

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 481 791**

51 Int. Cl.:

**C07D 495/04** (2006.01)

**A61K 31/5025** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2010 E 10817865 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.04.2014 EP 2477496**

54 Título: **Compuestos novedosos y uso terapéutico para la inhibición de proteína cinasa**

30 Prioridad:

**18.09.2009 US 243549 P**

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

**31.07.2014**

73 Titular/es:

**WU, ZHANGGUI (100.0%)  
190 Longwood St. Apt. 58  
Brookline, Massachusetts 02446, US**

72 Inventor/es:

**WU, ZHANGGUI**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 481 791 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Compuestos novedosos y uso terapéutico para la inhibición de proteína cinasa

## 5 CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a procedimientos y composiciones para modular las actividades de cinasa reguladora 1 (CHK1) y cinasa reguladora 2 (CHK2), y tirosina cinasa receptora y tirosina cinasa no receptora. Más específicamente, la presente invención se refiere a la preparación y uso de inhibidores de las enzimas anteriores.

10

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La etiología del cáncer es extremadamente compleja y sigue siendo poco conocida. Lo que se sabe es que los cánceres están íntimamente relacionados tanto con factores ambientales como con factores internos del cuerpo humano. Aproximadamente tres cuartos de los cánceres se pueden atribuir a causas externas, ambientales. Los cánceres siguen representando una gran amenaza para la humanidad y, en todo el mundo, mueren anualmente de cáncer por lo menos 5 millones de personas. Los procedimientos de tratamiento actualmente disponibles, tales como cirugía, radioterapia, quimioterapia, tienen todos sus limitaciones.

15

De los procedimientos de tratamiento y prevención de cáncer disponibles, los agentes químicos siguen siendo los más eficaces.

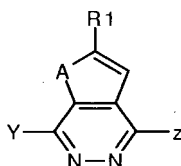
20

Una categoría de agentes de quimioterapia para el cáncer son los inhibidores o antagonistas tanto de las tirosina cinasas receptoras como de las tirosina cinasas no receptoras. Los objetivos específicos incluyen el receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), HER2 (receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2), SRC, JAK (cinasa Jano) y TEK.

25

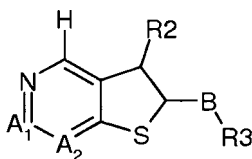
Se ha descubierto que determinados compuestos de tieno-piridazina tienen actividades antitumorales. Por ejemplo, el documento WO2005105808 divulga un compuesto de este tipo como inhibidor de IKK:

30



Además, el documento WO2007124181 divulga compuestos que son inhibidores de la proteasa p38, un tipo de tirosina cinasa:

35



Además, los documentos WO 03029241, WO 03028731 y WO2005066163 divulgan compuestos similares que son inhibidores de CHK1. No obstante, existe una necesidad de más compuestos antineoplásicos que sean inhibidores de tirosina cinasas, en especial de CHK1/CHK2.

40

## DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona inhibidores novedosos de determinadas proteína cinasas, en especial cinasas reguladoras del ciclo celular (CHK1 y CHK 2), y tirosina cinasa receptora y tirosina cinasas no receptoras, tales como VEGFR (receptores del factor de crecimiento endotelial vascular), EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico), HER2 (receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2), SRC cinasas, JAK cinasa y TEK cinasas; y serina/treonina cinasas tales como MEK, JNK, c-MET, AKT, PIM, TIE y PLK.

45

La cinasa reguladora 1 es una proteína cinasa altamente conservada evolutiva, y su función es controlar la progresión del ciclo celular en los puntos de regulación S y G2/M. El daño en el ADN activa la Chk1, deteniendo el ciclo celular y provocando que se repare en ADN dañado. Si los daños en el ADN son demasiado extensos para su reparación, la célula muere de modo que se mantiene la integridad y estabilidad del genoma. Las células cancerosas desprovistas de

50

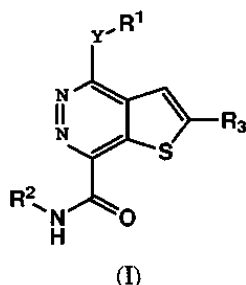
o defectuosas en Chk1 presentan muchos defectos en el control del ciclo celular, que incluye disminución en la velocidad de división celular, falta de reacción para los puntos de regulación del ciclo celular, e incremento en la sensibilidad para los daños en el ADN. Debido a sus funciones en la reparación del daño, la Chk1 desempeña un papel importante en la ontología del cáncer, muerte de células cancerosas y resistencia a fármacos para el cáncer.

5 La investigación sobre los puntos de regulación de las regulaciones del ciclo celular reveló que la inhibición de la expresión de CHK1 puede invertir la resistencia o tolerancia a fármacos de las células cancerosas, incrementando de este modo la sensibilidad de las células cancerosas al tratamiento de daño en el ADN, e incrementando drásticamente las actividades y eficacias de los agentes antineoplásicos. La mayoría de los cánceres tienen mutaciones en p53 que elimina específicamente el punto de regulación G1/S, lo que también puede ser una base para el cribado de agentes antineoplásicos específicos. Los inhibidores de Chk1 cinasa pueden ser buenos candidatos para agentes antineoplásicos específicos o para potenciar las actividades de otros fármacos antineoplásicos, ya que la cinasa Chk1 también regula el punto de regulación G2/M. Aunque los inhibidores de Chk1 por sí mismos puede que no tengas fuertes actividades antineoplásicas, aún pueden potenciar las actividades antineoplásicas de otros fármacos si se usan en combinación.

La presente invención proporciona compuestos inhibidores de proteína cinasa novedosos o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o derivados de los mismos que tienen actividades antineoplásicas. Los compuestos de la presente invención son inhibidores de proteína cinasas relacionadas con cáncer tales como CHK1 y CHK2, y también pueden incrementar o potenciar las actividades de otros agentes antineoplásicos. La presente invención también proporciona procedimientos de preparación de los compuestos, composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, y procedimiento de uso de los compuestos en la preparación de composiciones farmacéuticas para inhibir la multiplicación celular o la proliferación celular en animales de sangre caliente tales como seres humanos.

25 Las enfermedades relacionadas con la detención del ciclo celular o relacionadas con la proliferación celular que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención o composiciones farmacéuticas que comprenden los mismos incluyen cáncer (incluyendo tumores sólidos y leucemia), fibrosis y enfermedades relacionadas, psoriasis, artritis reumatoide, sarcoma de Kaposi, enfermedades renales agudas y crónicas, ateroma, aterosclerosis, estenosis arterial, enfermedades autoinmunitarias, inflamación aguda o crónica, enfermedades óseas y enfermedades oculares provocadas por neovascularización retiniana.

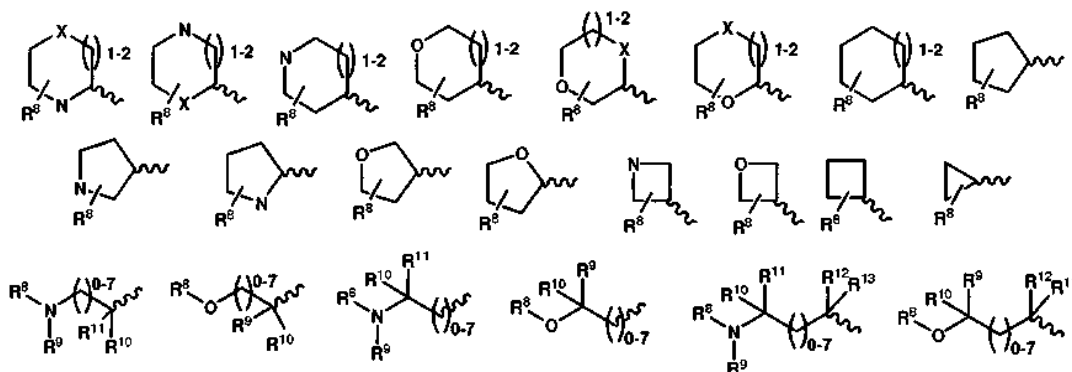
Los compuestos de fórmula I se describen a continuación.



