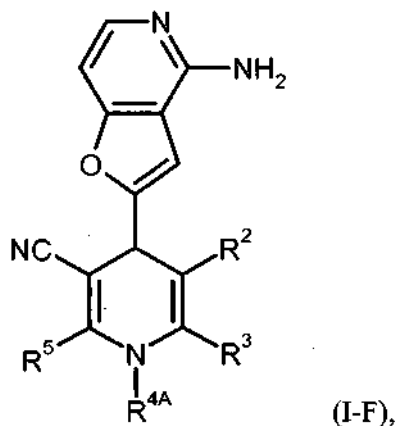
Z representa un grupo saliente tal como halógeno, mesilato, triflato, tosilato o sulfato,

dando el compuesto de la fórmula (I-E)



en la que R^{1A} , R^2 , R^3 , R^{4A} y R^5 tienen los significados definidos anteriormente,

- 15 que se puede hidrolizar seguidamente, si se desea, dando el derivado de 4-aminofupiridinilo de fórmula (I-F)



en la que R^2 , R^3 , R^{4A} y R^5 tienen los significados definidos anteriormente, [véase la transformación (I-A) \rightarrow (I-B)].

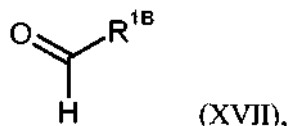
- 20 Son disolventes inertes para la reacción de alquilación (I-A) + (XVI) \rightarrow (I-E), por ejemplo, éteres tales como éter dietílico, éter metil *terc*-butílico, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano o 1,2-dimetoxietano, hidrocarburos tales como benceno, tolueno, xileno, hexano o ciclohexano, halohidrocarburos tales como diclorometano, triclorometano, tetraclorometano, 1,2-dicloroetano, tricloroetano, tetracloroetano, clorobenceno o clorotolueno, u otros disolventes tales como acetonitrilo, *N,N*-dimetilformamida (DMF), dimetil sulfóxido (DMSO), *N,N'*-dimetilpropilenurea (DMPU), *N*-metil-pirrolidinona (NMP) o piridina. Es también factible usar mezclas de estos disolventes. Preferentemente, se emplean diclorometano, tetrahidrofurano, *N,N*-dimetilformamida o mezclas de los mismos.

- 25 En particular, son bases adecuadas para la etapa del procedimiento (I-A) + (XVI) \rightarrow (I-E) los carbonatos de metales

5 alcalinos o metales alcalinotérreos tales como carbonato de litio, sodio, potasio, calcio o cesio, los hidruros de metales alcalinos tales como hidruro de sodio o potasio, los alcóxidos alcalinos con impedimento estérico tales como *tert*-butóxido de sodio o potasio, las amidas alcalinas con impedimento estérico tales como bis(trimetilsilil)amida de litio, sodio o potasio o diisopropilamida de litio, o las amidas orgánicas tales como trietilamina, *N*-metilmorfolina, *N*-metilpiperidina, *N,N*-diisopropiletilamina o piridina. Preferentemente, se usa carbonato de potasio, carbonato de cesio, hidruro de sodio o trietilamina.

En general, la reacción (I-A) + (XVI) → (I-E) se lleva a cabo a presión atmosférica y en un intervalo de temperaturas de desde -20 °C hasta +100 °C, preferentemente a de 0 °C a +50 °C.

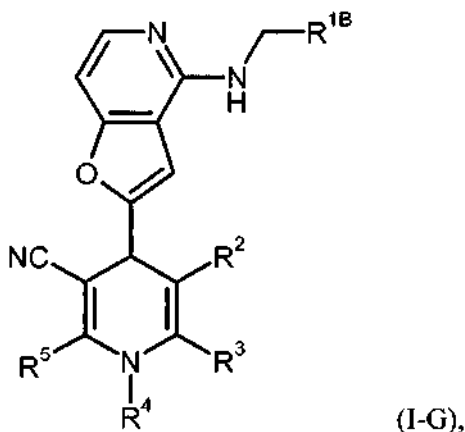
10 Se pueden preparar compuestos de fórmula (I), en la que R¹ es alquilo (C₁-C₆) o bencilo opcionalmente sustituido haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (I-B), (I-D) o (I-F), respectivamente, con un aldehído de fórmula (XVII)



en la que

R^{1B} representa hidrógeno, alquilo (C₁-C₅) o benzoilo opcionalmente sustituido como se ha definido antes para R¹, en presencia de un agente reductor adecuado, tal como borohidruro de sodio.

15 dando el compuesto de la fórmula (I-G)



en la que R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ tienen los significados descritos anteriormente.

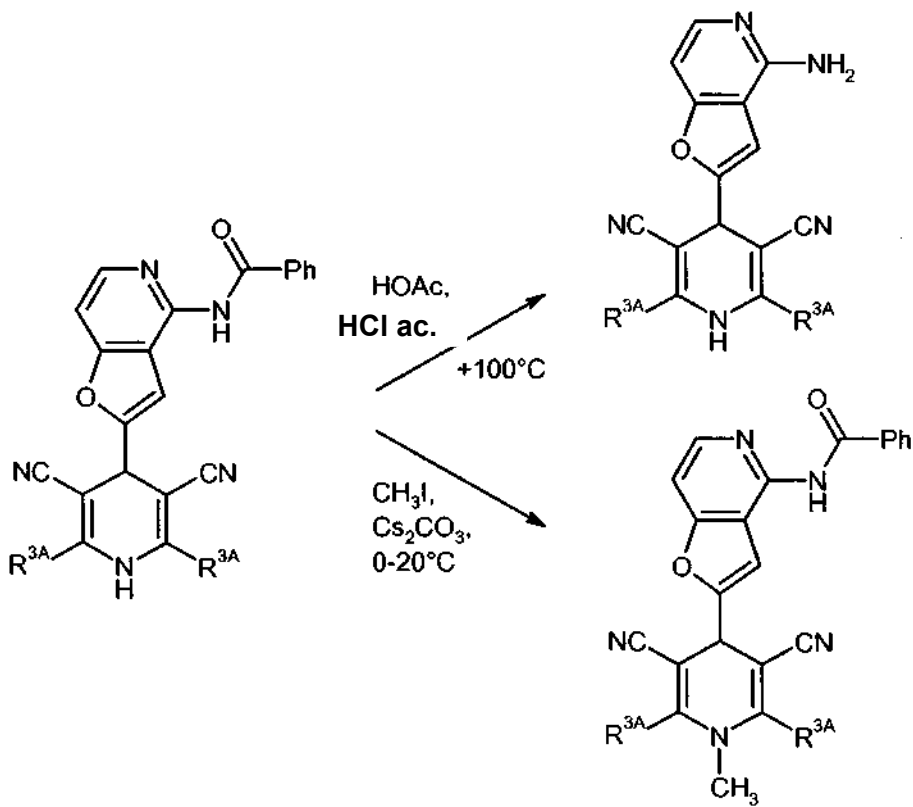
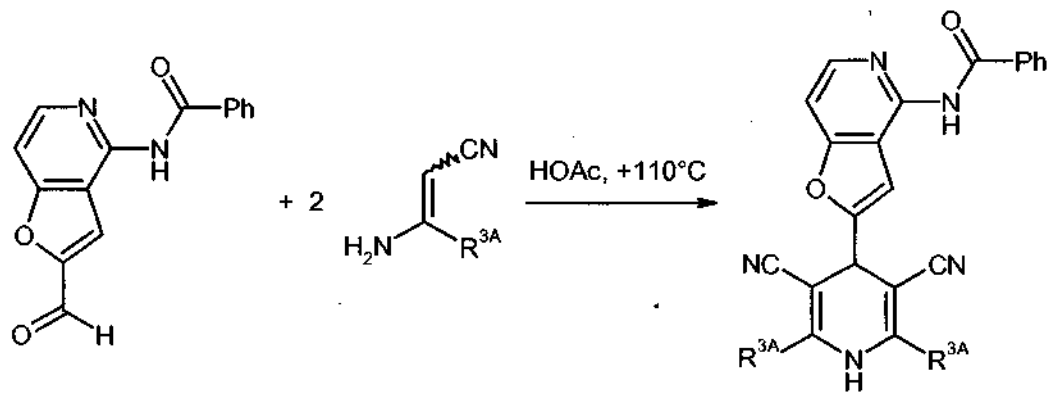
20 La transformación se lleva a cabo normalmente en un disolvente prótico, tal como agua, metanol, etanol, isopropanol o mezclas de los mismos, a una temperatura de 0 °C a +50 °C, a presión atmosférica. Los agentes reductores empleados de forma habitual en este tipo de reacción de *N*-alquilación son derivados de borohidruro alcalinos, tales como borohidruro de sodio, borohidruro de potasio, cianoborohidruro de sodio o triacetoxiborohidruro de sodio, opcionalmente en combinación con un catalizador ácido tal como ácido acético.

25 Los compuestos de fórmulas (II), (III), (V), (V-A), (VI), (VIII), (IX), (XII), (XIV), (XVI) y (XVII) bien están disponibles comercialmente, bien se conocen de la literatura o bien se pueden preparar a partir de materiales de partida fácilmente disponibles por adaptación de procedimientos ordinarios descritos en la literatura (para otras referencias, véase la siguiente sección experimental).

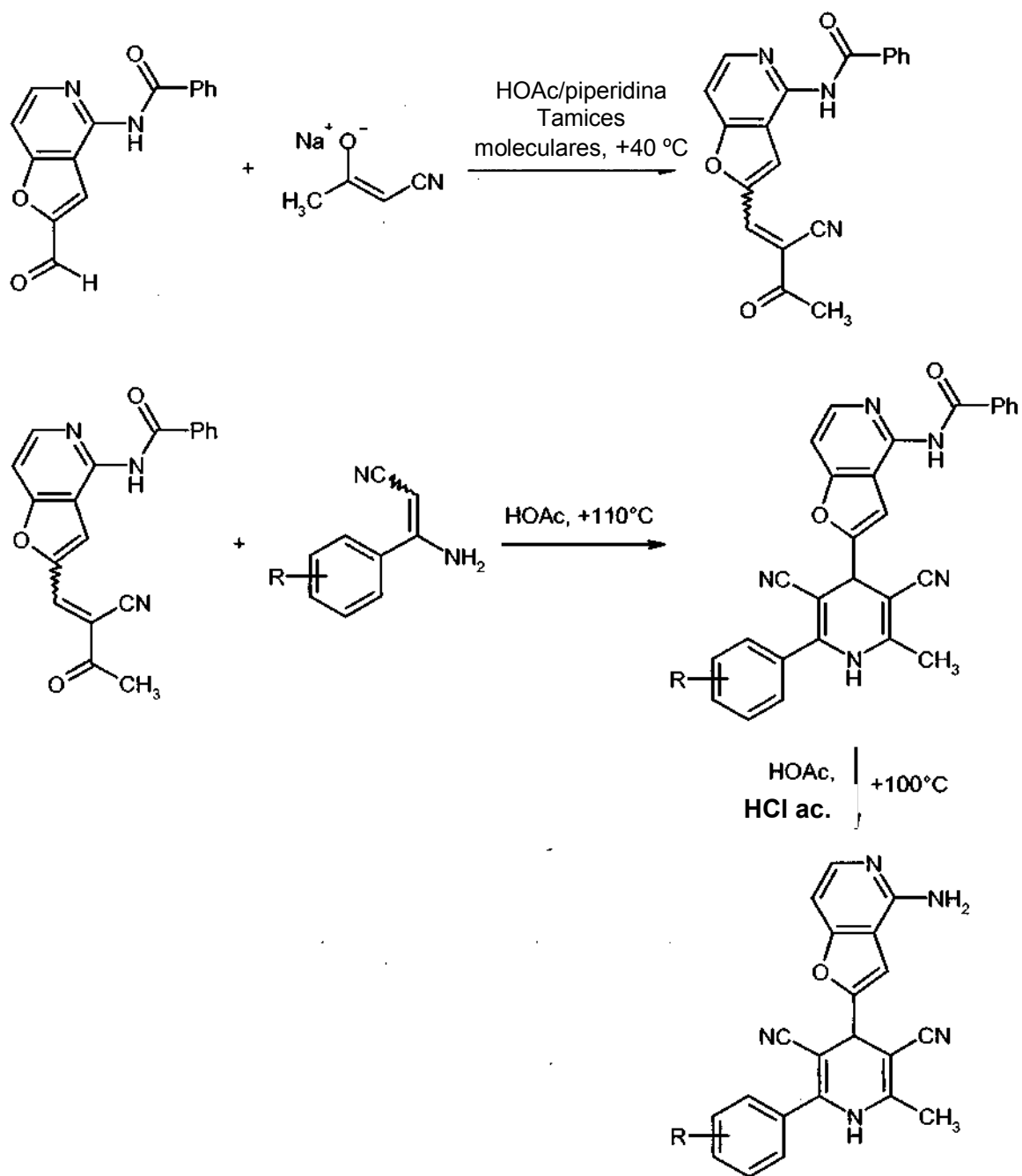
La preparación de los compuestos de la invención se puede ilustrar por medio de los siguientes esquemas de síntesis 1-5. Más adelante, en la sección experimental de descripción de los ejemplos, se presentan procedimientos más detallados.