en la que

Y = NH, O o S,

40 R<sup>1</sup> = seleccionado de los siguientes grupos:



en el que X = CH<sub>2</sub>, NH, S u O,

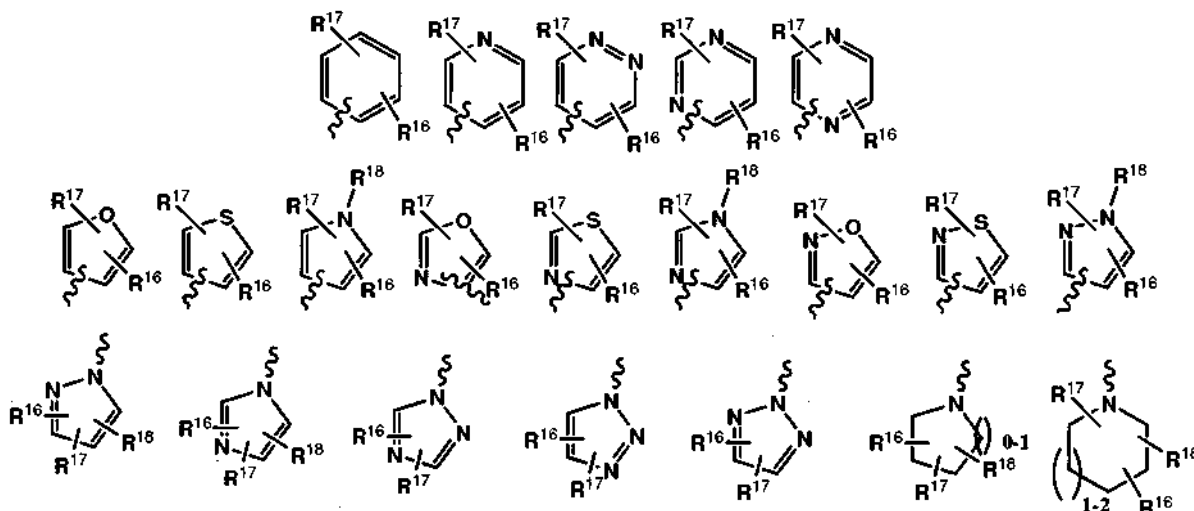
5 R<sup>8</sup> = -H, -NH<sub>2</sub>, -OH, -N(R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>), -C(R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>)<sub>1-7</sub>NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, -C(R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>)<sub>1-7</sub>OR<sup>6</sup>, o -N(R<sup>4</sup>)NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>, en el que R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> = H, alquilos (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilos (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>) con o sin heteroátomos nucleares tales como O, S, y N, arilos (aromáticos sustituidos o bien insustituidos), o heteroaromáticos (heteroaromáticos sustituidos o bien insustituidos),

10 R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, y R<sup>13</sup> = H, alquilos (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilos (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>) con o sin heteroátomos nucleares tales como O, S o N; arilos (aromáticos sustituidos o bien insustituidos), o heteroaromáticos (heteroaromáticos sustituidos o bien insustituidos),

R<sup>2</sup>, se selecciona de un grupo que consiste en H, OH, NH<sub>2</sub>, OR<sup>14</sup>, NR<sup>14</sup>R<sup>15</sup>, alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, arilalquilo, heterociclilo, heterocicliilalquilo, alqueno y alquinilo,

15 en el que R<sup>14</sup>, R<sup>15</sup> = H, alquilos (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilos (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>) con o sin heteroátomos nucleares tales como O, S, N, arilos (aromáticos sustituidos o bien insustituidos), o heteroaromáticos (heteroaromáticos sustituidos o bien insustituidos), y

20 R<sup>3</sup> se selecciona de un grupo que consiste en H, alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, arilalquilo, heterociclilo, heterocicliilalquilo, alqueno y alquinilo. Específicamente, R<sup>3</sup> se selecciona de los siguientes grupos:

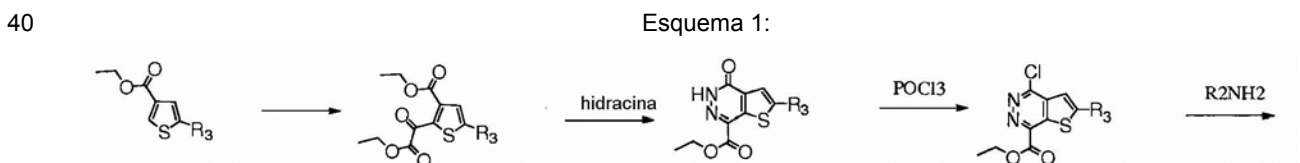


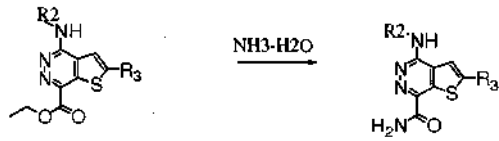
25 en el que R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup>, y R<sup>18</sup> se seleccionan de los siguientes grupos: H; heteroátomo tal como F, Cl, Br, I; alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>); cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>) con o sin sustituciones, en el que una sustitución se selecciona del grupo que consiste en alquilos (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), cicloalquilos (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>), arilos, heteroarilos; -OR<sup>19</sup>; -SR<sup>19</sup>; -NR<sup>19</sup>R<sup>20</sup>; -S(O)R<sup>19</sup>; -S(O)<sub>2</sub>R<sup>19</sup>; -S(O)<sub>2</sub>NR<sup>19</sup>R<sup>20</sup>; -C(O)NR<sup>19</sup>R<sup>20</sup>; -N(R<sup>19</sup>)C(O)R<sup>20</sup>; -N(R<sup>19</sup>)S(O)<sub>2</sub>R<sup>20</sup>; -N(R<sup>19</sup>)C(O)N(R<sup>20</sup>R<sup>21</sup>); N(R<sup>19</sup>)C(O)OR<sup>20</sup>; arilo con o sin sustitución, heteroarilo con o sin sustitución, arilalquilo con o sin sustitución, heterociclilo con o sin sustitución, heterocicliilalquilo con o sin sustitución; alqueno con o sin sustitución, y alquinilo con o sin sustitución;

30 en el que R<sup>19</sup>, R<sup>20</sup>, y R<sup>21</sup> se eligen independientemente de H, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), cicloalquilos (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>), arilo con o sin sustitución, alquilarilo con o sin sustituciones, heteroarilo con o sin sustitución,

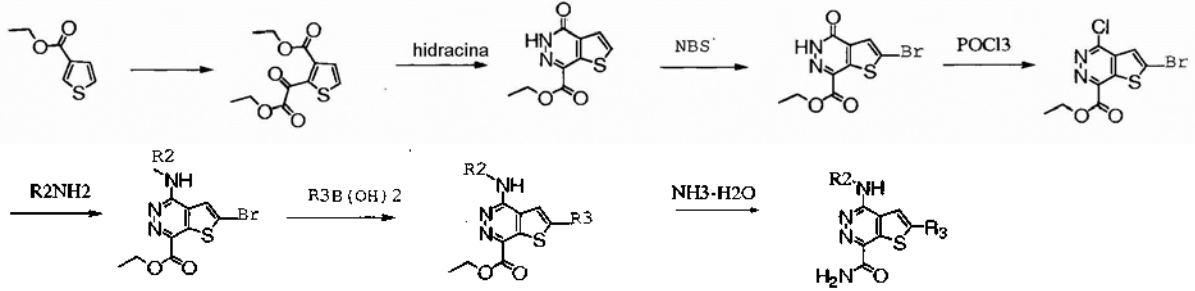
35 o R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup>, y R<sup>21</sup> pueden ser parte de un anillo condensado que contiene 0-3 heteroátomos seleccionados de N, O, y S.

Los compuestos anteriores se pueden preparar como se ilustra en los siguientes esquemas generales:



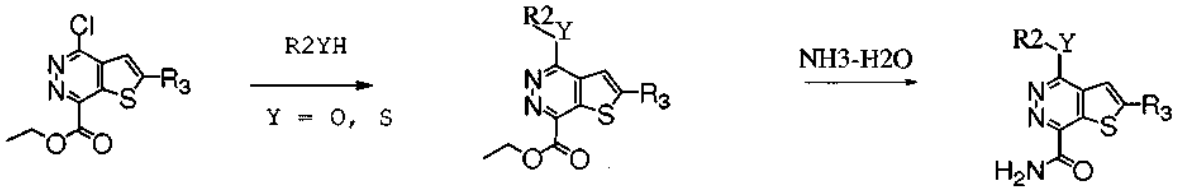


Esquema 2:

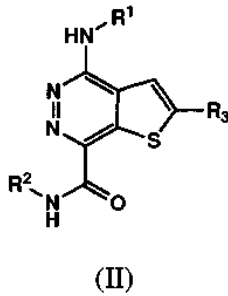


5

Esquema 3:



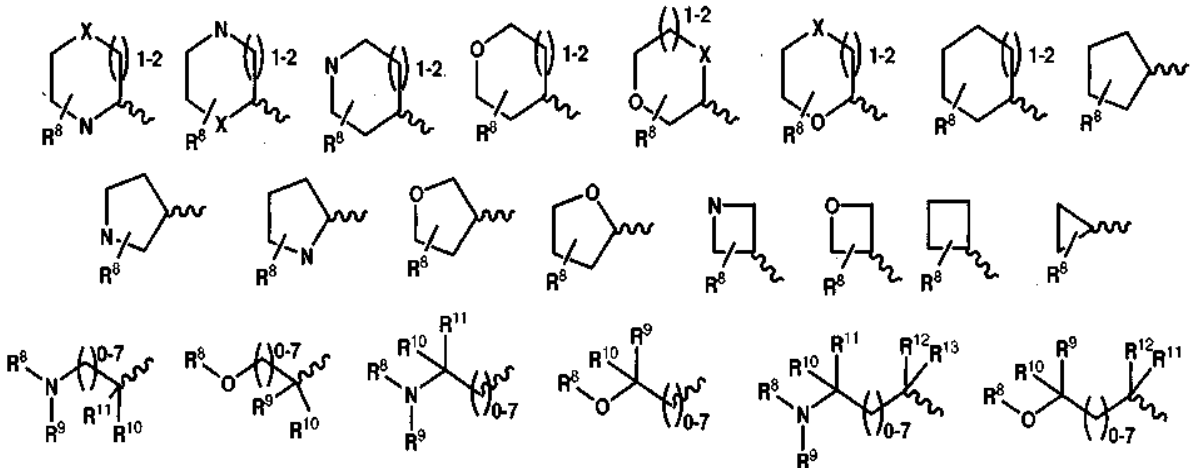
10 Los compuestos novedosos de la presente invención tienen una fórmula II:



en la que,

15

R<sup>1</sup> se selecciona de los siguientes grupos:



20

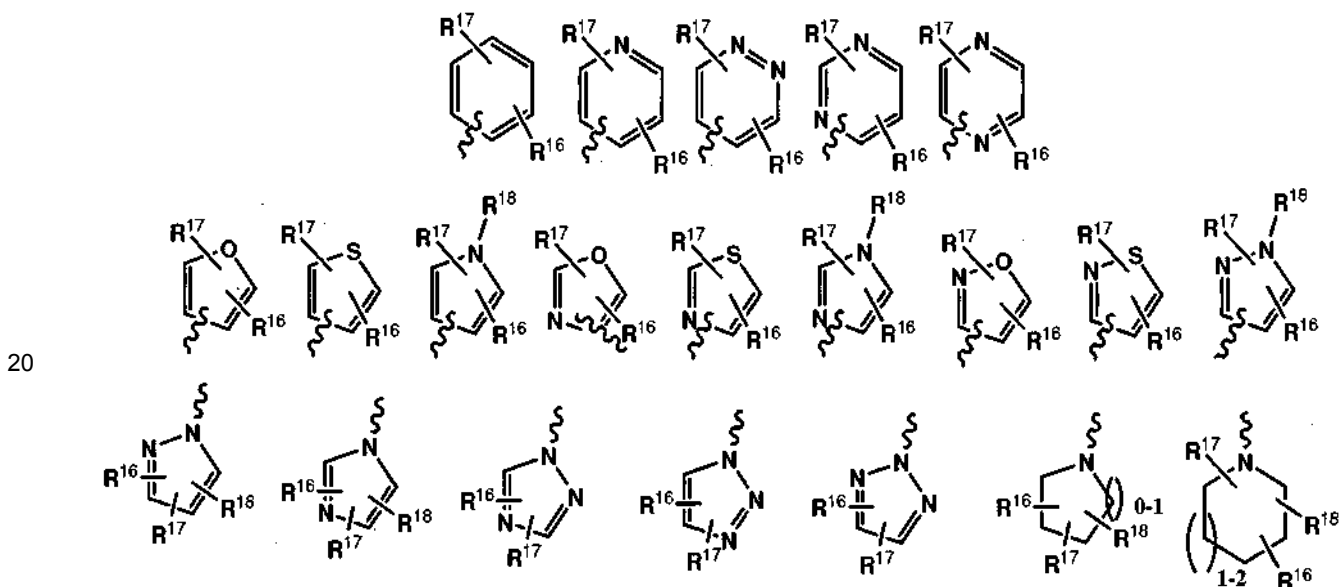
en el que X = CH<sub>2</sub>, NH, S, u O;

R<sup>8</sup> = -H, -NH<sub>2</sub>, -OH, -N(R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>), -C(R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>)<sub>1-7</sub>NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, -C(R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>)<sub>1-7</sub>OR<sup>6</sup>, -N(R<sup>4</sup>)NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>

5 R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> = H, alquilos (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilos (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>) con o sin heteroátomos nucleares tales como O, S, N, arilos (seleccionados de aromáticos sustituidos e insustituidos), o heteroaromáticos (seleccionados de heteroaromáticos sustituidos e insustituidos)

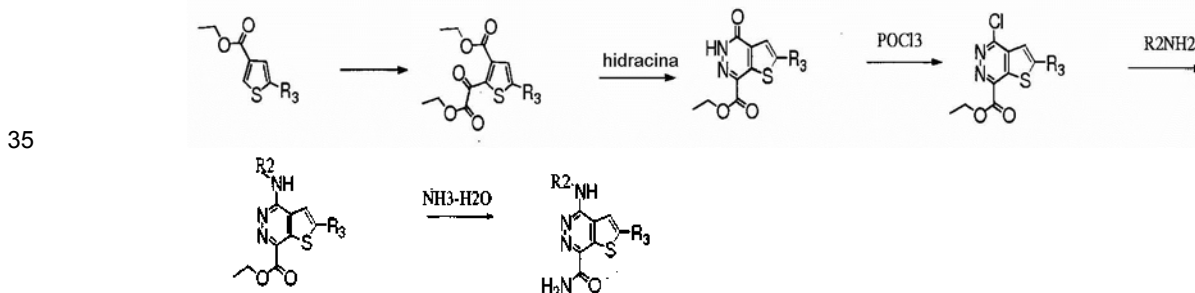
10 R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>13</sup> = H, alquilos (C<sup>1</sup>-C<sup>6</sup>), cicloalquilos (C<sup>3</sup>-C<sup>8</sup>) con o sin heteroátomos nucleares tales como O, S, N, arilos (seleccionados de aromáticos sustituidos e insustituidos) heteroaromáticos (seleccionados de heteroaromáticos sustituidos e insustituidos),

15 R<sup>2</sup> se selecciona de una grupo que consiste en H, OH, NH<sub>2</sub>, OR<sup>14</sup>, NR<sup>14</sup>R<sup>15</sup>, alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, arilalquilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, alquenilo, alquinilo, en el que R<sup>14</sup> y R<sup>15</sup> son H, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>) con o sin sustituciones con heteroátomos tales como O, S, y N; o un anillo aromático sustituido o insustituido, R<sup>3</sup> se selecciona de un grupo que consiste en H, alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, arilalquilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, alquenilo, y alquinilo; preferentemente R<sup>3</sup> se selecciona de los siguientes grupos:



25 en los que R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup> y R<sup>18</sup> se seleccionan de los siguientes grupos: H; heteroátomo tal como F, Cl, Br, I; alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>); cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>) con y sin sustituciones; las sustituciones se seleccionan de alquilos (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), cicloalquilos (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>), arilos, y roarilos; -OR<sup>19</sup>; -SR<sup>19</sup>; -NR<sup>19</sup>R<sup>20</sup>; -S(O)R<sup>19</sup>; -S(O)<sub>2</sub>R<sup>19</sup>; -S(O)<sub>2</sub>NR<sup>19</sup>R<sup>20</sup>; -C(O)NR<sup>19</sup>R<sup>20</sup>; -N(R<sup>19</sup>)C(O)R<sup>20</sup>; -N(R<sup>19</sup>)S(O)<sub>2</sub>R<sup>20</sup>; N(R<sup>19</sup>)C(O)N(R<sup>20</sup>R<sup>21</sup>); -N(R<sup>19</sup>)C(O)OR<sup>20</sup>; arilo con o sin sustitución, heteroarilo con o sin sustitución, arilalquilo con o sin sustitución, heterociclilo con o sin sustitución, heterociclilalquilo con o sin sustitución, alquenilo con o sin sustitución, alquinilo con o sin sustitución; en los que R<sup>19</sup>, R<sup>20</sup> y R<sup>21</sup> se eligen de H, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), cicloalquilos (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>), arilo con o sin sustitución, alquilarilo con o sin sustituciones, y heteroarilo con o sin sustitución; o R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup> y R<sup>18</sup> pueden ser parte de un anillo que está condensado que contiene 0-3 heteroátomos seleccionados de N, O, y S.