30

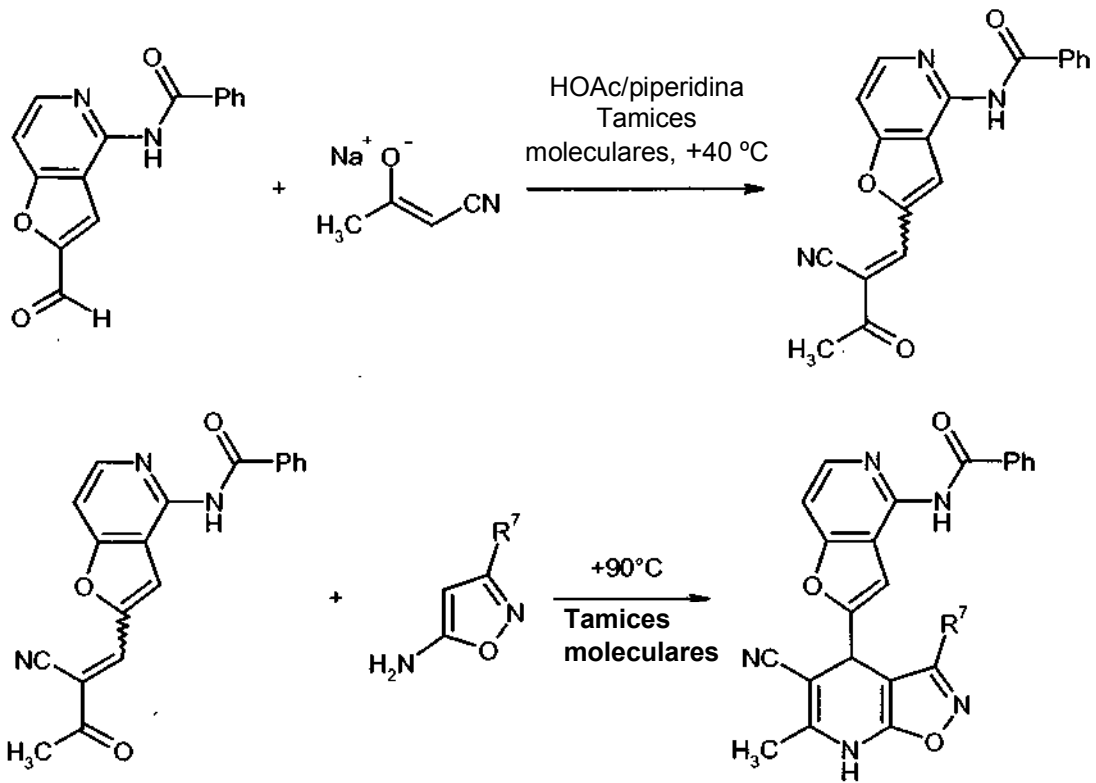
Esquema 1



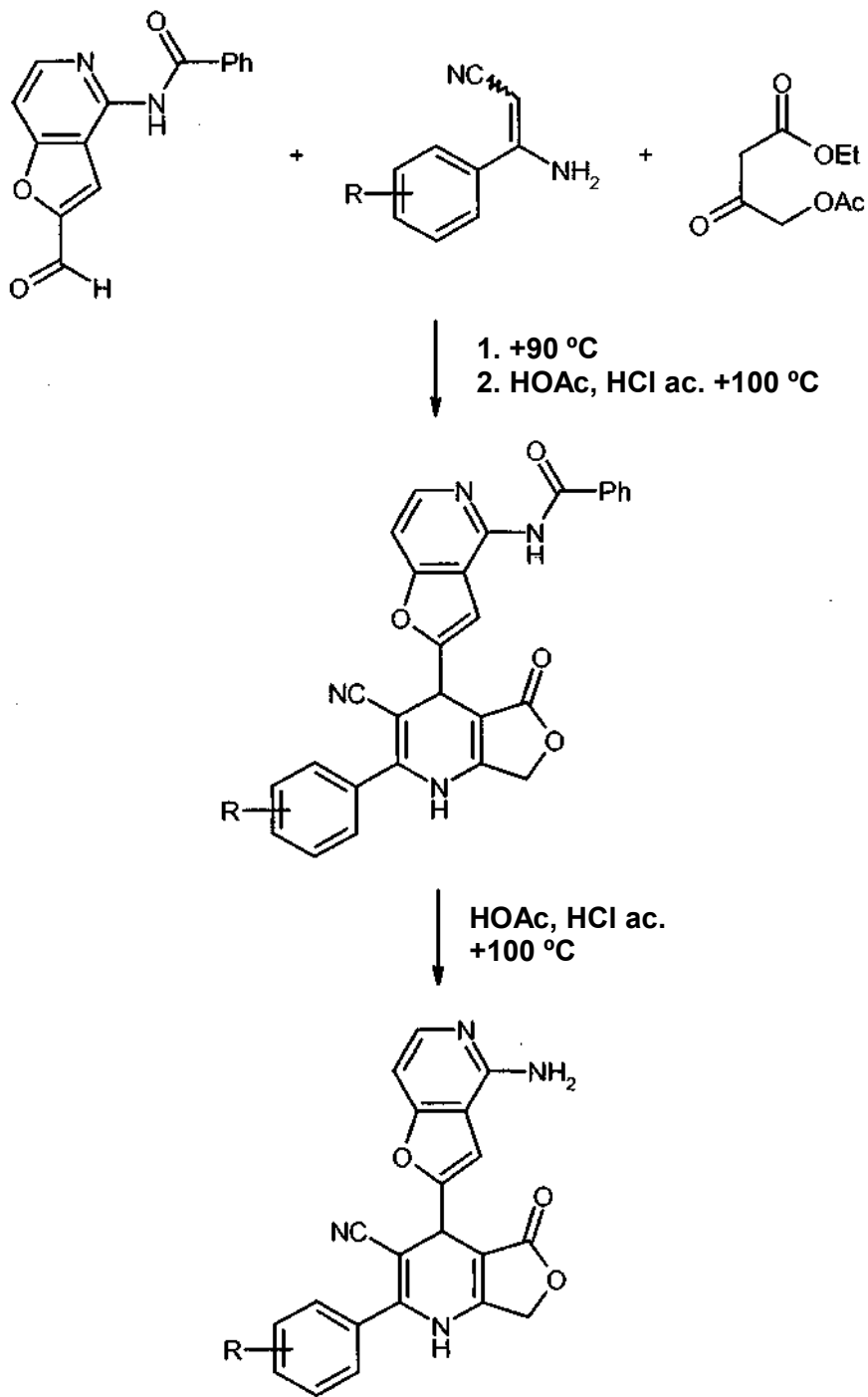
Esquema 2



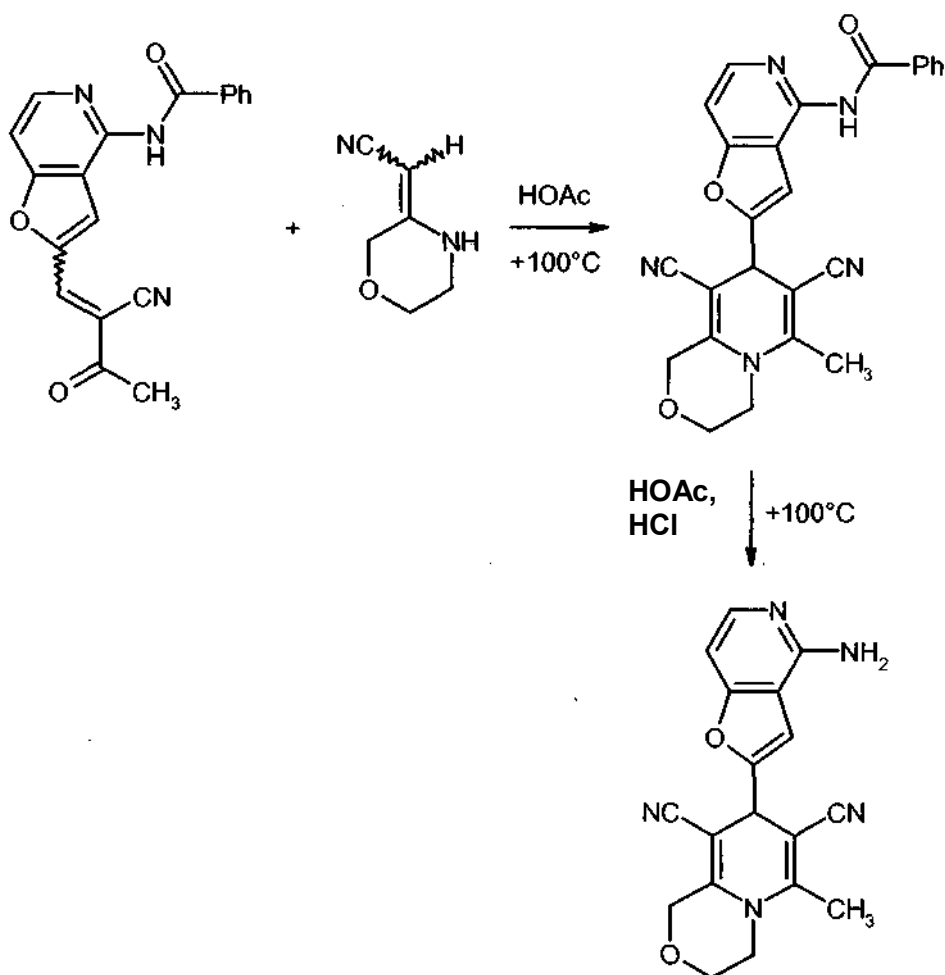
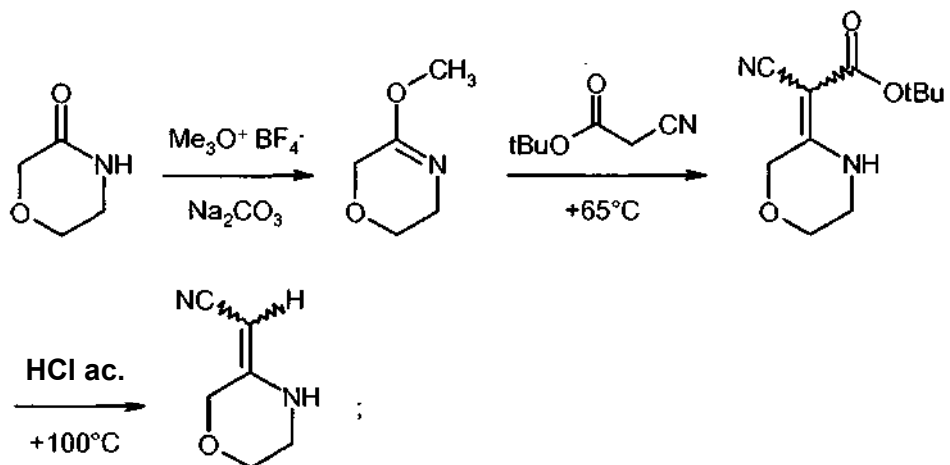
Esquema 3



Esquema 4



Esquema 5



Procedimientos de uso

- 5 Los compuestos de la presente invención se pueden usar para inhibir la actividad o la expresión de tirosina-cinasas receptoras, en particular de la tirosina-cinasa receptora c-Met. Por lo tanto, se espera que los compuestos de fórmula (I) sean valiosos como agentes terapéuticos. En consecuencia, en otro modo de realización, la presente invención proporciona el uso de los compuestos para el tratamiento de trastornos relacionados con, o mediados por la actividad de la cinasa c-Met en un paciente que necesita un tratamiento de este tipo, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente. En determinados
- 10 modos de realización, los trastornos relacionados con la actividad de la cinasa c-Met son trastornos de proliferación

celular, en particular, cáncer.

El término “tratar” o “tratamiento” tal como se indica a lo largo del presente documento, se usa de forma convencional, por ejemplo, la atención o el cuidado de un sujeto con el fin de combatir, aliviar, reducir, mitigar, mejorar el estado de una enfermedad o trastorno, tal como un carcinoma.

- 5 El término “sujeto” o “paciente” incluye organismos susceptibles de padecer un trastorno de proliferación celular o que se podrían beneficiar de otro modo de la administración de un compuesto de la invención, tales como seres humanos y animales no humanos. Los seres humanos preferentes incluyen pacientes humanos que padecen o tienen tendencia a padecer un trastorno de proliferación celular o un estado asociado, como se describe en el presente documento. El término “animales no humanos” incluye vertebrados, por ejemplo, mamíferos, tales como primates no humanos, oveja, vaca, perro, gato y roedores, por ejemplo, ratones y no mamíferos, tales como pollos, anfibios, reptiles, etc.

- 15 La expresión “trastornos relacionados con o mediados por c-Met” incluirá enfermedades asociadas con o que implican la actividad de c-Met, por ejemplo, la hiperactividad de c-Met, y afecciones que acompañan a estas enfermedades. Los ejemplos de “trastornos relacionados con o mediados por c-Met” incluyen trastornos consecuencia de la sobrestimulación de c-Met debida a una cantidad anormalmente alta de c-Met o a mutaciones en c-Met, o trastornos consecuencia de una cantidad anormalmente alta de actividad de c-Met debida a una cantidad anormalmente alta de c-Met o a mutaciones en c-Met.

- 20 El término “hiperactividad de c-Met” se refiere a la expresión de c-Met en células que normalmente no expresan c-Met o a una actividad de c-Met por células que normalmente no poseen c-Met activa o una expresión aumentada de c-Met que da lugar a una proliferación celular no deseada o a mutaciones que dan lugar a una activación constitutiva de c-Met.

- 25 El término “trastornos de proliferación celular” incluye trastornos que implican la proliferación no deseada o incontrolada de una célula. Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar para evitar, inhibir, bloquear, reducir, disminuir, controlar, la proliferación celular y/o la división celular y/o producir la apoptosis. Este procedimiento comprende administrar a un sujeto que lo necesite, incluido un mamífero, incluido un ser humano, una cantidad de un compuesto de la presente invención, o una sal, isómero, polimorfo, metabolito, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo que es eficaz para tratar o evitar el trastorno.

- 30 Los trastornos de proliferación celular o hiperproliferativos en el contexto de la presente invención incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, psoriasis, queloides y otras hiperplasias que afectan a la piel, endometriosis, trastornos del esqueleto, trastornos angiogénicos o proliferativos de los vasos sanguíneos, hipertensión pulmonar, trastornos fibróticos, trastornos proliferativos de células mesangiales, pólipos colónicos, nefropatía poliquística, hiperplasia prostática benigna (BPH) y tumores sólidos, tales como cánceres de mama, de las vías respiratorias, cerebral, de los órganos reproductores, del tubo digestivo, de las vías urinarias, oculares, de hígado, piel, cabeza y cuello, tiroides, paratiroides, y sus metástasis a distancia. Esos trastornos también incluyen linfomas, sarcomas y leucemias.

- 35 Los ejemplos de cáncer de mama incluyen, pero sin limitación, carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, carcinoma ductal *in situ* y carcinoma lobular *in situ*.

Los ejemplos de cánceres de las vías respiratorias incluyen, pero sin limitación, carcinoma de pulmón microcítico y no microcítico, así como adenoma bronquial y blastoma pleuropulmonar.

- 40 Los ejemplos de cánceres cerebrales incluyen, pero sin limitación, glioma del tronco encefálico e hipotalámico, astrocitoma cerebelar y cerebral, glioblastoma, meduloblastoma, ependimoma, así como un tumor neuroectodérmico y un tumor pineal.

Los tumores de los órganos reproductores masculinos incluyen, pero sin limitación, cáncer de próstata y cáncer testicular. Los tumores de los órganos reproductores femeninos incluyen, pero sin limitación, cáncer de endometrio, cáncer de cuello uterino, cáncer ovárico, cáncer vaginal y cáncer de vulva, así como sarcoma del útero.

- 45 Los tumores del tubo digestivo incluyen, pero sin limitación, cánceres anal, de colon, colorrectal, esofágico, de la vesícula biliar, gástrico, pancreático, rectal, del intestino delgado y de las glándulas salivales.

Los tumores de las vías urinarias incluyen, pero sin limitación, cánceres de vejiga, de pene, de riñón, de pelvis renal, de uréter, uretral y cánceres renales papilares esporádicos y hereditarios.

Los cánceres oculares incluyen, pero sin limitación, melanoma intraocular y retinoblastoma.

- 50 Los ejemplos de cánceres de hígado incluyen, pero sin limitación, carcinoma hepatocelular (carcinomas de células hepáticas con o sin variante fibrolamelar), colangiocarcinoma (carcinoma del conducto biliar intrahepático) y colangiocarcinoma hepatocelular mixto.

Los cánceres de piel incluyen, pero sin limitación, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma maligno, cáncer epitelial de células de Merkel y cáncer de piel distinto de melanoma.

Los cánceres de la cabeza y el cuello incluyen, pero sin limitación, cáncer de faringe, hipofaringe, nasofaringe, orofaringe, cáncer de labio y de la cavidad oral y cáncer de células escamosas.

Los linfomas incluyen, pero sin limitación, linfoma relacionado con el SIDA, linfoma no hodgkiniano, linfoma cutáneo de linfocitos T, linfoma de Burkitt, enfermedad de Hodgkin y linfoma del sistema nervioso central.

- 5 Los sarcomas incluyen, pero no se limitan a, sarcoma del tejido blando, osteosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, linfosarcoma y rhabdomioma.

Las leucemias incluyen, pero sin limitación, leucemia mielógena aguda, leucemia linfoblástica crónica, leucemia mielógena crónica y leucemia de células pilosas.

- 10 Los trastornos proliferativos fibróticos, es decir, la formación anómala de matrices extracelulares, que se pueden tratar con los compuestos y procedimientos de la presente invención incluyen fibrosis pulmonar, aterosclerosis, reestenosis, cirrosis hepática y trastornos proliferativos de células mesangiales, incluidas nefropatías tales como glomerulonefritis, nefropatía diabética, nefrosclerosis maligna, síndromes tromboticos microangiopáticos, rechazo de trasplantes y glomerulopatías.

- 15 Otras afecciones en seres humanos u otros mamíferos que se pueden tratar mediante la administración de un compuesto de la presente invención incluyen crecimiento tumoral, retinopatía, incluida la retinopatía diabética, oclusión venosa retinal isquémica, retinopatía de la prematuridad y degeneración macular senil, artritis reumatoide, psoriasis y trastornos ampollosos asociados con la formación de ampollas subepidérmicas, incluido el penfigoide ampolloso, el eritema multiforme y la dermatitis herpetiforme.

- 20 Los compuestos de la presente invención también se pueden usar para evitar y tratar enfermedades de las vías respiratorias y los pulmones, enfermedades del tubo gastrointestinal, así como enfermedades de la vejiga y los conductos biliares.

Los trastornos mencionados anteriormente se han caracterizado bien en seres humanos, pero también existen con una etiología similar en otros animales, incluidos mamíferos, y se pueden tratar administrando las composiciones farmacéuticas de la presente invención.

- 25 Los compuestos de fórmula (I) se pueden administrar como el único agente farmacéutico o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales cuando la combinación no provoque efectos adversos inaceptables. Este tratamiento combinado incluye la administración de una sola formulación de dosificación farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula (I) y uno o más agentes terapéuticos adicionales, así como la administración del compuesto de fórmula (I) y cada agente terapéutico adicional en su formulación de dosificación farmacéutica independiente. Por ejemplo, se puede administrar al paciente un compuesto de fórmula (I) y un agente terapéutico juntos en una sola composición de dosificación oral tal como un comprimido o cápsula, o se puede administrar cada agente en formulaciones de dosificación independientes.
- 30

- 35 Cuando se usan formulaciones de dosificación separadas, el compuesto de fórmula (I) y uno o más agentes terapéuticos adicionales se pueden administrar esencialmente al mismo tiempo (por ejemplo, de forma concurrente) o en momentos tiempos escalonados por separado (por ejemplo, secuencialmente).

- 40 En particular, los compuestos de la presente invención se pueden usar en una combinación fija o por separado con otros agentes antitumorales tales como agentes alquilantes, antimetabolitos, agentes antitumorales de origen vegetal, agentes de tratamiento hormonal, inhibidores de topoisomerasas, derivados de camptotecina, inhibidores de cinasas, fármacos dirigidos, anticuerpos, interferones y/o modificadores de la respuesta biológica, compuestos antiangiogénicos y otros fármacos antitumorales. A este respecto, la siguiente es una lista no limitante de ejemplos de agentes secundarios que se pueden usar en combinación con los compuestos de la presente invención:

- los agentes alquilantes incluyen, pero no se limitan a, mostaza de nitrógeno de *N*-óxido, ciclofosfamida, ifosfamida, tiotepa, ranimustina, nimustina, temozolomida, altretamina, apacicuona, brostalicina, bendamustina, carmustina, estramustina, fotemustina, glufosfamida, mafosfamida, bendamustina y mitolactol; los compuestos alquilantes coordinados de platino incluyen, pero no se limitan a, cisplatino, carboplatino, eptaplatino, lobaplatino, nedaplatino, oxaliplatino y satraplatino;
 - los antimetabolitos incluyen, pero sin limitación, metotrexato, ribósido de 6-mercaptopurina, mercaptopurina, 5-fluorouracilo solo o en combinación con leucovorina, tegafur, doxifluridina, carmofur, citarabina, octofosfato de citarabina, encitabina, gemcitabina, fludarabina, 5-azacitidina, capecitabina, cladribina, clofarabina, decitabina, eflornitina, etinilcitudina, arabinósido de citosina, hidroxurea, melfalán, nelarabina, nolatrexed, ocfosfito, premetrexed disódico, pentostatina, pelitrexol, raltitrexed, triapina, trimetrexato, vidarabina, vincristina y vinorelbina;
 - los agentes de tratamiento hormonal incluyen, pero sin limitación, exemestano, Lupron, anastrozol, doxercalciferol, fadrozol, formestano, inhibidores de la 11-beta hidroxisteroide deshidrogenasa 1, inhibidores de la 17-alfa hidroxilasa/17,20 liasa tales como acetato de abiraterona, inhibidores de la 5-alfa reductasa tales
- 55

- como finasterida y epristerida, antiestrógenos tales como citrato de tamoxifeno y fulvestrant, Trelstar, toremifeno, raloxifeno, lasofoxifeno, letrozol, antiandrógenos tales como bicalutamida, flutamida, mifepristona, nilutamida, Casodex, y agentes antiprogesterona y combinaciones de los mismos;
- 5 • las sustancias antitumorales de origen vegetal incluyen, por ejemplo, las seleccionadas de entre inhibidores mitóticos, por ejemplo, epotilonas tales como sagopilona, ixabepilona y epotilona B, vinblastina, vinflunina, docetaxel y paclitaxel;
 - 10 • los agentes citotóxicos inhibidores de topoisomerasas, pero sin limitación, aclarrubicina, doxorubicina, amonafida, belotecán, camptotecina, 10-hidroxycamptotecina, 9-aminocamptotecina, diflomotecán, irinotecán, topotecán, edotecarina, epimbicina, etopósido, exatecán, gimatecán, lurtotecán, mitoxantrona, pirambicina, pixantrona, rubitecán, sobuzoxano, taflupósido y combinaciones de los mismos;
 - 15 • las sustancias inmunológicas incluyen interferones tales como interferón alfa, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, interferón beta, interferón gamma-1a e interferón gamma-n1, y otros agentes inmunitarios potenciadores tales como la L19-IL2 y otros derivados de la IL2, filgrastim, lentinán, sizofilán, TheraCys, ubenimex, aldesleucina, alemtuzumab, BAM-002, dacarbazina, daclizumab, denileucina, gemtuzumab, ozogamicina, ibritumomab, imiquimod, lenograstim, lentinán, vacuna contra el melanoma (Corixa), molgramostim, sargramostim, tasonermin, teclucina, timalfasina, tositumomab, Vimlizin, epratuzumab, mitumomab, oregovomab, pemtumomab y Provenge;
 - 20 • los modificadores de la respuesta biológica son agentes que modifican los mecanismos de defensa de organismos vivos o respuestas biológicas tales como la supervivencia, el crecimiento o la diferenciación de células de tejidos para dirigirlos para que tengan actividad antitumoral; tales agentes incluyen, por ejemplo, krestin, lentinán, sizofirán, picibanilo, ProMune y ubenimex;
 - 25 • los compuestos antiangiogénicos incluyen, pero no se limitan a, acitretina, aflibercept, angiostatina, aplidina, asentar, axitinib, bevacizumab, brivanib alaninat, cilengtide, combretastatina, endostatina, fenretinida, halofuginona, pazopanib, ranibizumab, rebimastat, recentin, regorafenib, removab, revlimid, sorafenib, escualamina, sunitinib, telatinib, talidomida, ukraina, vatalanib y vitaxina;
 - los anticuerpos incluyen, pero sin limitación, trastuzumab, cetuximab, bevacizumab, rituximab, ticilimumab, ipilimumab, lumiliximab, catumaxomab, atacicept, oregovomab y alemtuzumab;
 - inhibidores de VEGF tales como, por ejemplo, sorafenib, regorafenib, bevacizumab, sunitinib, recentin, axitinib, aflibercept, telatinib, alaninato de brivanib, vatalanib, pazopanib y ranibizumab;
 - 30 • inhibidores de EGFR (HER1) tales como, por ejemplo, cetuximab, panitumumab, vectibix, gefitinib, erlotinib y Zactima;
 - inhibidores de HER2 tales como, por ejemplo, lapatinib, tratuzumab y pertuzumab;
 - inhibidores de mTOR tales como, por ejemplo, temsirolimus, sirolimus/rapamicina y everolimus;
 - inhibidores de c-Met;
 - 35 • inhibidores de PI3K y AKT;
 - inhibidores de CDK tales como roscovitina y flavopiridol;
 - inhibidores de los puntos de control del aparato mitótico y agentes antimitóticos dirigidos tales como inhibidores de PLK, inhibidores de Aurora (p.ej., Hesperadina), inhibidores de la cinasa del punto de control e inhibidores de KSP;
 - 40 • inhibidores de HDAC tales como, por ejemplo, panobinostat, vorinostat, MS275, belinostat y LBH589;
 - inhibidores de HSP90 y HSP70;
 - inhibidores del proteasoma tales como bortezomib y carfilzomib;
 - inhibidores de serina/treonina-cinasas, incluidos inhibidores de MECK e inhibidores de Raf tales como sorafenib;
 - 45 • inhibidores de farnesiltransferasa tales como, por ejemplo, tipifarnib;
 - inhibidores de tirosina-cinasas, incluidos, por ejemplo, dasatinib, nilotibib, regorafenib, bosutinib, sorafenib, bevacizumab, sunitinib, AZD2171, axitinib, aflibercept, telatinib, mesilato de imatinib, alaninato de brivanib, pazopanib, ranibizumab, vatalanib, cetuximab, panitumumab, vectibix, gefitinib, • erlotinib, lapatinib, tratuzumab, pertuzumab e inhibidores de c-Kit;

- agonistas del receptor de vitamina D;
- inhibidores de la proteína Bcl-2 tales como obatoclax, oblimersen sodio y gossypol;
- grupo de 20 antagonistas de receptores de diferenciación tales como, por ejemplo, rituximab;
- inhibidores de reductasa de ribonucleótidos tales como, por ejemplo, gemcitabina;
- 5 • agonistas del receptor 1 de ligando inductor de apoptosis y necrosis tumoral tales como, por ejemplo, mapatumumab;
- antagonistas del receptor de 5-hidroxitriptamina tales como, por ejemplo, rEV598, xaliproden, clorhidrato de palonosetrón, granisetron, Zindol y AB-1001;
- 10 • inhibidores de integrinas que incluyen inhibidores de integrina alfa5-betal tales como, por ejemplo, E7820, JSM 6425, volociximab y endostatina;
- antagonistas de receptor de andrógenos que incluyen, por ejemplo, decanoato de nandrolona, fluoximesterona, Android, Prost-aid, andromustina, bicalutamida, flutamida, apo-ciproterona, apo-flutamida, acetato de clormadiona, Androcur, Tabi, acetato de ciproterona y nilutamida;
- 15 • inhibidores de aromatasas tales como, por ejemplo, anastrozol, letrozol, testolactona, exemestano, aminoglutetimida y formestano;
- inhibidores de metaloproteinasas de la matriz;
- otros agentes antineoplásicos, incluidos, por ejemplo, alitretinoína, ampligen, atrasentán bexaroteno, bortezomib, bosentán, calcitriol, exisulind, fotemustina, ácido ibandrónico, miltefosina, mitoxantrona, l-asparaginasa, procarbazona, dacarbazina, hidroxycarbamida, pegaspargasa, pentostatina, tazaroteno, velcade, nitrato de galio, canfosfamida, darinaparsina y tretinoína.
- 20

En una realización preferida, los compuestos de la presente invención se pueden usar en combinación con quimioterapia (es decir agentes citotóxicos), anti-hormonas y/o terapias marcadas tales como otros inhibidores de quinasa (por ejemplo, inhibidores de EGFR), inhibidores de mTOR e inhibidores de angiogénesis.

25 Los compuestos de la presente invención también se pueden emplear en el tratamiento del cáncer junto con radioterapia y/o intervención quirúrgica.

Además, los compuestos de fórmula (I) se pueden utilizar, como tal o en composiciones, en investigación y diagnóstico, o como estándares de referencia analítica, y que se conocen bien en la técnica.

Composición farmacéutica y procedimientos de tratamiento

30 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto más, la invención proporciona un procedimiento para preparar una composición farmacéutica. El procedimiento incluye la etapa de comprender combinar al menos un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, y llevar la combinación resultante a una forma de administración adecuada.

35 El componente activo de fórmula (I) puede actuar sistémicamente y/o localmente. Con este fin, se puede aplicar de una manera adecuada, por ejemplo, por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, transdérmica, conjuntiva, ótica, o como un implante o endoprótesis vascular.

Para estas vías de aplicación, el componente activo de fórmula (I) se puede administrar en formas de aplicación adecuadas.

40 Las formas de aplicación oral útiles incluyen formas de aplicación que liberan el componente activo rápidamente y/o de forma modificada, tales como, por ejemplo, comprimidos (comprimidos no recubiertos y recubiertos, por ejemplo con un recubrimiento entérico), cápsulas, grageas, gránulos, pellas, polvos, emulsiones, suspensiones, soluciones y aerosoles.

45 La aplicación parenteral se puede llevar a cabo evitando una etapa de absorción (por vía intravenosa, intrarterial, intracardiaca, intraespinal o intralumbar) o con la inclusión de una absorción (por vía intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Las formas de aplicación parenterales útiles incluyen preparaciones de inyección e infusión en forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, liofilizados y polvos estériles.

Las formas adecuadas para otras vías de aplicación incluyen, por ejemplo, formas farmacéuticas inhalatorias (incluidos inhaladores de polvos, nebulizadores), gotas, soluciones o pulverizaciones nasales, comprimidos o

cápsulas para su administración por vía lingual, sublingual o bucal, supositorios, preparaciones óticas y oculares, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas para agitar), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, leche, pastas, polvos espolvoreables, implantes o endoprótesis vasculares.

- 5 En un modo de realización preferente, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente se proporciona en una forma adecuada para su administración oral. En otro modo de realización preferente, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente se proporciona en una forma adecuada para su administración intravenosa.

10 El componente activo de fórmula (I) se puede convertir en las formas de aplicación enumeradas de manera conocida *per se*. Esto se lleva a cabo usando excipientes inertes no tóxicos farmacéuticamente adecuados. Éstos incluyen, entre otros, vehículos (por ejemplo, celulosa microcristalina), disolventes (por ejemplo, polietilenglicoles líquidos), emulsionantes (por ejemplo, dodecilsulfato sódico), agentes dispersantes (por ejemplo, polivinilpirrolidona), biopolímeros sintéticos y naturales (por ejemplo, albúmina), estabilizantes (por ejemplo, antioxidantes tales como ácido ascórbico), colorantes (por ejemplo, pigmentos inorgánicos tales como óxidos de hierro) o correctores de sabor y/u olor.

- 15 En otro modo de realización, la invención proporciona un procedimiento de tratamiento de un trastorno de proliferación celular en un paciente que necesita un tratamiento de este tipo, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente. En determinados modos de realización, el trastorno de proliferación celular es cáncer.

20 En otro aspecto más, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente para fabricar una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de un trastorno de proliferación celular. En determinados modos de realización, el trastorno de proliferación celular es cáncer.

25 Cuando los compuestos de la presente invención se administran como productos farmacéuticos a seres humanos y animales, se pueden dar *per se* o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, del 0,1 al 99,5 % (más preferentemente, del 0,5 al 90 %) de ingrediente activo en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la invención, que se pueden usar en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables por procedimientos convencionales para aquellos expertos en la técnica.

- 30 Se pueden variar los niveles de dosificación reales y el curso temporal de administración de los ingredientes activos de las composiciones farmacéuticas de la invención con el fin de obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente en particular, una composición en particular y un modo de administración en particular, sin que sea tóxica para el paciente. Un intervalo de dosis ejemplar es desde 0,01 hasta 100 mg/kg por día o de 0,1 a 150 mg/kg por día.

- 35 En determinados modos de realización, se puede usar el compuesto de la invención en tratamiento combinado con quimioterápicos contra el cáncer convencionales. Las pautas de tratamiento convencionales para la leucemia y para otros tumores incluyen radiación, fármacos o una combinación de ambos.