Los compuestos anteriores se pueden preparar como se ilustra en el siguiente esquema general:



La síntesis de los compuestos novedosos de acuerdo con los esquemas anteriores se puede implementar usando procedimientos conocidos para los expertos en la técnica, por ejemplo, los divulgados en la publicación de patente de los EE. UU. N.º US2009-0275585A1 y el documento WO2005105808.

Los compuestos novedosos de la presente invención son inhibidores de proteína cinasas incluyendo CHK1 y CHK2, y pueden prevenir que el mecanismo de reparación de daño en el ADN detenga el ciclo celular en el punto de regulación G2/M. Por lo tanto, estos compuestos tienen actividades antiproliferativas (por ejemplo, as), y también se pueden usar en combinación con otros agentes antineoplásicos, para potenciar sus efectos antineoplásicos. Por lo tanto, los compuestos son útiles como agentes terapéuticos de cáncer para tratar seres humanos y animales. La presente invención incluye además procedimientos para fabricar los compuestos novedosos, composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, el uso de los compuestos o sus sales para la fabricación de composiciones farmacéuticas, así como compuestos para su uso en los procedimientos de tratamiento.

En otro modo de realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito anteriormente y un coadyuvante o excipiente farmacéuticamente aceptable, y un procedimiento para tratar el cáncer administrando una cantidad eficaz de la composición farmacéutica a un paciente que lo necesita. La administración de una "cantidad eficaz" o una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la presente invención quiere decir una cantidad que es útil, en dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios para lograr el resultado deseado. La cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la presente invención puede variar de acuerdo con factores tales como estado de la enfermedad, edad, sexo y peso del sujeto. Los regímenes de dosificación en el paciente se pueden ajustar para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, se pueden administrar varias dosis divididas al día o se puede reducir proporcionalmente la dosis según se indique por las exigencias de la situación terapéutica. En el contexto de la presente invención, una "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales preparadas a partir de ácidos farmacéuticamente aceptables, no tóxicos.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se pueden presentar y administrar como formas de medicamento líquidas, semisólidas o sólidas y en forma, por ejemplo, de soluciones de inyección, gotas, zumos, jarabes, suspensiones, pulverizaciones, gránulos, comprimidos, pellas, parches, cápsulas, apósitos, supositorios, pomadas, cremas, lociones, geles, emulsiones o aerosoles, y comprenden un compuesto de la presente invención, y sustancias auxiliares farmacéuticas de acuerdo con la forma galénica, tales como, por ejemplo, materiales de vehículo, cargas, disolventes, diluyentes, sustancias tensioactivas, tintes, conservantes, agentes disgregantes, agentes anti-fricción, lubricantes, aromatizantes y/o aglutinantes. Estas sustancias auxiliares pueden ser, por ejemplo: agua, etanol, 2-propanol, glicerol, etilenglicol, propilenglicol, polietilenglicol, polipropilenglicol, glucosa, fructosa, lactosa, sacarosa, dextrona, melaza, almidón, almidón modificado, gelatina, sorbitol, inositol, manitol, celulosa microcristalina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, acetato de celulosa, goma laca, alcohol cetílico, polivinilpirrolidona, parafinas, ceras, gomas naturales y sintéticas, goma arábica, alginatos, dextrano, ácidos grasos saturados e insaturados, ácido esteárico, estearato de magnesio, estearato de cinc, estearato de glicerilo, laurilsulfato de sodio, aceites comestibles, aceite de sésamo, aceite de coco, aceite de cacahuete, aceite de soja, lecitina, lactato de sodio, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno y propileno, ésteres de ácidos grasos de sorbitano, ácido sórbico, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido tánico, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio, cloruro de calcio, óxido de magnesio, óxido de cinc, dióxido de silicio, óxido de titanio, dióxido de titanio, sulfato de magnesio, sulfato de cinc, sulfato de calcio, potasa, fosfato de calcio, fosfato de dicalcio, bromuro de potasio, yoduro de potasio, talco, caolín, pectina, crospovidona, agar y bentonita. La elección de materiales auxiliares y las cantidades de los mismos que se van a emplear dependen de si el medicamento se va a administrar por vía oral, peroral, subcutánea, parenteral, intravenosa, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intranasal, bucal, rectal o local, por ejemplo, para infecciones en la piel, las membranas mucosas y los ojos. Las formulaciones en forma de comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas, gránulos, gotas, zumos y jarabes, son adecuadas, entre otros, para administración oral, y las soluciones, suspensiones, formulaciones secas fácilmente reconstituibles y pulverizaciones son adecuadas para su administración parenteral, tópica e inhalatoria. Un compuesto de acuerdo con la invención en un depósito en forma disuelta o en un parche, opcionalmente con la adición de agentes que promueven la penetración a través de la piel, son formulaciones adecuadas para la administración percutánea. Las formas de formulación que se pueden usar por vía oral o percutánea pueden liberar el compuesto de acuerdo con la invención de manera retardada o controlada.

Los medicamentos y composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se preparan con la ayuda de agentes, dispositivos, procedimientos y procesos que son bien conocidos en la técnica anterior de formulación farmacéutica, tal como se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1990), en particular en la parte 8, secciones 76 a 93.

Por lo tanto, para una formulación sólida, tal como un comprimido, el compuesto activo del medicamento, se puede mezclar con un vehículo farmacéutico, por ejemplo, constituyentes de comprimidos convencionales, tales como almidón de maíz, lactosa, sacarosa, sorbitol, talco, estearato de magnesio, fosfato de dicalcio o goma, y diluyentes farmacéuticos, tales como, por ejemplo, agua, para formar una composición de preformulación sólida que comprende un compuesto de acuerdo con la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en distribución