40 La determinación de una cantidad antiproliferativa terapéuticamente eficaz o de una cantidad antiproliferativa profilácticamente eficaz de los compuestos de la invención la puede hacer fácilmente el médico o el veterinario (el "clínico encargado del caso"), como experto en la técnica, mediante el uso de técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas. Las dosificaciones se pueden variar en función de los requisitos del paciente a juicio del clínico encargado del caso; de la gravedad de la afección que se está tratando y el compuesto en particular que se emplea. Para determinar la cantidad o dosis antiproliferativa terapéuticamente eficaz y la cantidad o dosis antiproliferativa profilácticamente eficaz, el clínico tiene en cuenta una serie de factores, incluidos, pero sin limitación: el trastorno de proliferación celular específico implicado; las características farmacodinámicas del agente en particular y su modo y vía de administración; el curso temporal de tratamiento deseado; la especie de mamífero; su talla, edad y estado de salud general; la enfermedad específica implicada; el grado o la implicación de la gravedad de la enfermedad; la respuesta del paciente individual; el compuesto administrado en particular; el modo de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; la pauta de dosificación seleccionada; la clase de tratamiento concurrente (es decir, la interacción del compuesto de la invención con otros compuestos terapéuticos coadministrados); y otras circunstancias relevantes.

50 El tratamiento se puede iniciar con dosificaciones menores, que son inferiores a la dosis óptima del compuesto. A partir de ese momento, se puede aumentar la dosificación con incrementos pequeños hasta alcanzar el efecto óptimo en esas circunstancias. Por comodidad, se puede dividir la dosificación diaria total y administrarla en partes durante el día si se desea. Cabe esperar que una cantidad antiproliferativa terapéuticamente eficaz y una cantidad antiproliferativa profilácticamente eficaz de un compuesto de la invención varíen de desde aproximadamente 0,01 miligramos por kilogramo de peso corporal por día (mg/kg/día) hasta aproximadamente 100 mg/kg/día.

5 Una dosis preferente del compuesto de la invención para la presente invención es la máxima que puede tolerar un paciente sin desarrollar efectos secundarios graves. De modo ilustrativo, el compuesto de la presente invención se administra a una dosis de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal o de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal. También se pretende que los intervalos intermedios de los valores enumerados anteriormente formen parte de la invención.

A menos que se indique lo contrario, los porcentajes en las pruebas y ejemplos que figuran a continuación son en peso; las partes son en peso. Todas las proporciones de disolventes, las proporciones de dilución y las concentraciones comunicadas para soluciones líquido/líquido están basadas en volumen.

10 A. Ejemplos

Abreviaturas y Acrónimos:

Ac	acetilo
ac.	acuoso/a (solución)
s. a.	singlete ancho (RMN)
cat.	catalítico
conc.	concentrado
d	doblete (RMN)
IQD	ionización química directa (EM)
dd	doblete de dobletes (RMN)
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	dimetil sulfóxido
DMSO-d ₆	dimetil sulfóxido-d ₆
IE	ionización de impacto electrónico (EM)
equiv.	equivalente(s)
IEP	ionización por electropulverización (EM)
Et	etilo
CG-EM	cromatografía de gases-espectrometría de masas acoplada
h	hora(s)
RMN de ¹ H	espectrometría de resonancia magnética nuclear de protón
HOAc	ácido acético
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución/de alta presión
CL-EM	cromatografía líquida-espectrometría de masas acoplada
m	multiplete (RMN)
Me	metilo
min	minuto(s)
EM	espectrometría de masas
m/z	proporción masa-carga
del t.	del teórico (rendimiento químico)
pH	fenilo
q	cuadruplete (RMN)
R _f	factor de retención de CCF
FI	fase inversa (HPLC)
ta	temperatura ambiente
Tr	tiempo de retención (HPLC)
s	singlete (RMN)
sept	septuplete (RMN)
tBu	<i>tert</i> -butilo
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
CCF	cromatografía en capa fina
t	triplete (RMN)
v/v	proporción volumen-volumen
p/v	proporción peso-volumen
p/p	proporción peso-peso

Procedimientos de CL-EM y CG-EM;Procedimiento 1 (CL-EM):

Instrumento: Micromass ZQ con HPLC Waters Alliance 2795; columna: Phenomenex Synergi 2,5 μ MAX-RP 100A Mercury, 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min 90 % A \rightarrow 0,1 min 90 % A \rightarrow 3,0 min 5 % A \rightarrow 4,0 min 5 % A \rightarrow 4,01 min 90 % A; caudal: 2 ml/min; horno: a 50 °C; detección UV: a 210 nm.

Procedimiento 2 (CL-EM):

Instrumento: Micromass Quattro Premier con HPLC Waters UPLC Acquity; columna: Thermo Hypersil GOLD 1,9 μ , 50 mm x 1 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min 90 % A \rightarrow 0,1 min 90 % A \rightarrow 1,5 min 10 % A \rightarrow 2,2 min 10 % A; horno: a 50 °C; caudal: 0,33 ml/min; detección UV: a 210 nm.

Procedimiento 3 (CL-EM):

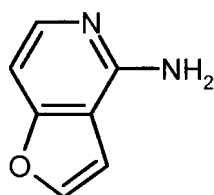
Instrumento: Micromass Quattro Micro con HPLC Agilent 1100 Series; columna: Thermo Hypersil GOLD 3 μ , 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50 %; gradiente: 0,0 min 100 % A \rightarrow 3,0 min 10 % A \rightarrow 4,0 min 10 % A \rightarrow 4,01 min 100 % A (caudal 2,5 ml/min) \rightarrow 5,00 min 100 % A; horno: a 50 °C; caudal: 2 ml/min; detección UV: 210 mn.

Procedimiento 4 (CL-EM):

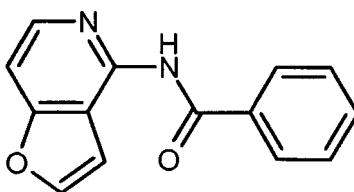
Instrumento: Waters Acquity SQD UPLC System; columna: Waters Acquity UPLC HSS T3 1,8 μ , 50 mm x 1 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,25 ml de ácido fórmico al 99%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,25 ml de ácido fórmico al 99%; gradiente: 0,0 min 90 % A \rightarrow 1,2 min 5 % A \rightarrow 2,0 min 5 % A; horno: a 50 °C; caudal: 0,40 ml/min; detección de UV: 210-400 nm.

Procedimiento 5 (CL-EM):

Instrumento: Micromass GCT, GC 6890; columna: Restek RTX-35, 15 m x 200 μ m x 0,33 μ m; flujo constante con helio: 0,88 ml/min; horno: a 70 °C; entrada: a 250 °C; gradiente: a 70 °C, 30 °C/min \rightarrow 310 °C (mantener durante 3 min).

Materiales de partida e intermedios:**Ejemplo 1A****Furo[3,2-c]piridin-4-amina**

Se suspendieron 65,3 g (425 mmol) de 4-clorofuro[3,2-c]piridina [N.º de registro CAS 31270-80-1] en 600 ml de solución acuosa de amoníaco (35%) en un autoclave. Después de la adición de 2 g de cloruro de cobre(I), la mezcla de reacción se suspendió durante 20 h a 150 °C. Después de enfriar hasta ta, la mezcla se extrajo con diclorometano (3 x 400 ml). Las fases orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida proporcionando 46,6 g (82% del teórico) del producto del epígrafe bruto (contenido >95% por CG) que se usó en la etapa siguiente sin purificación posterior.

Ejemplo 2A**N-(Furo[3,2-c]piridin-4-il)benzamida**

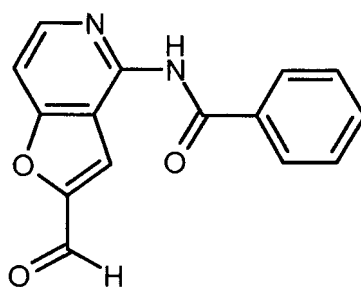
Se disolvieron 42,2 g (315 mmol) de furo[3,2-c]piridin-4-amina (Ejemplo 1A) en 500 ml de piridina seca. Después de la adición de 71,3 g (315 mmol) de anhídrido del ácido benzoico en porciones, la mezcla de reacción se calentó hasta reflujo durante 3 h. Después de enfriar hasta ta, la mezcla se vertió en 5000 ml de agua. El precipitado resultante se separó por filtración, se lavó con agua, y se secó proporcionando 71,3 g (95% del teórico) del compuesto del epígrafe como un sólido color pardusco que se usó en la etapa siguiente sin purificación posterior [véase J.B.M. Rewinkel *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9, 2837-2842 (1999)].

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,67 min; EM (IEPpos): m/z = 239 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,03 (s, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,11-8,02 (m, 3H), 7,63 (m, 1H), 7,60-7,50 (m, 3H), 6,92 (s, 1H) ppm.

10 Ejemplo 3A

N-(2-Formilfuro[3,2-c]piridin-4-il)benzamida



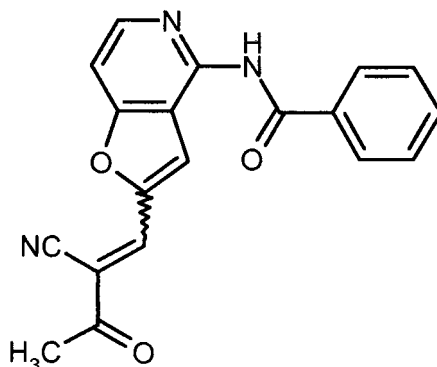
Se disolvieron 7,13 g (30 mmol) de N-(furo[3,2-c]piridin-4-il)benzamida (Ejemplo 2A) en 150 ml de THF seco en atmósfera de gas inerte. A -78 °C, se añadieron 26,4 ml (66 mmol) de solución de N-butil litio (2,5 M in hexano), gota a gota, y la mezcla se suspendió durante 30 min a esta temperatura. A continuación, se añadieron, gota a gota, 5,1 ml (66 mmol) de N,N-dimetilformamida seca. Después de completarse la adición, la mezcla se calentó lentamente hasta ta, y se añadieron 300 ml de solución acuosa saturada de cloruro de amonio. Después de extracción con 300 ml de dietil éter, la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida proporcionando un sólido color pardo. Este material se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyente diclorometano/metanol 99:1 v/v) proporcionando 5,2 g (65% del teórico) del compuesto del epígrafe como un sólido amarillo pálido [véase J.B.M. Rewinkel *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9, 2837-2842 (1999)].

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,80 min; EM (IEPpos): m/z = 267 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,34 (s, 1H), 9,90 (s, 1H), 8,49 (d, 1H), 8,11 (m, 2H), 8,01 (s, 1H), 7,70-7,62 (m, 2H), 7,57 (m, 2H) ppm.

25 Ejemplo 4A

N-{2-(2-Ciano-3-oxobut-1-en-1-il)furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida



Se agitó a reflujo durante 1 h una mezcla de 1,50 g (5,63 mmol) de N-(2-formilfuro[3,2-c]piridin-4-il)benzamida (Ejemplo 3A), 0,65 g (6,2 mmol) de (1Z)-1-cianoprop-1-en-2-olato de sodio, 0,4 ml (7,04 mmol) de ácido acético y 56 μl (0,56 mmol) de piperidina en diclorometano seco (35 ml) que contenía tamices moleculares de 4Å. Después de enfriar, se añadieron 50 ml de solución acuosa de bicarbonato de sodio, y la mezcla se suspendió durante 1 h a ta. El tamiz molecular se separó por filtración, y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se trató con

30

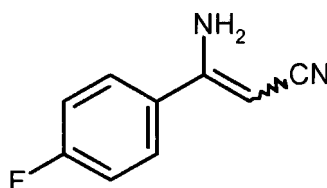
acetato de etilo y solución acuosa saturada de carbonato de sodio. La fase orgánica se separó, se lavó con agua, se secó y se concentró a presión reducida proporcionando el compuesto del epígrafe (1,5 g, 80% del teórico) como un sólido amarillo pálido que se usó en la etapa siguiente sin purificación posterior.

CL-EM (procedimiento 3): Tr = 1,91 min; EM (IEPpos): m/z = 332 (M+H)⁺

- 5 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,34 (s ancho, 1H), 8,47 (d, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,11 (m, 2H), 7,93 (s, 1H), 7,66 (m, 2H), 7,57 (m, 2H), 2,55 (m ancho, 3H) ppm.

Ejemplo 5A

3-Amino-3-(4-fluorofenil)prop-2-enonitrilo

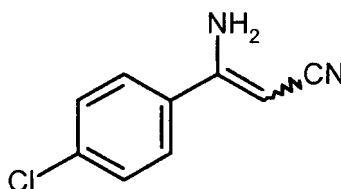


- 10 Una solución de 0,390 ml (2,78 mmol) de diisopropilamina en THF seco (2 ml) se enfrió hasta -70 °C en atmósfera de gas inerte, y se añadieron, gota a gota, 1,74 ml (2,78 mmol) de solución de *N*-butil litio (1,6 M en hexanos). A continuación, se añadió lentamente durante 10 minutos una solución de 129 µl (2,45 mmol) de acetonitrilo en THF seco (2 ml). La solución resultante se suspendió durante otros 30 min a -70 °C antes de añadir una solución de 200 mg (1,635 mmol) de 4-fluorobenzonitrilo en THF seco (2 ml). La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h antes de añadir lentamente agua (4 ml). La mezcla se extrajo varias veces con diclorometano (50 ml). Las fases orgánicas reunidas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida proporcionando 244 mg (92% del teórico) del compuesto del epígrafe bruto que se usó en la etapa siguiente sin purificación posterior.

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,81 min; EM (IEPpos): m/z = 163 (M+H)⁺.

Ejemplo 6A

3-Amino-3-(4-clorofenil)prop-2-enonitrilo

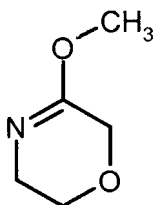


- 25 El compuesto del epígrafe se preparó siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 5A usando 4-clorobenzonitrilo (500 mg, 3,598 mmol) proporcionando 598 mg (93% del teórico) del producto bruto que se usó en la etapa siguiente sin purificación posterior.

CG-EM (procedimiento 5): Tr = 6,38 min; EM (IEpos): m/z = 178 (M)⁺.

Ejemplo 7A

5-Metoxi-3,6-dihidro-2H-1,4-oxazina



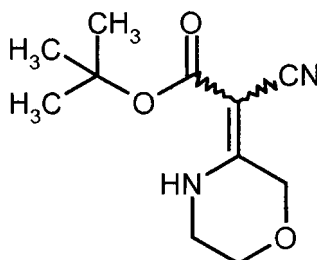
- 30 Una solución de 1,2 g (11,9 mmol) morfolin-3-ona en diclorometano (70 ml) se enfrió hasta 0 °C y se trató con 25 g (238 mmol) de carbonato de sodio seco. Después de agitar durante 10 min a 0 °C, se añadieron a 0 °C 6,14 g (41,5

mmol) de tetrafluoroborato de trimetiloxonio. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 6 h. Se añadió agua (100 ml), y se separó la fase orgánica. La fase acuosa se extrajo varias veces con diclorometano, y las fases orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El producto bruto así obtenido se usó en la etapa siguiente sin purificación posterior.

- 5 CG-EM (procedimiento 5): Tr = 3,36 min; EM (IEPpos): m/z = 116 (M+H)⁺.

Ejemplo 8A

(2E/Z)-Ciano(morfolin-3-iliden)etanoato de *tert*-butilo



- 10 Una mezcla de 0,48 g (4,17 mmol) de 5-metoxi-3,6-dihidro-2H-1,4-oxazina (Ejemplo 7A) y 0,61 g (4,34 mmol) de cianoacetato de *tert*-butilo en THF (25 ml) se agitó a reflujo durante 12 h. La mezcla se enfrió entonces hasta temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, eluyente ciclohexano/acetato de etilo 3:1) proporcionando el compuesto del epígrafe como un sólido blanco (0,269 g, 27% del teórico).