- homogénea. La distribución homogénea aquí se entiende que significa que el compuesto activo se distribuye uniformemente sobre toda la composición de preformulación, de modo que se puede dividir fácilmente en formas de dosis unitaria de la misma acción, tales como comprimidos, pastillas o cápsulas. A continuación, la composición de preformulación sólida se divide en formas de dosis unitaria. Los comprimidos o pastillas del medicamento de acuerdo con la invención o de las composiciones de acuerdo con la invención también se pueden recubrir, o componerse de otra manera para proporcionar una forma de dosis con liberación retardada. Las composiciones de recubrimiento adecuadas son, entre otros, ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como, por ejemplo, goma laca, alcohol cetílico y/o acetato de celulosa.
- 5
- 10 La cantidad de compuesto activo que se va a administrar al paciente varía y depende del peso, edad y antecedentes de enfermedad del paciente, así como del modo de administración, la indicación y la gravedad de la enfermedad. Normalmente, se administran un intervalo de dosis de, por ejemplo 0,1 a 5.000 mg/kg, en particular 1 a 500 mg/kg, preferentemente 2 a 250 mg/kg de peso corporal de un compuesto de acuerdo con la invención.
- 15 La composición farmacéutica de la presente invención se puede administrar por vía entérica (tal como administración por vía oral o vía rectal), por vía externa, o por vía parenteral, por ejemplo, por medio de inyección. Las formulaciones adecuadas incluyen comprimidos (tales como comprimidos convencionales, comprimidos bucales, comprimido sublingual, parche de cavidad oral, comprimido masticable, comprimido efervescente, comprimido vaginal, comprimido efervescente vaginal, comprimido de liberación sostenida, comprimido de liberación controlada, comprimido con recubrimiento entérico, comprimido de liberación rápida bucal), cápsulas (cápsulas duras, cápsulas blandas, cápsulas de liberación sostenida, cápsulas de liberación controlada, cápsulas de liberación entérica, etc), pastillas (pastillas para chupar, pastillas recubiertas de azúcar, pellas), líquido oral (solución oral, suspensión oral, emulsión oral, etc), gránulos (gránulos en suspensión, gránulos solubles, gránulos efervescentes, gránulos gastroresistentes, gránulos de liberación sostenida, gránulos de liberación controlada, etc), inyección (solución inyectable, emulsión inyectable, suspensión inyectable), infusión intravenosa, polvo para inyección, solución concentrada para inyección, implantes, etc, y otras formas de medicamentos tales como supositorios, aerosol, polvo de aerosol, pulverización, gel, películas, parches, etc.
- 20
- 25
- 30 Los compuestos de la presente invención se pueden incorporar en polímeros biodegradables que permiten la liberación sostenida del compuesto, los polímeros se implantan en la proximidad donde se desea la administración del fármaco, por ejemplo, en el sitio de un tumor o se implantan de modo que el compuesto se libere lentamente. Los polímeros biodegradables y su uso se describen en detalle, por ejemplo, en Brem et al., J. Neurosurg. 74:441-446 (1991). También se pueden usar minibombas osmóticas para proporcionar una administración controlada.
- 35 La toxicidad y la eficacia terapéutica de dichos compuestos se puede determinar por procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo, para determinar la DL50 (la dosis letal para el 50 % de la población) y la DE50 (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población). La proporción de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la proporción DL50/DE50. Son preferentes los compuestos que presentan índices terapéuticos grandes. Los datos obtenidos a partir de estos ensayos de cultivos celulares y estudios en animales se pueden usar en la formulación de un intervalo de dosificación para su uso en seres humanos. Preferentemente, la dosificación de dichos compuestos está dentro de un intervalo de concentraciones en circulación que incluyen la DE50 con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada.
- 40
- 45 La composición farmacéutica de la presente invención es adecuada para tratar cánceres y las enfermedades relacionadas, y se puede usar sola o en combinación con otros fármacos antineoplásicos. Un experto ordinario en la técnica podrá determinar la dosificación adecuada para el tratamiento, dependiendo de los tipos de enfermedad que se va a tratar, la formulación y las condiciones del paciente.
- 50 Los compuestos de la presente invención se pueden usar para prevenir o tratar la proliferación celular anormal, en especial la encontrada en tumores o cánceres, incluyendo cáncer de pulmón, cáncer de hígado, leucocitemia, osteocarcinoma, cáncer de páncreas, cáncer de piel, melanoma, metrocarcinoma, ooforoma, carcinoma rectal, carcinoma gástrico, cáncer de colon, carcinoma de mama, carcinoma de trompa de Falopio, carcinoma endometrial, carcinoma de cuello uterino, carcinoma vaginal, carcinoma de vulva, carcinoma de esófago, carcinoma de intestino delgado, carcinoma de increción, sarcoma de tejido blanda, carcinoma de uretra, cáncer prostático, linfocitoma, cáncer de vejiga, cáncer de nefrídio, tumores de la columna vertebral, tumores en la neuroglia del cerebro, y adenoma de pituitaria.
- 55
- 60 La composición farmacéutica de la presente invención también se puede usar para la prevención o tratamiento de enfermedades autoinmunitarias, inflamación, enfermedades del sistema nervioso y enfermedades cardiovasculares. En especial, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar para tratar enfermedades relacionadas con el ciclo celular o relacionadas con la proliferación celular.
- 65

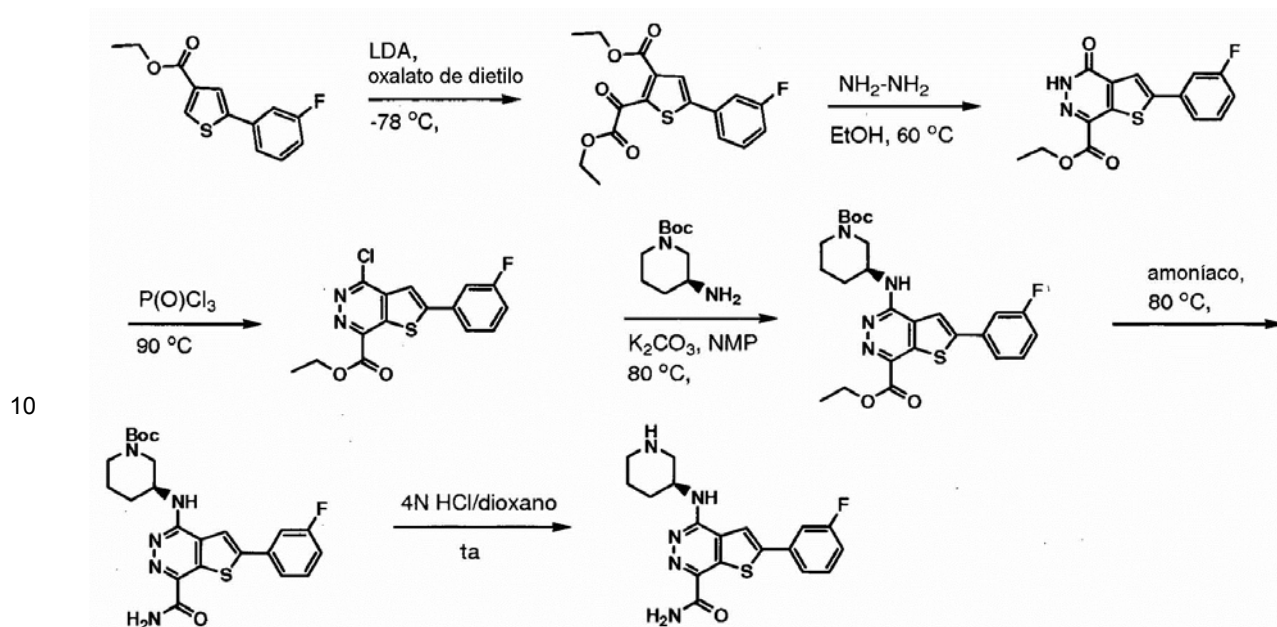


## EJEMPLOS

Ejemplo 1 Síntesis de compuestos del compuesto (S)-2-(3-fluorofenil)-4-(piperidin-3-ilamino)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxamida

5

Seguendo el siguiente esquema 3, se sintetizó el compuesto (S)-2-(3-fluorofenil)-4-(piperidin-3-ilamino)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxamida:



10

## Etapa 1

15 Se añadió LDA (20 mmol) a la solución de tieno (5,34 g, 20 mmol) y oxalato de dietilo en THF (100 ml) a -78 °C gota a gota. Después de la adición, se dejó que la mezcla resultante se calentara hasta 0 °C y se agitó a 0 °C durante 30 min. Se añadió HCl (1 N) para desactivar la reacción y se extrajo con EtOAc. Se secaron las capas orgánicas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró. Se purificó el residuo con columna, dio el producto como un sólido amarillento (7,07 g). HPLC-EM t<sub>R</sub> = 2,39 min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>FO<sub>5</sub>S 350,0, CLEM observada m/z 351,0 (M+H).

20

## Etapa 2

25 Se disolvió la cetona de la etapa 1 (7,07 g, 19,2 mmol) en etanol (50 ml) y se añadió hidracina (1 ml). Se calentó la mezcla hasta 60 °C y se agitó durante 10 min. A continuación, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se agitó durante otros 30 min. Se recogió el sólido por filtración y se lavó con una pequeña cantidad de etanol frío. Se secó el sólido en aire, dio el producto puro (6,17 g) como un sólido blanco. HPLC-EM t<sub>R</sub> = 1,88 min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S 318,0, CLEM m/z 319,0 (M+H).

## Etapa 3

30 Se añadió el compuesto heterocíclico de la etapa 2 (2,8 g, 8,8 mmol) a P(O)Cl<sub>3</sub> (20 ml) y se calentó la mezcla hasta 90 °C y se agitó a esa temperatura durante 3 horas. Se retiró el disolvente a presión reducida y se juntó el residuo con EtOAc. Se separó por filtración el sólido y se concentraron las capas orgánicas y se purificaron con columna (gel de sílice), dio el producto (2,31 g) como un sólido amarillento. HPLC-EM t<sub>R</sub> = 2,40 min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>ClFN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S 336,0, CLEM observada m/z 337,0 (M+H).

35

## Etapa 4

40 Se disolvió el compuesto de cloro (336 mg, 1,0 mmol) en NMP (5 ml) y se añadieron K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (272 mg, 2,0 mmol) y 3-aminopiperidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo (200 mg, 1,0 mmol). Se calentó la mezcla hasta 80 °C y se agitó durante 3 hora. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se diluyó la mezcla con EtOAc y se lavó con agua, salmuera y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Después de la concentración, se purificó el producto bruto con columna, dio el producto (357 mg). HPLC-EM t<sub>R</sub> = 2,09 min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S 500,2, CLEM m/z 501,1 (M+H).