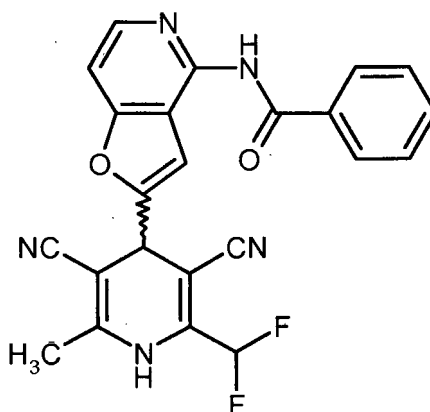
CL-EM (procedimiento 2): Tr = 0,99 min; EM (IEPpos): m/z = 225 (M+H)⁺

- 15 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 10,02 (s ancho, 1H), 4,47 (s, 2H), 3,84 (t, 2H), 3,37 (m, 2H), 1,44 (s, 9H) ppm.

Ejemplos de preparación:

Ejemplo 1

N-{2-[3,5-Diciano-2-(difluorometil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-4-il]furo[3,2-c]piridin-4-il}-benzamida

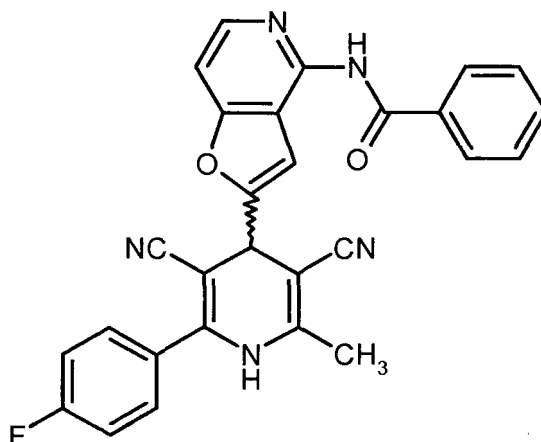


- 20 Una mezcla de 200 mg (0,604 mmol) de N-{2-(2-ciano-3-oxobut-1-en-1-il)furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida (Ejemplo 4A) y 285 mg (2,41 mmol) de 3-amino-4,4-difluorobut-2-enonitrilo [que puede obtenerse por reacción de Thorpe de acetonitrilo con 2,2-difluoroacetonitrilo, véase *Org. React.* 15, 1 (1967), *ibid.* 31, 1 (1984)] en 2-propanol (1 ml) se agitó a reflujo durante 12 h. Después de enfriar, la mezcla se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó directamente por HPLC-FI preparativa (gradiente de acetonitrilo/agua + TFA al 0,1%, mezcla final 90:10 v/v)
- 25 proporcionando 176 mg (67% del teórico) del compuesto del epígrafe racémico.

CL-EM (procedimiento 2): Tr = 0,97 min; EM (IEPpos): m/z = 432 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,40 (s ancho, 1H), 10,37 (s, 1H), 8,36 (d, 1H), 8,08 (m, 2H), 7,72 (m, 1H), 7,67 (m, 1H), 7,57 (m, 2H), 7,12 (s, 1H), 6,87 (t, 1H, ²J_{H,F} = 51,8 Hz), 5,24 (s, 1H), 2,15 (s, 3H) ppm.

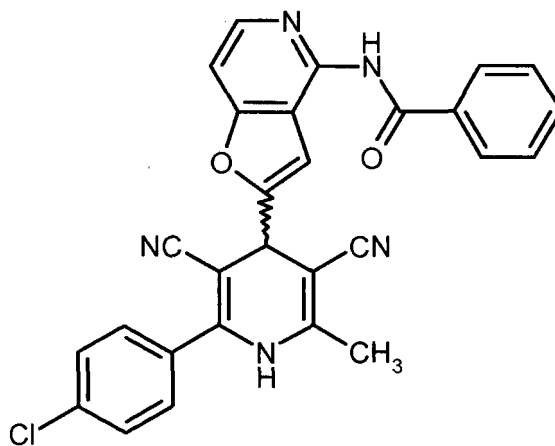
Ejemplo 2

***N*-{2-[3,5-Diciano-2-(4-fluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-4-il]furo[3,2-c]piridin-4-il}-benzamida**

5 Una mezcla de 200 mg (0,604 mmol) de *N*-{2-(2-ciano-3-oxobut-1-en-1-il)furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida (Ejemplo 4A) y 117 mg (0,724 mmol) de 3-amino-3-(4-fluorofenil)prop-2-enonitrilo (Ejemplo 5A) en ácido acético (2 ml) se suspendió durante 30 min a 110 °C. Después de enfriar, la mezcla se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó directamente por HPLC-FI preparativa (gradiente de acetonitrilo/agua + TFA al 0,1%, mezcla final 90:10 v/v) proporcionando 235 mg (82% del teórico) del compuesto del epígrafe racémico.

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,99 min; EM (IEPpos): m/z = 476 (M+H)⁺

10 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,32 (s ancho, 1H), 10,02 (s, 1H), 8,35 (d, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,73-7,62 (m, 4H), 7,57 (m, 2H), 7,45-7,35 (m, 2H), 7,08 (s, 1H), 5,16 (s, 1H), 2,15 (s, 3H) ppm.

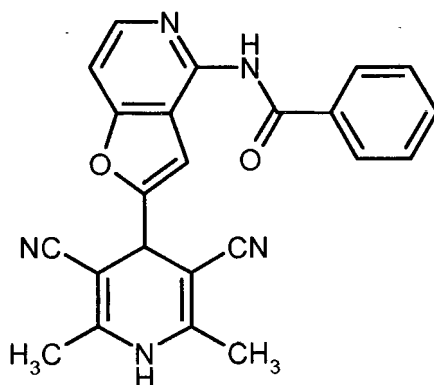
Ejemplo 3***N*-{2-[3,5-Diciano-2-(4-clorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-4-il]furo[3,2-c]piridin-4-il}-benzamida**

15 Una mezcla de 200 mg (0,604 mmol) de *N*-{2-(2-ciano-3-oxobut-1-en-1-il)furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida (Ejemplo 4A) y 129 mg (0,724 mmol) de 3-amino-3-(4-clorofenil)prop-2-enonitrilo (Ejemplo 6A) en ácido acético (2 ml) se suspendió durante 30 min a 110 °C. Después de enfriar, la mezcla se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó directamente por HPLC-FI preparativa (gradiente de acetonitrilo/agua + TFA al 0,1 %, mezcla final 90:10 v/v) proporcionando 197 mg (64% del teórico) del compuesto del epígrafe racémico.

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 1,04 min; EM (IEPpos): m/z = 492 (M+H)⁺

20 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,29 (s ancho, 1H), 10,04 (s, 1H), 8,35 (d, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,73-7,61 (m, 6H), 7,57 (m, 2H), 7,06 (s, 1H), 5,16 (s, 1H), 2,15 (s, 3H) ppm.

Ejemplo 4***N*-{2-(3,5-Diciano-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-4-il)furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida**



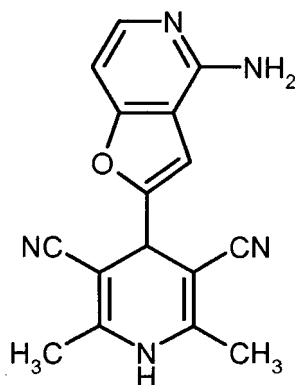
Una mezcla de 69 mg (0,260 mmol) de *N*-(2-fomilfuro[3,2-*c*]piridin-4-il)benzamida (Ejemplo 3A) y 43 mg (0,52 mmol) de (2*Z*)-3-aminobut-2-enonitrilo en ácido acético (4,5 ml) se suspendió durante 45 min a 110 °C. Después de enfriar, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el residuo se trató con acetato de etilo y solución acuosa saturada de carbonato de sodio. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera y agua, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida proporcionando el compuesto del epígrafe (45 mg, 43% del teórico) como un sólido amarillo pálido.

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,84 min; EM (IEPpos): m/z = 396 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,05 (s, 1H), 9,74 (s, 1H), 8,30 (d, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,65-7,50 (m, 4H), 6,80 (s, 1H), 4,94 (s, 1H), 2,07 (s, 6H) ppm.

Ejemplo 5

4-(4-Aminofuro[3,2-*c*]piridin-2-il)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarbonitrilo



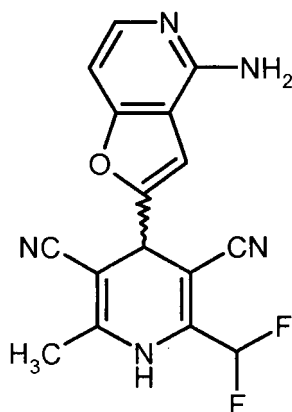
Una solución de 43 mg (0,11 mmol) de *N*-[2-(3,5-diciano-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-4-il)furo[3,2-*c*]piridin-4-il]benzamida (Ejemplo 4) en ácido acético (3 ml) se trató con 0,2 ml de ácido clorhídrico (37%) y se agitó durante 24 h a 100 °C. A continuación, se añadieron otros 0,2 ml de ácido clorhídrico (37%), y se continuó agitando durante 48 h a 100 °C. Después de enfriar, se añadió solución acuosa saturada de carbonato de sodio hasta que se alcanzó un pH neutro. La mezcla se extrajo con acetato de etilo, y la fase orgánica se lavó con salmuera y agua, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El producto bruto se purificó por cromatografía de capa fina preparativa (sílice, eluyente diclorometano/metanol 10:1 v/v) proporcionando el compuesto del epígrafe (5,6 mg, 18% del teórico) como un sólido blanco.

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,54 min; EM (IEPpos): m/z = 292 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9,68 (s, 1H), 7,77 (d, 1H), 6,88 (s, 1H), 6,79 (d, 1H), 6,48 (s, 2H), 4,81 (s, 1H), 2,06 (s, 6H) ppm.

Ejemplo 6

4-(4-Aminofuro[3,2-*c*]piridin-2-il)-2-(difluorometil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarbonitrilo



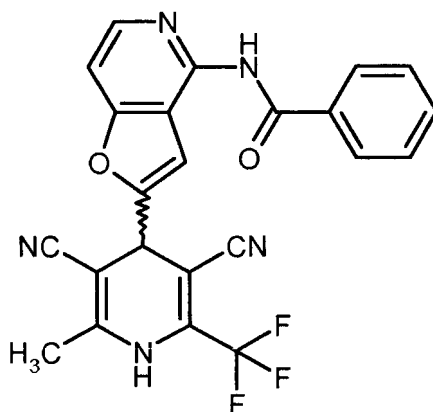
5 El compuesto del epígrafe se preparó a partir de 176 mg (0,41 mmol) de *N*-{2-[3,5-diciano-2-(difluorometil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-4-il]furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida (Ejemplo 1) siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 5 proporcionando 22 mg (16% del teórico) del producto racémico después de purificación por HPLC-FI (gradiente de metanol/agua + TFA al 0,1 %, mezcla final metanol al 100%).

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,56 min; EM (IEPpos): m/z = 328 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 10,28 (s, 1H), 7,79 (d, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,86 (t, 1H, ²J_{H,F} = 51,84 Hz), 6,81 (d, 1H), 6,54 (s ancho, 2H), 5,06 (s, 1H), 2,13 (s, 3H) ppm.

Ejemplo 7

10 ***N*-{2-[3,5-Diciano-2-metil-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropiridin-4-il]furo[3,2-c]piridin-4-il}-benzamida**



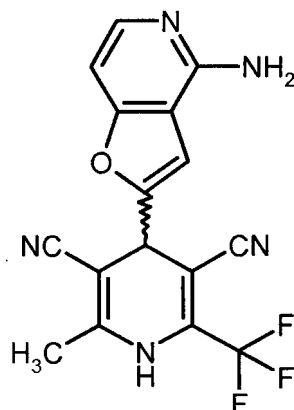
15 Una mezcla de 200 mg (0,604 mmol) de *N*-{2-(2-ciano-3-oxobut-1-en-1-il)furo[3,2-c]piridin-4-il}-benzamida (Ejemplo 4A) y 329 mg (2,41 mmol) de (2*E*)-3-amino-4,4,4-trifluorobut-2-enonitrilo [N.º de registro CAS 33561-24-9; preparada según A.W. Lutz, patente de Estados Unidos 3.635.977 y también C.G. Krespan, J. Org. Chem. 34, 42-45 (1969)] en 2-propanol (1 ml) se agitó a reflujo durante 12 h. Después de enfriar, la mezcla se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó directamente por HPLC-FI preparativa (gradiente de acetonitrilo/agua + TFA al 0,1%, mezcla final 90:10 v/v) proporcionando 171 mg (63% del teórico) del compuesto del epígrafe racémico.

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,95 min; EM (IEPpos): m/z = 450 (M+H)⁺

20 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,29 (s ancho, 1H), 10,59 (s, 1H), 8,36 (d, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,72-7,62 (m, 2H), 7,57 (m, 2H), 7,09 (s, 1H), 5,31 (s, 1H), 2,17 (s, 3H) ppm.

Ejemplo 8

4-(4-Aminofuro[3,2-c]piridin-2-il)-2-metil-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarbonitrilo



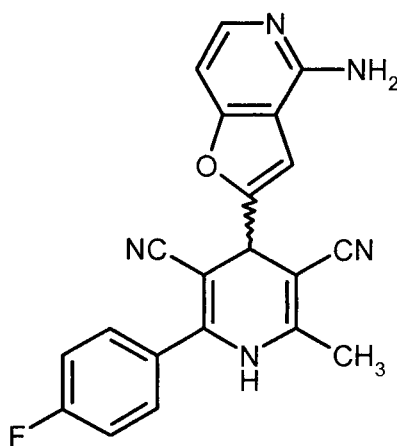
5 El compuesto del epígrafe se preparó a partir de 140 mg (0,31 mmol) de *N*-{2-[3,5-diciano-2-metil-6-(trifluorometil)-1,4-dihidropiridin-4-il]furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida (Ejemplo 7) siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 5, proporcionando 29 mg (27% del teórico) del producto racémico después de purificación por HPLC-FI (gradiente de metanol/agua + TFA al 0,1%, mezcla final metanol al 100%).

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,62 min; EM (IEPpos): m/z - 346 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 10,64 (s ancho, 1H), 7,80 (d, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,84 (d, 1H), 6,64 (s ancho, 2H), 5,15 (s, 1H), 2,15 (s, 3H) ppm.

Ejemplo 9

10 **4-(4-Aminofuro[3,2-c]piridin-2-il)-2-(4-fluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarbonitrilo**



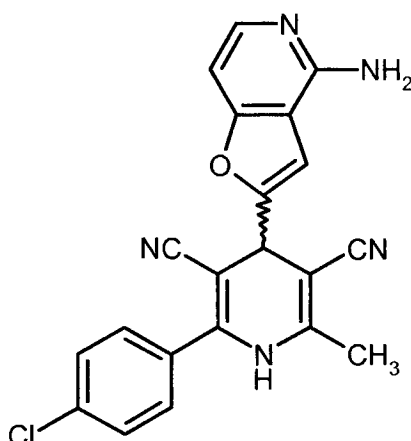
15 El compuesto del epígrafe se preparó a partir de 235 mg (0,494 mmol) de *N*-{2-[3,5-diciano-2-(4-fluorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-4-il]furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida (Ejemplo 2) siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 5, proporcionando 52,4 mg (28% del teórico) del producto racémico después de purificación por HPLC-FI (gradiente de metanol/agua + TFA al 0,1 %, mezcla final metanol al 100%).

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,69 min; EM (IEPpos): m/z = 372 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 9,96 (s, 1H), 7,79 (d, 1H), 7,65 (m, 2H), 7,40 (m, 2H), 7,01 (s, 1H), 6,86 (d, 1H), 6,66 (s ancho, 2H), 4,98 (s, 1H), 2,13 (s, 3H) ppm.

Ejemplo 10

20 **4-(4-Aminofuro[3,2-c]piridin-2-il)-2-(4-clorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarbonitrilo**



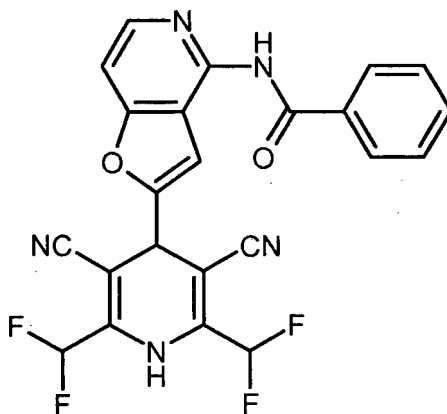
5 El compuesto del epígrafe se preparó a partir de 197 mg (0,40 mmol) de *N*-{2-[3,5-diciano-2-(4-clorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridin-4-il]furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida (Ejemplo 3) siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 5, proporcionando 47 mg (30% del teórico) del producto racémico después de purificación por HPLC-FI (gradiente de metanol/agua + TFA al 0,1 %, mezcla final metanol al 100%).

CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,75 min; EM (IEPpos): m/z = 388 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 10,09 (s, 1H), 8,51 (s ancho, 2H), 7,89 (d, 1H), 7,64 (m, 4H), 7,35 (d, 1H), 7,33 (s, 1H), 5,20 (s, 1H), 2,15 (s, 3H) ppm.

Ejemplo 11

10 ***N*-{2-[3,5-Diciano-2,6-bis(difluorometil)-1,4-dihidropiridin-4-il]furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida**



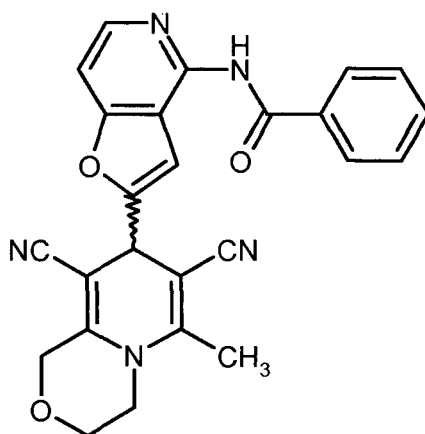
15 Una solución de 200 mg (0,75 mmol) de *N*-(2-formilfuro[3,2-c]piridin-4-il)benzamida (Ejemplo 3A) en ácido acético (1,3 ml) se trató con una solución de 200 mg (1,69 mmol) de 3-amino-4,4-difluorobut-2-enonitrilo [que puede obtenerse por la reacción de Thorpe de acetonitrilo con 2,2-difluoroacetnitrilo, véase *Org. React.* **15**, 1 (1967), *ibid.* **31**, 1 (1984)] en 1-butanol (1,0 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura de reflujo durante 2 h. Después de enfriar, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el residuo se trató con acetato de etilo y solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera y con agua, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC-FI preparativa (gradiente de metanol/agua + TFA al 0,1 %, mezcla final 100% metanol) proporcionando 28 mg (8% del teórico) del compuesto del epígrafe.

20 CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,94 min; EM (IEPpos): m/z = 468 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,29 (s ancho, 1H), 11,02 (s ancho, 1H), 8,36 (d, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,67 (m, 2H), 7,56 (m, 2H), 7,11 (s, 1H), 6,89 (t, 2H), 5,43 (s, 1H) ppm.

Ejemplo 12

25 ***N*-{2-(7,9-Diciano-6-metil-1,3,4,8-tetrahidropirido[2,1-c][1,4]oxazin-8-il)furo[3,2-c]piridin-4-il}benzamida**



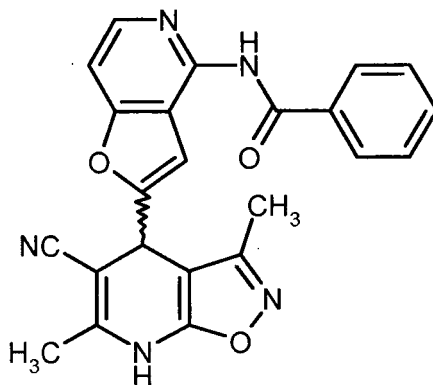
5 Una mezcla de 162 mg (0,724 mmol) (2*E/Z*)-ciano(morfolin-3-ilideno)etanoato de *tert*-butilo (Ejemplo 8A) en ácido clorhídrico 6 M (21 ml) se calentó hasta 100 °C durante 1 h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la solución se concentró a presión reducida, y el sólido que quedó se disolvió en ácido acético (4 ml). Se añadieron 200 mg (0,604 mmol) de *N*-{2-(2-ciano-3-oxobut-1-en-1-il)furo[3,2-*c*]piridin-4-il}benzamida (Ejemplo 4A), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 0,5 h. Después de enfriar, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el residuo se trató con acetato de etilo y solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera y con agua, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC-FI preparativa (gradiente de metanol/agua + TFA al 0,1%, mezcla final metanol al 100%) proporcionando 161 mg (58% del teórico) del compuesto del epígrafe racémico.

10 CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,87 min; EM (IEPpos): m/z = 438 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,30 (s ancho, 1H), 8,34 (d, 1H), 7,66 (m, 2H), 7,57 (m, 2H), 7,00 (s, 1H), 5,07 (s, 1H), 4,63-4,51 (m, 2H), 4,0-3,6 (m, 4H), 2,28 (s, 3H) ppm.

Ejemplo 13

15 ***N*-[2-(5-Ciano-3,6-dimetil-4,7-dihidro[1,2]oxazolo[5,4-*b*]piridin-4-il)furo[3,2-*c*]piridin-4-il]-benzamida**



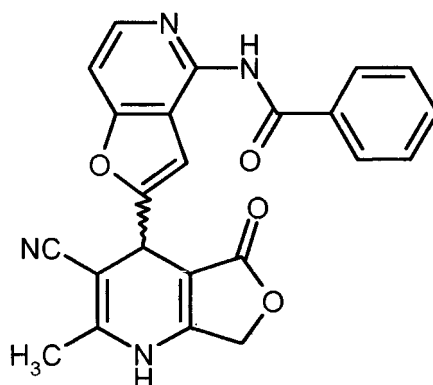
20 Una mezcla de 200 mg (0,604 mmol) de *N*-{2-(2-ciano-3-oxobut-1-en-1-il)furo[3,2-*c*]piridin-4-il}benzamida (Ejemplo 4A), 59 mg (0,604 mmol) de 3-metil-1,2-oxazol-5-amina y una cantidad minúscula de tamices moleculares 4Å en polvo en 2-propanol (2 ml) se agitó a 90 °C durante 12 h. Después de enfriar, la mezcla se concentró a presión reducida, y el residuo se purificó directamente por HPLC-FI preparativa (gradiente de (metanol/agua + TFA al 0,1%, mezcla final metanol al 100%) proporcionando 64 mg (26% del teórico) del compuesto del epígrafe racémico.

CL-EM (procedimiento 3): Tr = 1,68 min; EM (IEPpos): m/z = 412 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,3 (s ancho, 1H), 11,1 (s, 1H), 8,31 (d, 1H), 8,08 (m, 2H), 7,66 (m, 2H), 7,56 (m, 2H), 6,96 (s, 1H), 5,41 (s, 1H), 2,18 (s, 3H), 1,97 (s, 3H) ppm.

25 **Ejemplo 14**

***N*-[2-(3-Ciano-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-*b*]piridin-4-il)furo[3,2-*c*]piridin-4-il]-benzamida**



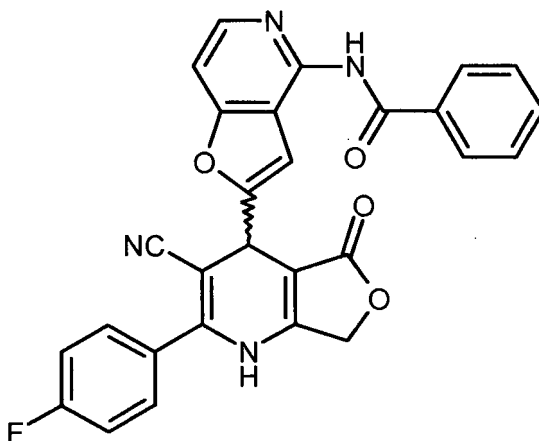
Una solución de 200 mg (0,75 mmol) de *N*-(2-formilfuro[3,2-*c*]piridin-4-il)benzamida (Ejemplo 3A), 85 mg (1,033 mmol) de 3-aminobut-2-enonitrilo y 177 mg (0,939 mmol) de 4-(acetoxi)-3-oxo-butanoato de etilo [Tetrahedron 1978, 34, 1453-1455] en 1-propanol (4 ml) se agitó a 90 °C durante 12 h. A continuación, se añadieron ácido clorhídrico concentrado (185 µl) y agua (560 µl) y se continuó agitando durante 20 min a 100 °C. Después de enfriar, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el residuo se trató con acetato de etilo y solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera y con agua, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por HPLC-FI preparativa (gradiente de metanol/agua + TFA al 0,1 %, mezcla final 100% metanol) proporcionando 96 mg (31% del teórico) del compuesto del epígrafe racémico.

10 CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,74 min; EM (IEPpos): m/z = 413 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,02 (s ancho, 1H), 10,37 (s ancho, 1H), 8,28 (d, 1H), 8,08 (m, 2H), 7,63 (m, 1H), 7,54 (m, 3H), 6,75 (s, 1H), 5,05-4,85 (m, 3H), 2,15 (s, 3H) ppm.

Ejemplo 15

***N*-(2-[3-Ciano-2-(4-fluorofenil)-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-*b*]piridin-4-il]furo[3,2-*c*]piridin-4-il]benzamida**

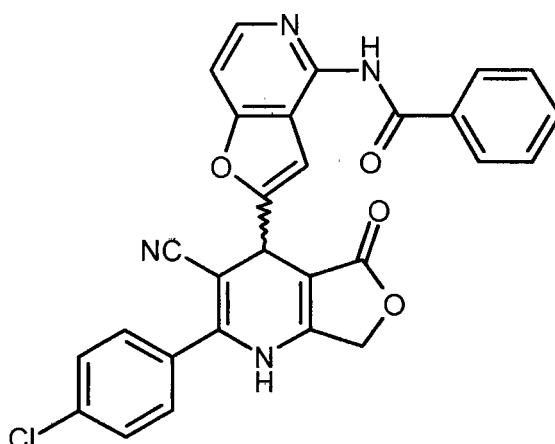


15 El compuesto del epígrafe se preparó a partir de 200 mg (0,75 mmol) de *N*-(2-formilfuro[3,2-*c*]piridin-4-il)-benzamida (Ejemplo 3A), 167 mg (1,033 mmol) de 3-amino-3-(4-fluorofenil)prop-2-enonitrilo (Ejemplo 5A) y 177 mg (0,939 mmol) de 4-(acetoxi)-3-oxobutanoato de etilo [Tetrahedron 1978, 34, 1453-1455] siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 14 proporcionando 193 mg (52% del teórico) del producto racémico después de purificación por HPLC-FI (gradiente de metanol/agua + TFA al 0,1%, mezcla final metanol al 100%).

20 CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,89 min; EM (IEPpos): m/z = 493 (M+H)⁺ RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,33 (s ancho, 1H), 10,33 (s ancho, 1H), 8,33 (d, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,73-7,62 (m, 4H), 7,57 (m, 2H), 7,42 (m, 2H), 7,04 (s, 1H), 5,23 (s, 1H), 5,04-4,92 (m, 2H) ppm.

Ejemplo 16

25 ***N*-(2-[3-Ciano-2-(4-clorofenil)-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-*b*]piridin-4-il]furo[3,2-*c*]piridin-4-il] benzamida**



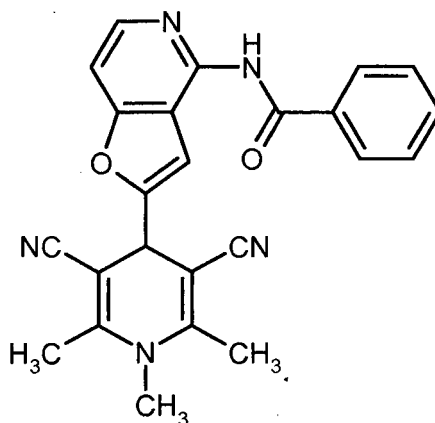
5 El compuesto del epígrafe se preparó a partir de 200 mg (0,75 mmol) de *N*-(2-formilfuro[3,2-*c*]piridin-4-il)-benzamida (Ejemplo 3A), 184 mg (1,033 mmol) de 3-amino-3-(4-clorofenil)prop-2-enonitrilo (Ejemplo 6A) y 177 mg (0,939 mmol) de 4-(acetoxi)-3-oxobutanoato de etilo [Tetrahedron 1978, 34, 1453-1455] siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 14 proporcionando 124 mg (29% del teórico) del producto racémico después de purificación por HPLC-FI (gradiente de metanol/agua + TFA al 0,1 %, mezcla final metanol al 100%).

CL-EM (procedimiento 2): Tr = 1,04 min; EM (IEPpos): m/z = 509 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,33 (s ancho, 1H), 10,66 (s, 1H), 8,33 (d, 1H), 8,08 (m, 2H), 7,70-7,62 (m, 6H), 7,57 (m, 2H), 7,04 (s, 1H), 5,24 (s, 1H), 5,04-4,92 (m, 2H) ppm.

10 Ejemplo 17

N-[2-(3,5-Diciano-1,2 ,6-trimetil-1,4-dihidropiridin-4-il)furo[3,2-*c*]piridin-4-il]benzamida

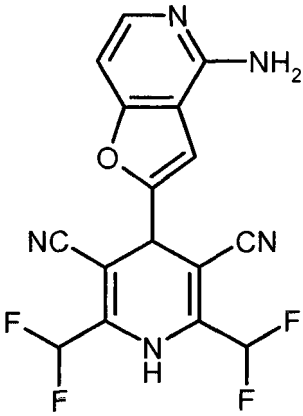
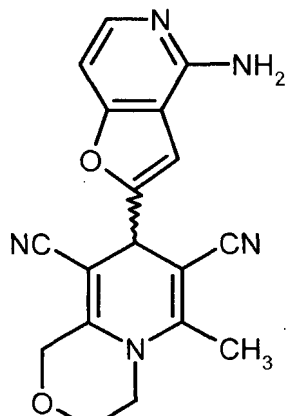
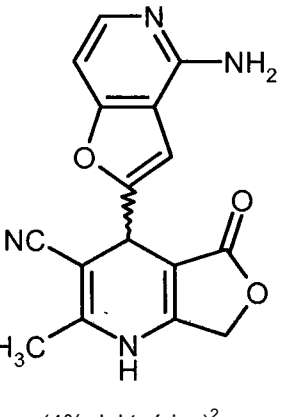


15 Una solución de 100 mg (0,253 mmol) de *N*-[2-(3,5-diciano-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-4-il)furo[3,2-*c*]piridin-4-il]benzamida (Ejemplo 4) en DMF (1,4 ml) se enfrió hasta 0 °C, y se añadieron 99 mg (0,30 mmol) de carbonato de cesio a esta temperatura. Después de agitar durante 30 min, se añadieron, gota a gota a temperatura ambiente, 19 μl (0,30 mmol) de yoduro de metilo, y la mezcla se agitó a ta durante la noche. Después de esto, se añadió más yoduro de metilo (20 μl), y se continuó agitando a ta durante otras 48 h. La mezcla de reacción se filtró a continuación, y el filtrado se purificó directamente por HPLC-FI preparativa (acetonitrilo/agua + TFA al 0,1%, isocrático 40:60 v/v) dando 5,6 mg (5% del teórico) del compuesto del epígrafe.