45

## Etapa 5

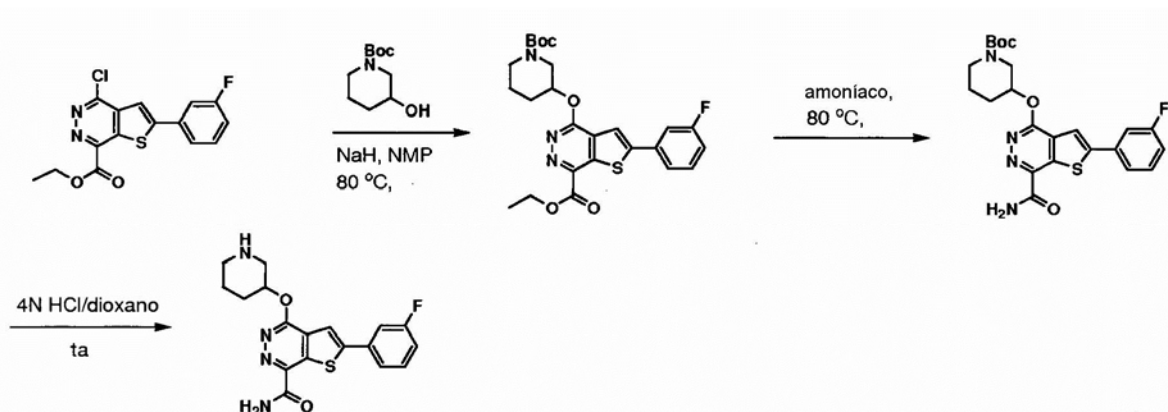
Se mezcló el 4-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-3-ilamino)-2-(3-fluorofenil)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxilato de (S)-etilo (50 mg, 0,1 mmol) con amoníaco (4 ml) en un tubo sellado a temperatura ambiente. Se calentó la mezcla hasta 80 °C y se agitó durante la noche. A continuación, se retiró el disolvente por concentración. Se usó el producto bruto 3-(7-carbamoil-2-(3-fluorofenil)tieno[2,3-d]piridazin-4-ilamino)piperidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo en la siguiente etapa directamente sin purificación adicional. HPLC-EM  $t_R = 1,75$  min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S 471,2, CLEM m/z 472,2 (M+H).

## Etapa 6

Se trató el producto bruto de la etapa 5 3-(7-carbamoil-2-(3-fluorofenil)tieno[2,3-d]piridazin-4-ilamino)piperidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo con HCl (4 N en dioxano, 3 ml) a temperatura ambiente durante 30 min. A continuación, se retiró el disolvente a presión reducida y se purificó el residuo con HPLC para obtener el compuesto final (S)-2-(3-fluorofenil)-4-(piperidin-3-ilamino)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxamida. HPLC-EM  $t_R = 1,27$  min (UV<sub>254</sub> nm) masa calculada para la fórmula C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>5</sub>OS 371,1, CLEM observada m/z 372,1 (M+H).

## Ejemplo 2 (referencia)

Síntesis de compuesto 2-(3-fluorofenil)-4-(piperidin-3-iloxi)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxamida



El 4-cloro-2-(3-fluorofenil)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxilato de etilo se ha preparado en el ejemplo 1, etapa 3.

## Etapa 1

Se disolvió 3-hidroxipiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (100 mg, 0,5 mmol) en NMP seco (5 ml) y se añadió cuidadosamente NaH (20 mg, 60 % en aceite, 0,5 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 10 min. A continuación, se añadió 4-cloro-2-(3-fluorofenil)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxilato de etilo (130 mg, 0,5 mmol). Se calentó la mezcla hasta 80 °C y se agitó durante 30 min. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió EtOAc para diluir la reacción y se lavó con agua y salmuera. Se secaron las capas orgánicas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se filtró y se concentró. Se purificó el producto bruto con columna (gel de sílice) para dar el producto 4-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-3-iloxi)-2-(3-fluorofenil)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxilato de etilo (151 mg). HPLC-EM  $t_R = 2,17$  min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S 501,2, CLEM m/z 502,2 (M+H).

## Etapa 2

Se preparó el compuesto 3-(7-carbamoil-2-(3-fluorofenil)tieno[2,3-d]piridazin-4-iloxi)piperidine-1-carboxilato de terc-butilo con las mismas condiciones descritas en el ejemplo 1, etapa 5. HPLC-EM  $t_R = 1,88$  min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S 472,2, CLEM m/z 473,1 (M+H).

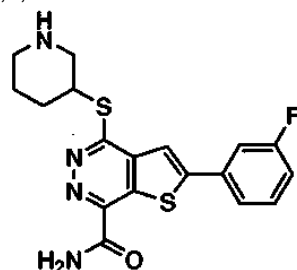
## Etapa 3

Se preparó el compuesto 2-(3-fluorofenil)-4-(piperidin-3-iloxi)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxamida con las mismas condiciones descritas en el ejemplo 1, etapa 6. HPLC-EM  $t_R = 1,33$  min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S 372,1, CLEM m/z 373,1 (M+H).

## Ejemplo 3 (referencia)

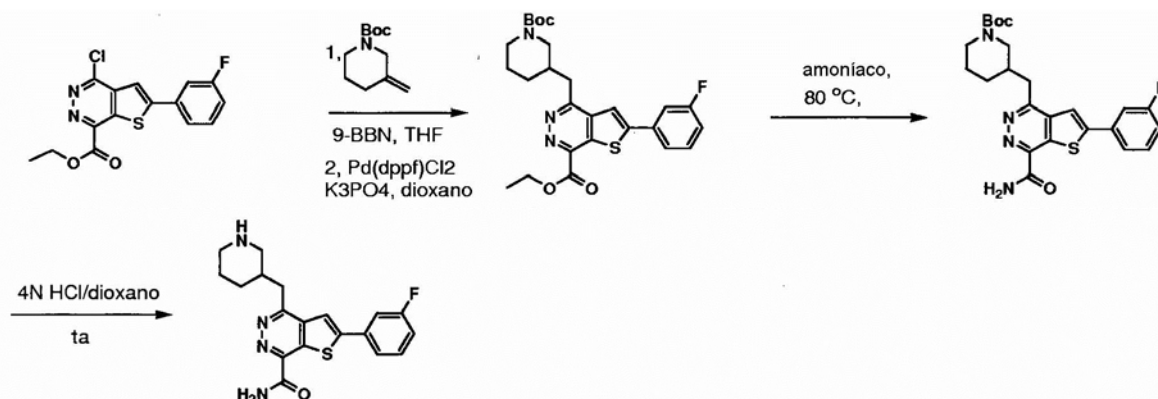
Se preparó la síntesis del compuesto 2-(3-fluorofenil)-4-(piperidin-3-iltio)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxamida

- 5 Siguiendo el mismo procedimiento descrito en el ejemplo 2, se preparó el siguiente compuesto 2-(3-fluorofenil)-4-(piperidin-3-iltio)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxamida. HPLC-EM  $t_R = 1,35$  min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>4</sub>OS<sub>2</sub> 388,1, CLEM observada m/z 389,0 (M+H).



Ejemplo 4 Síntesis del compuesto 2-(3-fluorofenil)-4-(piperidin-3-ilmetil)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxamida (referencia)

10



Etapa 1

15

Bajo Ar, se disolvió el compuesto 3-metilenepiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (600 mg, 3,0 mmol) en THF seco (15 mmol) y se añadió gota a gota 9-BBN (3,0 mmol). Se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió la solución a la mezcla del compuesto de cloro 4-cloro-2-(3-fluorofenil)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxilato de etilo (260 mg, 1,0 mmol), se mezcló con Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (40 mg, 0,05 mmol), K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (636 mg, 3,0 mmol), en dioxano (10 ml con 1 ml de agua) bajo Ar. Se calentó la mezcla resultante a 90 °C y se agitó durante la noche. Después de enfriarse a temperatura ambiente, se diluyó la mezcla con EtOAc (60 ml) y se filtró con Celite. Después de la concentración, se purificó el producto bruto con columna (gel de sílice, 0~30 % EtOAc/Hexano), dio el producto 4-((1-(terc-butoxi-carbonil)piperidin-3-il)metil)-2-(3-fluorofenil)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxilato de etilo (266 mg). HPLC-EM  $t_R = 2,38$  min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S 499,2, CLEM m/z 500,3 (M+H).