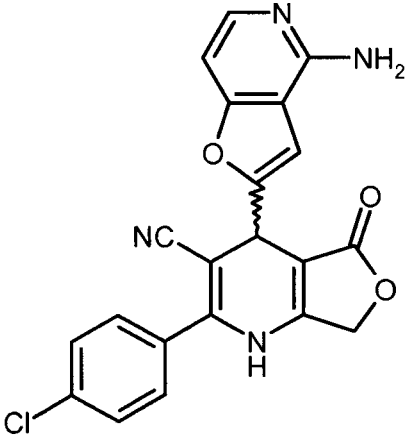
20 CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,72 min; EM (IEPpos): m/z = 410 (M+H)⁺

RMN de ¹H (400 MHz, acetonitrilo-d₃): δ = 8,24 (m, 1H), 8,15 (m, 2H), 8,04 (s ancho, 1H), 7,66 (m, 1H), 7,56 (m, 3H), 7,04 (s, 1H), 4,81 (s, 1H), 4,13 (s, 3H), 2,09 (s, 6H) ppm.

25 Los siguientes compuestos se prepararon a partir de las benzamidas correspondientes (Ejemplos 11, 12, 14 y 16, respectivamente) de forma análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 5; la purificación se llevó a cabo por HPLC-FI preparativa usando un gradiente de acetonitrilo/agua + TFA al 0,1%.

Ejemplo	Nombre / Estructura (rendimiento)	Datos analíticos
18	<p>4-(4-Aminofuro[3,2-c]piridin-2-il)-2,6-bis(difluorometil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarbonitrilo</p>  <p>(3% del teórico)¹</p>	<p>CL-EM (procedimiento 3): Tr = 1,24 min; m/z = 364 (M+H)⁺</p> <p>RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 7,86 (d, 1H), 7,9-7,7 (s ancho, 2H), 7,23 (s, 1H), 7,16 (d, 1H), 6,78 (t, 2H), 5,34 (s, 1H) ppm.</p>
19	<p>8-(4-Aminofuro[3,2-c]piridin-2-il)-6-metil-1,3,4,8-tetrahidropirido[2,1-c]-[1,4]oxazin-7,9-dicarbonitrilo</p>  <p>(18% del teórico)</p>	<p>CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,57 min; m/z = 334 (M+H)⁺</p> <p>RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 8,52 (s ancho, 2H), 7,88 (d, 1H), 7,33 (d, 1H), 7,28 (s, 1H), 5,12 (s, 1H), 4,64-4,48 (m, 2H), 4,0-3,8 (m, 2H), 3,75-3,58 (m, 2H), 2,28 (s, 3H) ppm.</p>
20	<p>4-(4-Aminofuro[3,2-c]piridin-2-il)-2-metil-5-oxo-1,4,5,7-tetrahidrofuro[3,4-b]piridin-3-carbonitrilo</p>  <p>(4% del teórico)²</p>	<p>CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,35 min; m/z = 309 (M+H)⁺</p> <p>RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 10,32 (s, 1H), 7,74 (d, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,75 (d, 1H), 6,45 (s, 2H), 4,92 (m, 2H), 4,88 (s, 1H), 2,13 (s, 3H) ppm.</p>

(continuación)

21	<p>4-(4-Aminofuro[3,2-c]piridin-2-il)-2-(4-clorofenil)-5-oxo-1,4,5,7-tetra-hidrofuro[3,4-b]piridin-3-carbonitrilo</p>  <p>(10% del teórico)</p>	<p>CL-EM (procedimiento 4): Tr = 0,70 min; m/z = 405 (M+H)⁺</p> <p>RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 10,69 (s, 1H), 8,50 (s ancho, 2H), 7,87 (d, 1H), 7,65 (m, 4H), 7,33 (d, 1H), 7,31 (s, 1H), 5,30 (s, 1H), 4,98 (m, 2H) ppm.</p>
<p>¹) después de posterior purificación por HPLC-FI preparativa [columna: Sunfire C18, 5 μm, 19 mm x 150 mm; eluyente: agua/metanol/amoniaco acuoso al 1%, isocrático 56:30:14 v/v/v; caudal: 25 ml/min; temperatura: 40 °C; detección UV: 210 nm].</p> <p>²) después de posterior purificación por cromatografía de capa fina preparativa (gel de sílice; eluyente: diclorometano/metanol + trietilamina al 0,1% 10:1 v/v).</p>		

B. Evaluación de la actividad biológica

- 5 Se puede llevar a cabo la demostración de la actividad de los compuestos de la presente invención por medio de ensayos *in vitro*, *ex vivo*, e *in vivo* bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, para demostrar la actividad de los compuestos de la presente invención, se pueden usar los siguientes ensayos.

Ensayo de actividad de la tirosina-cinasa receptora c-Met (lectura de NADH):

- 10 Se usa proteína c-Met humana recombinante (Invitrogen, Carlsbad, California, Estados Unidos). Como sustrato para la reacción de la cinasa se usa el péptido KKKSPGEYVNIEFG (JPT, Alemania). Para el ensayo, se pipetea 1 μl de una solución del compuesto de prueba en DMSO concentrada 51 veces en una placa de microvaloración blanca de 384 pocillos (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Alemania). Se añaden 25 μl de una solución de c-Met (concentración final de 30 nM) y piruvato cinasa/lactato deshidrogenasa (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania; concentración final de 8 mg/l) en tampón de ensayo [ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (MOPS) 50 mM a pH 7; MgCl₂ 10 mM; seroalbúmina bovina (BSA) al 0,01 %; Tritón X 100 al 0,01 %; DTT 2 mM] y se incuba la mezcla durante 5 minutos a
- 15 temperatura ambiente. Después, se da comienzo a la reacción de la cinasa mediante la adición de 25 μl de una solución de trifosfato de adenosina (ATP, concentración final de 30 μM), sustrato (concentración final de 100 μM), dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH, concentración final de 50 μM) y ditiotreitól (DTT, concentración final de 2 mM) en tampón de ensayo y se incuba la mezcla resultante durante un tiempo de reacción de 100 min a 32 °C.

- 20 Posteriormente, se evalúa la cantidad de sustrato fosforilado con la medida de la disminución de la fluorescencia del NADH. Por lo tanto, se miden las emisiones de fluorescencia a 465 nm después de la excitación a 340 nm en un lector de fluorescencia, por ejemplo, un Tecan Ultra (Tecan, Männedorf, Suiza). Se normalizan los datos (reacción de la enzima sin inhibidor = 0 % de inhibición; todos los demás componentes del ensayo sin la enzima = 100 % de inhibición). Normalmente, se prueban los compuestos de prueba en la misma placa de microvaloración a 9 concentraciones diferentes en el intervalo de 10 μM a 1 nM (10 μM, 3,1 μM, 1,0 μM, 0,3 μM, 0,1 μM, 0,03 μM, 0,01 μM, 0,003 μM, 0,001 μM; las series de dilución se preparan antes del ensayo al nivel de las soluciones madre concentradas 51 veces por diluciones seriadas 1:3) por duplicado para cada concentración y se calculan los valores de CI₅₀ usando un programa informático desarrollado en la propia organización.

Al probarlos en este ensayo, los compuestos de la invención demostraron la capacidad de inhibir la actividad tirosina-cinasa de c-Met a valores de CI₅₀ de menos de 10 μM, preferentemente a menos de 1 μM.

- 30 En la tabla siguiente se enumeran algunos valores de CI₅₀ representativos:

N.º de ejemplo	CI ₅₀ [µM]
5	0,023
6	0,037
10	0,043
14	0,142
19	0,61
21	0,26

Ensayo de fluorescencia de resolución temporal homogénea de la actividad de la tirosina-cinasa receptora c-Met (formato alternativo):

5 Se usa el dominio cinasa recombinante de c-Met humana marcado con His6 en el extremo N-terminal (aminoácidos 960-1390) expresado en células de insectos (SF21) y purificado por cromatografía de afinidad Ni-NTA y cromatografía de exclusión por tamaño (Superdex 200) consecutiva. De forma alternativa, se puede usar c-Met disponible comercialmente (Millipore). Como sustrato para la reacción de quinasa, se usa copolímero de poli-Glu biotinilada, Tyr (4:1) (n.º 61GT0BLC, Cis Biointernational, Marcoule, Francia).

10 Para el ensayo, se añaden mediante pipeta 50 nl de una solución concentrada 100 veces del compuesto de prueba en DMSO dentro de una placa de microvaloración de 384 pocillos de volumen bajo negra (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Alemania). Se añaden 2 µl de una solución de c-Met en tampón de ensayo [Hepes 25 mM/NaOH, pH 7,5; MgCl₂ 5 mM; MnCl₂ 5 mM; ditiotreitól 2 mM; Tween 20 al 0,1% (v/v) (Sigma); seroalbúmina bovina al 0,1% (p/v)], y la mezcla se incuba durante 15 min a 22 °C proporcionando pre-unión del compuesto de prueba a la enzima antes del comienzo de la reacción de quinasa. Después, se da comienzo a la reacción de la cinasa mediante la adición de 3 µl de una solución de trifosfato de adenosina (ATP, 16,7 µM; la concentración final en el volumen de ensayo de 5 µl es de 10 µM) y sustrato (2,27 µg/ml, la concentración final en el volumen de ensayo de 5 µl es de 1,36 µg/ml ~30 nM) en tampón de ensayo y se incuba la mezcla resultante durante un tiempo de reacción de 30 min a 22 °C. La concentración de c-Met en el ensayo se ajusta en función de la actividad del lote de enzima y se elige de forma apropiada para que el ensayo se encuentre en el intervalo lineal; las concentraciones de enzima típicas están en el intervalo de aproximadamente 0,03 nM (concentración final en el volumen de ensayo de 5 µl). La reacción se detiene mediante la adición de 5 µl de una solución de reactivos de detección de HTRF [estreptavidina-XLent 40 nM y quelato PT66-Eu 2,4 nM, un anticuerpo antifosfotirosina marcado con quelato de europio (Perkin-Elmer)] en una solución acuosa de EDTA [EDTA 100 mM, seroalbúmina bovina al 0,2 % (p/v) en HEPES 50 mM/NaOH, pH 7,5].

25 La mezcla resultante se incuba durante 1 hora a 22°C proporcionando la unión del péptido fosforilado biotinilado a la estreptavidina-XLent y al quelato PT66-Eu. Posteriormente, se evalúa la cantidad de sustrato fosforilado con la medida de la transferencia de energía de resonancia desde el quelato PT66-Eu a la estreptavidina-XLent. Por lo tanto, se miden las emisiones de fluorescencia a 620 nm y a 665 nm después de la excitación a 350 nm en un lector de HTRF, por ejemplo, un Rubystar (BMG Lab-technologies, Offenburg, Alemania) o un Viewlux (Perkin-Elmer). La proporción de las emisiones a 665 nm y a 622 nm se toma como la medida para la cantidad de sustrato fosforilado. Se normalizan los datos (reacción de la enzima sin inhibidor = 0 % de inhibición; todos los demás componentes del ensayo sin la enzima = 100 % de inhibición). Normalmente, se prueban los compuestos de prueba en la misma placa de microvaloración a 10 concentraciones diferentes en el intervalo de 20 µM a 1 nM (20 µM, 6,7 µM, 2,2 µM, 0,74 µM, 0,25 µM, 82 nM, 27 nM, 9,2 nM, 3,1 nM y 1 nM; las series de dilución se preparan antes del ensayo al nivel de las soluciones madre concentradas 100 veces por diluciones seriadas 1:3) por duplicado para cada concentración y se calculan los valores de CI₅₀ mediante un ajuste de 4 parámetros usando un programa informático desarrollado en la propia organización.

Al probarlos en este ensayo, los compuestos de la invención demostraron la capacidad de inhibir la actividad tirosina-cinasa de c-Met a valores de CI₅₀ de menos de 10 µM, preferentemente a menos de 1 µM.

En la tabla siguiente se enumeran algunos valores de CI₅₀ representativos:

N.º de ejemplo	CI ₅₀ [µM]
6	0,057
18	1,03

40

Ensayo de fosfo-c-Met:

Se trata de un ensayo de tipo ELISA basado en células [Meso Scale Discovery (MSD), Gaithersburg, MD, Estados

Unidos] usando células tumorales MKN-45 (carcinoma gástrico, adquiridas de la ATCC) sin estimulación de factores de crecimiento. Se cultivan en placa las células en medio de crecimiento completo (10.000 células/pocillo) en placas de 96 pocillos en el día uno. En el día dos, después de un tratamiento de dos horas con fármacos en medio sin suero, se lavan las células y después se lisan (60 µl/pocillo usando tampón de lisis recomendado de MSD) y se congelan a -80 °C. También en el día dos, se bloquean los sitios de unión a anticuerpo inespecíficos en las placas de fosfo-Met de MSD con solución de bloqueo A de MSD durante la noche a 4 °C. En el día tres, se descongelan los lisados sobre hielo y se transfieren 25 µl de lisado a la placa de fosfo-Met de MSD, durante 1 hora con agitación, después de lavar una vez con solución salina tamponada con Tris + Tween 20 al 0,05 % (TBST). Después de eliminar las proteínas no unidas, el anticuerpo anti-Met Sulfa-TAG de MSD se añade a una concentración final de 5 nM en tampón de dilución de anticuerpo (tras protocolo de MSD) a la placa durante 1 hora con agitación. Después, se lava la placa con tampón TBST tres veces antes de añadir tampón de lectura de MSD 1x. Después, se lee la placa en el instrumento de MSD Discovery Workstation. Se introducen los datos en bruto, incluidos los de los pocillos con 10 µM de un compuesto de referencia (señal mínima) y los de los pocillos con DMSO sin tratamiento farmacológico (señal máxima) en el programa Analyze 5 para la determinación de los valores de CI₅₀.

15 Ensayo celular fosfo-c-Met:

Las células de adenocarcinoma gástrico humano (MKN45, adquiridas de ATCC) sembradas en placas de microvaloración de 384-pocillos (9000 células/pocillo) se incubaron en 25 µl de medios de crecimiento completos durante 24 h a 37 °C con CO₂ al 5%. En el día dos, después de un tratamiento de dos horas con fármacos en medio con disminución de suero que contiene FCS al 0,1 %, se lavan las células y se lisan. Se transfieren los lisados a placas bloqueadas con BSA con anticuerpo de captura de c-Met preunido [adquirido de Mesoscale Discovery (MSD), Gaithersburg, MD, Estados Unidos] durante 1 hora con agitación, después de lavar una vez con solución salina tamponada con Tris + Tween 20 al 0,05 % (TBST). Siguiendo el protocolo de MSD, el anticuerpo de detección de anti-fosfo-c-Met Sulfa-TAG se añade a una concentración final de 5 nM en tampón de dilución de anticuerpos a la placa durante 1 hora con agitación a ta. Después de lavar los pocillos con tampón Tris, se añade tampón de lectura 1x y se miden las placas en el Sector Imager 6000 (adquirido de Mesoscale). Se calculan los valores de CI₅₀ a partir de curvas de respuesta a dosis usando el ajuste de Marquardt-Levenberg.

Ensayo de proliferación de células tumorales *in vitro*:

El ensayo de proliferación de células tumorales adherentes usado para probar los compuestos de la presente invención implica una lectura llamada Cell Titre-Glo desarrollada por Promega [B.A. Cunningham, "A Growing Issue: Cell Proliferation Assays. Modern kits ease quantification of cell growth", *The Scientist* 2001, 15 (13), 26; S.P. Crouch *et al.*, "The use of ATP bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity", *Journal of Immunological Methods* 1993, 160, 81-88]. La generación de una señal luminiscente corresponde a la cantidad de ATP presente, que es directamente proporcional al número de células metabólicamente activas (que proliferan).

Se cultivan en placa células H460 (de carcinoma pulmonar, adquiridas de la ATCC) en placas de 96 pocillos a 3000 células/pocillo en medio completo con suero bovino fetal al 10 % y se incuban 24 horas a 37 °C. Veinticuatro horas después de sembrar en placas, se añaden los compuestos de prueba abarcando un intervalo de concentraciones finales de 10 nM a 20 µM en diluciones seriadas a una concentración final de DMSO del 0,2 %. Se incuban las células durante 72 horas a 37 °C en medio de cultivo completo después de la adición del compuesto de prueba. En el día 4, usando un kit de ensayo Cell Titre-Glo Luminescent[®] de Promega, se lisan las células y se les añaden 100 µl de mezcla de sustrato/tampón a cada pocillo, se mezclan y se incuban a temperatura ambiente durante 8 minutos. Se leen las muestras en un luminómetro para medir la cantidad de ATP presente en los lisados celulares de cada pocillo, que corresponde al número de células viables en ese pocillo. Se restan los valores leídos a las 24 horas de incubación como día 0. Para la determinación de los valores de CI₅₀, se puede usar un análisis de regresión lineal para determinar la concentración de fármaco que da lugar a una inhibición del 50 % de la proliferación celular usando este formato de ensayo. Este protocolo se puede aplicar a diferentes líneas celulares de interés, incluidas, pero sin limitación, CAKI-1, MNK-45, GTL-16, HCC2998, K562, H441, K812, MEG01, SUP15 y HCT116.

C. Ejemplos relativos a composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención se pueden ilustrar como sigue:

Solución i.v. estéril:

50 Se puede preparar una solución de 5 mg/ml del compuesto de la presente invención deseado usando agua estéril para inyectables y se ajusta el pH si es necesario. Para su administración, la solución se diluye a 1-2 mg/ml con dextrosa estéril al 5 % y se administra como una infusión i.v. durante aproximadamente 60 minutos.

Polvo liofilizado para administración i.v.:

55 Se puede preparar una preparación estéril con (i) 100-1000 mg del compuesto de la presente invención deseado como un polvo liofilizado, (ii) 32-327 mg/ml de citrato de sodio y (iii) 300-3000 mg de dextrano 40. La formulación se reconstituye con solución salina estéril para inyectables o dextrosa al 5 % hasta una concentración de 10 a 20 mg/ml, que se diluye adicionalmente con solución salina o dextrosa al 5 % hasta de 0,2 a 0,4 mg/ml, y se administra

como una inyección i.v. rápida o por infusión i.v. durante 15-60 minutos.

Suspensión intramuscular:

Para inyección intramuscular se puede preparar la siguiente solución o suspensión:

- 5 50 mg/ml del compuesto insoluble en agua deseado de la presente invención; 5 mg/ml de carboximetilcelulosa de sodio;
4 mg/ml de TWEEN 80; 9 mg/ml de cloruro de sodio; 9 mg/ml de alcohol bencílico.

Cápsulas de cubierta dura:

- 10 Se preparan gran cantidad de cápsulas unitarias rellenando cápsulas de gelatina dura de dos piezas ordinarias con 100 mg de ingrediente activo en polvo, 150 mg de lactosa, 50 mg de celulosa y 6 mg de estearato de magnesio cada una.

Cápsulas de gelatina blanda:

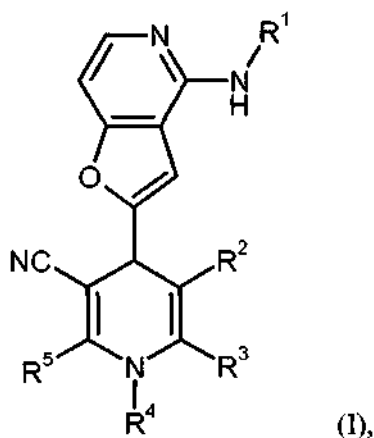
- 15 Se prepara una mezcla de ingrediente activo en un aceite digerible tal como aceite de soja, aceite de semilla de algodón o aceite de oliva y se inyecta por medio de una bomba de desplazamiento positivo en gelatina fundida para formar cápsulas de gelatina blanda que contienen 100 mg de ingrediente activo. Las cápsulas se lavan y secan. El ingrediente activo se puede disolver en una mezcla de polietilenglicol, glicerina y sorbitol para preparar una mezcla medicamentosa miscible en agua.

Comprimidos:

- 20 Se preparan gran cantidad de comprimidos por procedimientos ordinarios, de modo que la unidad de dosificación es de 100 mg de ingrediente activo, 0,2 mg de dióxido de silicio coloidal, 5 mg de estearato de magnesio, 275 mg de celulosa microcristalina, 11 mg de almidón y 98,8 mg de lactosa. Se pueden aplicar recubrimientos acuosos y no acuosos apropiados para aumentar su sabor agradable, mejorar su aspecto y estabilidad o retardar su absorción.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



en la que

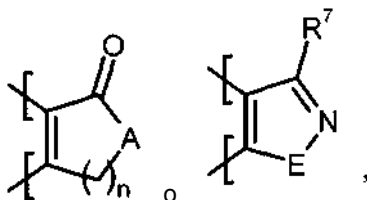
5 R¹ es hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), alquil (C₁-C₆)-carbonilo, bencilo o benzoilo, en los que la porción fenilo de dichos grupos bencilo y benzoilo, respectivamente, puede estar sustituida con uno o dos restos seleccionados independientemente del grupo que consiste en fluoro, cloro, bromo, ciano, metilo, difluorometilo, trifluorometilo, etilo, metoxi, difluorometoxi y trifluorometoxi,

R² es ciano,

10 R³ es alquilo (C₁-C₄) opcionalmente sustituido con hasta tres átomos de fluoro,

o

R² y R³ están unidos y, tomados junto con los átomos de carbono a los que están ligados, forman un anillo de condensado de fórmula



15 en las que

n es un número entero de 1 o 2,

A es -CH₂-, -O- o -NR⁶-, en el que

R⁶ es hidrógeno o alquilo (C₁-C₄),

E es -O-, -NH- o -NCH₃- ,

20 y

R⁷ es hidrógeno o metilo,

R⁴ es hidrógeno, alquilo (C₁-C₄) o ciclopropilo,

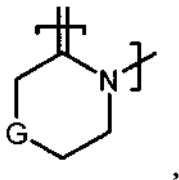
R⁵ es alquilo (C₁-C₆) opcionalmente sustituido con hasta tres átomos de fluoro,

o

25 es fenilo o piridilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido con uno o dos restos seleccionados de forma independiente del grupo que consiste en fluoro, cloro, bromo, ciano, metilo, difluorometilo, trifluorometilo, etilo, metoxi, difluorometoxi y trifluorometoxi,

o

R⁴ y R⁵ están unidos y, tomados junto con el átomo de nitrógeno y de carbono a los que están ligados, forman un anillo de condensado de la fórmula



5 en la que

G es -CH₂- o -O-.

o una sal, hidrato y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, en el que

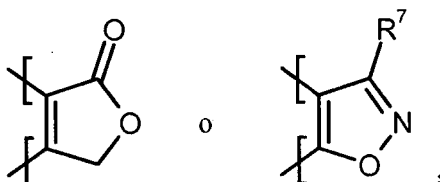
R¹ es hidrógeno, metilo, acetilo o benzoilo,

10 R² es ciano

R³ es metilo, difluorometilo o trifluorometilo,

o

R² y R³ están unidos y, tomados junto con los átomos de carbono a los que están ligados, forman un anillo condensado de la fórmula



15

en la que

R⁷ es hidrógeno o metilo,

R⁴ es hidrógeno o metilo,

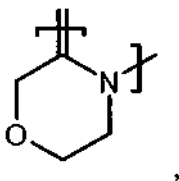
R⁵ es alquilo (C₁-C₄) opcionalmente sustituido con hasta tres átomos de fluro,

20 o

es fenilo opcionalmente sustituido con uno o dos restos seleccionados independientemente del grupo que consiste en floro, cloro, metilo y trifluorometilo,

o

25 R⁴ y R⁵ están unidos y, tomados junto con el átomo de nitrógeno y el átomo de carbono a los que están ligados, forman un anillo de morfolina condensado de la fórmula



o una sal, hidrato y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que

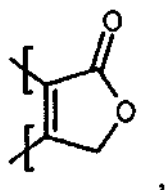
R¹ es hidrógeno o benzoilo,

R² es ciano

R³ es metilo, difluorometilo o trifluorometilo,

o

- 5 R² y R³ están unidos y, tomados junto con los átomos de carbono a los que están ligados, forman un anillo de lactona condensado de la fórmula

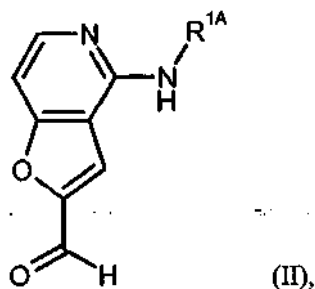


R⁴ es hidrógeno;

y

- 10 R⁵ es metilo, difluorometilo o trifluorometilo, o es fenilo opcionalmente sustituido con fluoro o cloro, o una sal, hidrato y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (I) como se define en las reivindicaciones 1 a 3, en la R⁴ es hidrógeno y R¹ representa hidrógeno, alquil (C₁-C₆)-carbonilo o benzoilo opcionalmente sustituido, **caracterizado porque** un furopiridinil aldehído de fórmula (II)



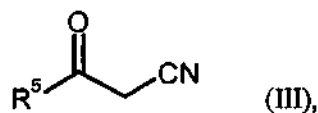
15

en la que

R^{1A} representa alquil (C₁-C₆)-carbonilo o benzoilo opcionalmente sustituido como se define para R¹ en las reivindicaciones 1 a 3,

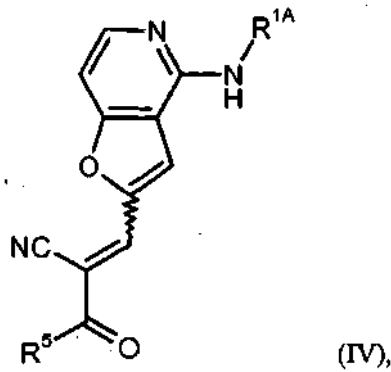
se hace reaccionar, bien

- 20 [A] con una cianocetona de fórmula (III)

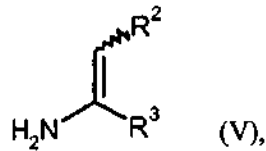


o con un enolato de sodio de la misma, en el que R⁵ tiene el significado definido en las reivindicaciones 1 a 3,

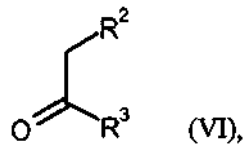
en presencia de un ácido, una combinación ácido/base y/o un agente deshidratante, para dar un compuesto de fórmula (IV))



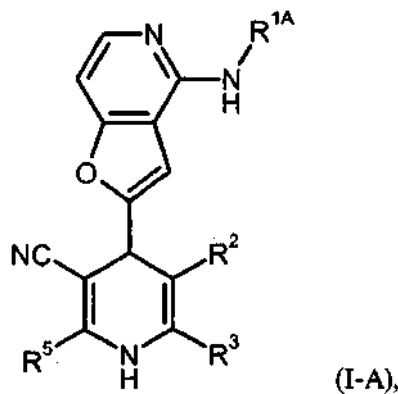
en la que R^{1A} y R^5 tienen los significados indicados anteriormente,
y el último se condensa seguidamente, bien con una enamina de fórmula (V)



5 en la que R^2 y R^3 tienen los significados definidos en las reivindicaciones 1 a 3, o con una cetona de fórmula (VI)

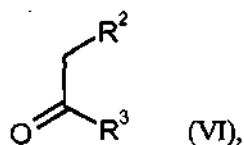


en la que R^2 y R^3 tienen los significados definidos en las reivindicaciones 1 a 3,
en combinación con una fuente de amoniaco, tal como acetato de amonio, para dar el compuesto de fórmula (I-A)



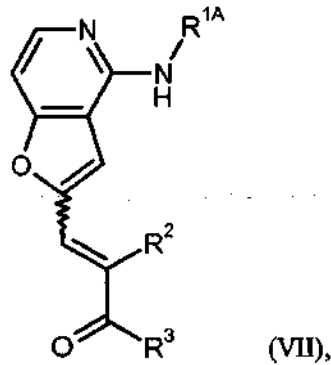
10

en la que R^{1A} , R^2 , R^3 y R^5 tienen los significados indicados anteriormente, o
[B] con una cetona de fórmula (VI)



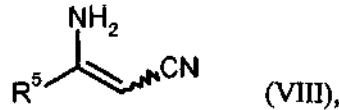
en la que R^2 y R^3 tienen los significados definidos en las reivindicaciones 1 a 3,

en presencia opcional de un ácido, base y/o un agente deshidratante, para dar un compuesto de fórmula (VII)

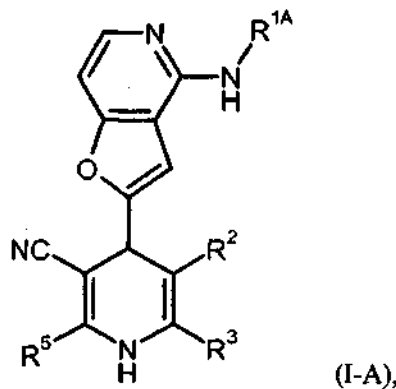


en la que R^{1A}, R² y R³ tienen los significados definidos anteriormente,
y el último se condensa seguidamente con un enamionitrilo de fórmula (VIII)

5

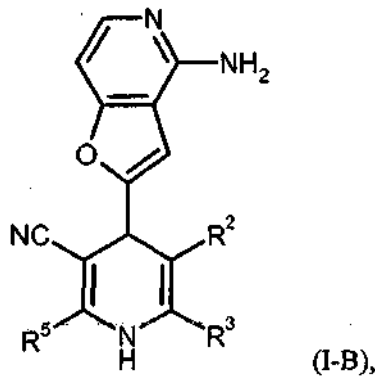


en la que R⁵ tiene el significado definido en las reivindicaciones 1 a 3,
en presencia opcional de un ácido para proporcionar también el compuesto de fórmula (I-A)



10

en la que R^{1A}, R², R³ y R⁵ tienen los significados indicados anteriormente,
seguido opcionalmente de escisión hidrolítica del grupo acilo R^{1A} para dar el compuesto de amina (I-B)



en la que R², R³ y R⁵ tienen los significados descritos anteriormente,

y seguido opcionalmente, cuando sea apropiado, de (i) separar los compuestos (I-A) y (I-B) así obtenidos en sus respectivos enantiómeros y/o diastereómeros,

y/o (ii) convertir los compuestos (I-A) y (I-B) en sus respectivos hidratos, solvatos, sales y/o hidratos o solvatos de las sales por tratamiento con los correspondientes disolventes y/o ácidos o bases.

- 5 **5.** Compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para el tratamiento o la prevención de enfermedades.
- 6.** Uso de un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para la fabricación de una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención de un trastorno de proliferación celular.
- 7.** El uso de la reivindicación 6, en el que el trastorno de proliferación celular es cáncer.
- 10 **8.** Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal, hidrato y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 9.** La composición farmacéutica de la reivindicación 8, que comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales.
- 15 **10.** La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que el agente terapéutico adicional es un agente antitumoral.
- 11.** La composición farmacéutica como se define en cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 para el tratamiento o la prevención de un trastorno de proliferación celular.