25

Etapa 2

30

Se preparó el compuesto 3-((7-carbamoil-2-(3-fluorofenil)tieno[2,3-d]piridazin-4-il)metil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo con las mismas condiciones descritas en el ejemplo 1, etapa 5. HPLC-EM  $t_R = 1,95$  min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S 470,2, CLEM m/z 471,2 (M+H).

Etapa 3

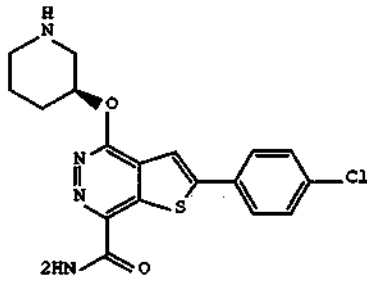
35

Se preparó el compuesto 2-(3-fluorofenil)-4-(piperidin-3-ilmetil)tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxamida con las mismas condiciones descritas en el ejemplo 1 etapa 6. HPLC-EM  $t_R = 1,39$  min (UV<sub>254</sub> nm); masa calculada para la fórmula C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>4</sub>OS 370,1, CLEM observada m/z 371,1 (M+H).

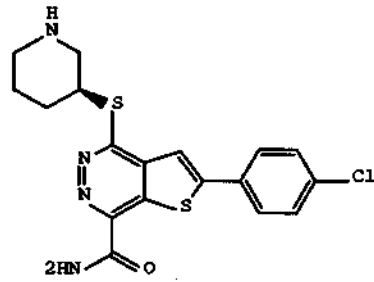
40

Ejemplo 4 (referencia)

De forma similar, siguiendo el esquema 3 descrito anteriormente, se sintetizaron los siguientes compuestos.



Amida del ácido 2-(4-cloro-fenil)-4-(piperidin-3-iloxi)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico

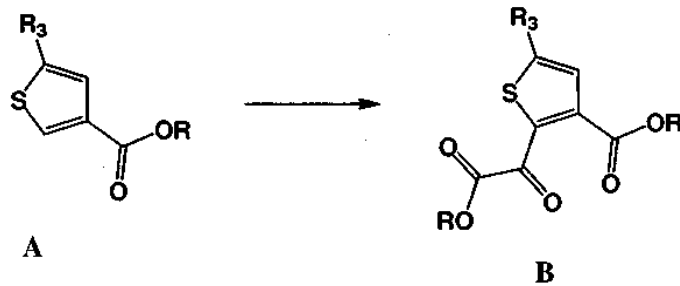


Amida del ácido 2-(4-cloro-fenil)-4-(piperidin-3-ilsulfanil)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico.

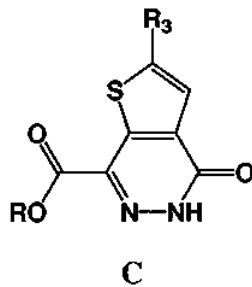
Ejemplo 5 Síntesis de los compuestos de fórmula II:

Los compuestos de la presente invención se sintetizan como sigue: En presencia de una base, se trata un compuesto de fórmula A con oxalato de dialquilo, para obtener un compuesto de fórmula B:

5

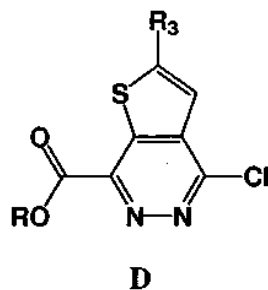


Se trata el compuesto B con hidracina, para formar un compuesto de fórmula C:



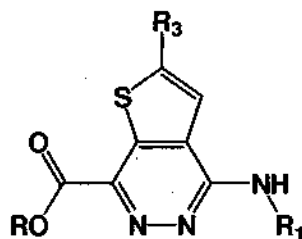
10

que se trata con tricloruro fosfórico ( $\text{POCl}_3$ ), dando como resultado un compuesto de fórmula D:



15

a continuación, se hace reaccionar el compuesto D con la amina  $\text{NH}_2\text{R}^1$  para formar un compuesto de fórmula E,

**E**

que a continuación se hace reaccionar con otra amina,  $\text{NH}_2\text{R}^2$  seguido de la retirada del grupo protector sobre  $\text{R}^1$ , y un tratamiento con base, dando como resultado un compuesto de fórmula 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En el esquema de síntesis anterior, R,  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  y  $\text{R}^3$  son como se definen previamente. Preferentemente, R es alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ;  $\text{R}^1$  es un anillo de 5 o 6 miembros saturado o insaturado que contiene N, S, u O, o un estereoisómero del mismo,  $\text{R}^2$  es independientemente H, o un alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ; y  $\text{R}^3$  es un bencilo sustituido individual o doblemente con halógeno, sustitución que se puede producir en cualquier posición.

Siguiendo el procedimiento anterior, se sintetizan los compuestos enumerados a continuación:

1. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
2. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
3. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
4. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
5. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
6. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
7. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
8. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
9. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
10. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(2-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
11. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(2-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
12. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(S-3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
13. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(R-3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
14. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
15. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
16. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
17. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
18. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- N-metil-carboxílico
19. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- N,N-dimetil-carboxílico
20. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
21. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico

22. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
- 5 23. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
24. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
25. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
- 10 26. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
27. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 15 28. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
29. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(2-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
30. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(S-3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
- 20 31. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(R-3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico
32. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
- 25 33. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
34. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
35. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
- 30 36. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
37. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
- 35 38. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
39. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
40. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 40 41. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3- $\alpha$ -piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
42. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3- $\alpha$ -piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 45 43. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3- $\alpha$ -piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
44. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3- $\alpha$ -tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
45. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3- $\alpha$ -tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 50 46. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3- $\alpha$ -tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
47. 2-(4-clorofenil)-4-(2-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7- carboxílico amida del ácido
48. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(4-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 55 49. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(S-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
50. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(R-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 60 51. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
52. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
- 65 53. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico

54. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
55. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
- 5 56. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
57. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
58. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 10 59. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
60. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 15 61. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
62. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
63. amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 20 64. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
65. amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 25 66. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(2-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
67. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(S-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
68. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(R-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 30 69. 2-(4-clorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
70. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
- 35 71. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
72. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
73. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
- 40 74. amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
75. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 45 76. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
77. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
78. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 50 79. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
80. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 55 81. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
82. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
83. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 60 84. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(2-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
85. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(2-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 65 86. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(S-3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico

87. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(R-3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 5 88. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
89. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-piperidin-amino)-tieno [2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
90. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
- 10 91. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
92. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
93. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
- 15 94. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
95. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 20 96. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
97. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
98. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 25 99. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
100. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 30 101. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
102. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
103. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(2-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 35 104. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(S-3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
105. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(R-3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 40 106. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
107. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
108. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
- 45 109. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
110. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno [2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
- 50 111. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
112. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
113. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 55 114. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
115. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3- $\alpha$ -piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 60 116. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3- $\alpha$ -piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
117. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3- $\alpha$ -piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 65 118. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3- $\alpha$ -tiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico



119. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3- $\alpha$ -tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
120. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3- $\alpha$ -tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 5 121. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(2-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
122. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(4-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 10 123. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(S-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
124. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(R-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
125. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
- 15 126. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
127. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
128. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
- 20 129. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
130. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
- 25 131. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
132. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 30 133. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
134. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
135. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 35 136. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
137. amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 40 138. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
139. amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
140. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(2-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 45 141. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(S-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
142. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(R-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico
- 50 143. 2-(3-clorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
144. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
145. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico
- 55 146. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico
147. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico, y
148. amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico.
- 60

### Ejemplo 6: Formulaciones

Las preparaciones farmacéuticas para la administración por diversas vías se formulan como se muestra a continuación. "Ingrediente activo" o "compuesto activo" como se usa a continuación quiere decir uno o más de los compuestos de fórmula I.

65

1. Inyección parenteral. Formulación: Ingrediente activo, 50 g; cloruro de sodio, 2250 g; agua para inyección añadida hasta 250.000 ml, para preparar 1.000 frascos.

5 Preparación: Se disuelve el ingrediente activo en una porción de agua para inyección; a continuación se añade una cantidad suficiente de cloruro de sodio con agitación para hacer que la solución sea isotónica. Se ajusta su pH hasta de 4,0 a 5,0. Se le añade carbón activado (250g) durante 30 min y a continuación se retira usando una barra de filtro. A continuación se embotella la mezcla en 250 ml/ después de la filtración con una barra de titanio hasta que la solución queda transparente, que a continuación se esteriliza en un baño de agua a 115 °C durante 30 min.

10 2. Sedimento. Formulación: Ingrediente activo, 50 g; almidón, 160 g; hidroxipropilcelulosa, 39 g; Polividona K30, c.s.; carboximetilalmidón de sodio, 10,4 g; estearato de magnesio, 1,3 g; para preparar 1000 comprimidos.

15 Preparación: Se disponen el ingrediente activo, almidón e hidroxipropilcelulosa en la tolva de un granulador de lecho fluidizado y se calentó hasta 38-60 °C. Se nebuliza la solución acuosa de polividona K30 para granular la mezcla. A continuación, se seca la mezcla a 55-60 °C durante 10 min, se mezcla con carboximetilalmidón de sodio y estearato de magnesio para la formación de comprimidos.

20 3. Cápsula. Formulación: Ingrediente activo, 50 g; lactosa, 194,4 g; carboximetilalmidón de sodio, 7,8 g; dióxido de silicio, 5,2 g; estearato de magnesio, 2,6 g.

Preparación: Se mezclan el ingrediente activo, lactosa, carboximetilalmidón de sodio y dióxido de silicio en el mezclador durante 1 h y a continuación se añade estearato de magnesio durante otros 10 min antes del llenado en el envoltorio plástico de gelatina.

25 **Ejemplo 7.** Toxicidad, pruebas de eficacia *in vitro* e *in vivo*

Se someten a prueba algunos de los compuestos anteriores *in vitro* o *in vivo* para determinar sus actividades antineoplásicas o antitumorales, así como pruebas de toxicidad celular usando los procedimientos SRB y MTT. Los efectos antineoplásicos *in vitro* sobre células HT-29 de cáncer humano y 3LL de cáncer de pulmón de ratón se resumen en la tabla 1, y los efectos sobre HT-99 de cáncer de colon humano trasplantado en ratones atímicos se resumen en la tabla 2.

Tabla 1 Actividades celulares antineoplásicas *in vitro*, CI<sub>50</sub> (µM)

Compuesto n.º	HT-29 de cáncer de colon humano	(3LL) de cáncer de pulmón de ratón
1	1,58	1,88

Tabla 2: Efectos sobre ratones atímicos trasplantados con HT-99 de cáncer de colon humano

Compuesto n.º	Dosificación (mg/kg)	Vía de adm.	Do/dn	CT (%)
GCT + 1	20 + 15	ip + iv	6/6	30
GCT	20	ip	6/6	45
Control negativo	solución	ip	06/05/09	

Notas: ip = inyección intraperitoneal  
iv: inyección intravenosa;  
GCT=gemcitabina

35 Los datos anteriores muestran que los compuestos de la presente invención tienen efectos antitumorales y también pueden potenciar los efectos antitumorales de otros compuestos tales como GCT, CPT-11, ADR.

40 **Ejemplo 5** Efectos antineoplásicos *in vitro* de XC608

*Materiales y procedimientos*

Líneas celulares: BGC-823 de cáncer de estómago humano de baja diferenciación, QGY-7701 de cáncer de hígado humano, 3LL de cáncer de pulmón de ratón.

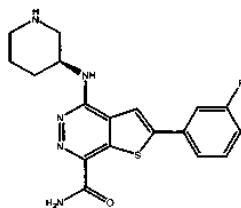
45 Medio de cultivo celular DMEM (GIBCO BRL), complementado con suero fetal bovino al 10 %, L-glutamina y antibióticos

Solución de tripsina al 0,25 % (Invitrogen)

Solución MTT: preparada usando solución de tampón fosfato hasta 5 mg/ml.

Solución de disolución: SDS 10 g, isobutanol 5 ml, y ácido sulfúrico concentrado 0,12 ml, añadidos en 100 ml de agua doblemente destilada.

Compuesto de prueba y procedimiento de preparación: El compuesto usado para esta prueba es XC608, que es un polvo blanquecino y tiene la siguiente fórmula:



XC608

Control: XC302, otro compuesto antineoplásico que se somete a ensayo clínico.

Detalles experimentales: Se mide la citotoxicidad de XC608 usando el procedimiento MTT. Específicamente: (1) cultivo celular: (i) se retiran las células congeladas del nitrógeno líquido, se descongelan rápidamente en un baño de agua a 37 °C; se añaden a 6 ml de medio de cultivo DMEM en tubos de centrifugado de 10 ml en condiciones estériles, se centrifuga a 1000 rpm durante 5 min., con el sobrenadante retirado. Al sedimento se le añaden 5-6 ml de medio DMEM, y se resuspende y se cultiva durante la noche a 37 °C. (ii) Se centrifugan las células, se lavan dos veces con PBS, y se tratan con 3-4 gotas de solución de tripsina durante aproximadamente 3 minutos a 37 °C, y se monitoriza bajo microscopio para garantizar que todas las células están separadas de las paredes del tubo de cultivo, y se resuspende en medio DMEM adicional. Se separan las células en recipientes de cultivo adicionales, y se repite el procedimiento anterior para garantizar que las células adheridas a las paredes no se vuelven excesivamente densas y las células suspendidas permanecen en un estado de crecimiento logarítmico. (2) Preparación del compuesto de prueba: Se disuelven XC608 y XC302 en PBS y se diluyen en serie hasta 1000, 100, 10, 1, 0,1 y 0,01 µg/ml. (3) Se añade la solución del compuesto de prueba preparado a los orificios de una placa de cultivo de 96 orificios, 10 µl/orificio, con dos orificios por unidad de concentración, y 10 µl de PBS como control. (4) Se prepara una suspensión de célula en fase logarítmica en un medio DMEM que contiene suero de bovino recién nacido al 10 % con una concentración celular de 2x10<sup>5</sup>/ml. (5) Se añaden 90 µl de suspensión celular a cada uno de los orificios que contienen el compuesto de prueba o el control. (6) Se cultivan las células a 37 °C bajo CO<sub>2</sub> al 5 % durante 48 horas. (7) se añaden 20 µl de 5 mg/ml de solución MTT, y se continúa con el cultivo durante 3-4 horas. (8) Se añaden 20 µl de solución de disolución y se cultiva durante la noche. Esto garantiza que los cristales de formazano se disuelven completamente. (9) Se mide la DO<sub>570</sub>. (10) Se calcula la tasa de supervivencia celular relativa por la fórmula: Tasa de supervivencia celular relativa = (DO grupo de tratamiento - DO fondo)/(DO grupo control PBS - DD fondo) x 100 %.

Resultados: Los resultados se muestran en la tabla 3 a continuación.

Tabla 3. Efectos inhibidores de X608 sobre la multiplicación de células cancerosas

Líneas celulares	CI <sub>50</sub> (µg/ml)	
	XC608	XC302
BGC-823	7,11	4,77
QGY-7701	5,14	6,69
3LL	1,05	2,96

**Ejemplo 6.** XC608 combinada con Gemcitabina inhibe más eficazmente el cáncer ovárico humano en ratones atímicos.

*Objetivos:* Usar el modelo de cáncer ovárico humano en ratones atímicos (BALB/c-nu) para someter a prueba el efecto de XC608, XC608-CI, AZD7762 combinado con Gemcitabina en el tratamiento de cáncer.

*Detalles experimentales*

5 1. *Compuesto de prueba y procedimiento de preparación:* el compuesto usado para esta prueba es XC608, mostrado anteriormente, y XC608-C1 es la sal de cloruro de XC608, 090208-1, también es un polvo blanquecino. AZD7762 es un polvo amarillo.

10 Todos los anteriores se disuelven en solución inyectable de glucosa al 5 % y se diluyen hasta las concentraciones adecuadas. Control: La Gemcitabina se obtiene de Jiangsu Haosen Pharmaceuticals Co., Ltd., también se disuelve hasta la concentración adecuada en solución salina.

15 *Animales y líneas celulares de cáncer:* Animales de prueba: 30 ratones atímicos BALB/c-nu, hembras, bw 18-20 g, suministrados por B&K Universal grupo Limited , Shanghai, China. Líneas celulares de cáncer: la línea celular ovárica humana es de una fuente comercial, trasplantada en ratones atímicos, que se mantuvieron por Shanghai Pharmaceutical Industry Research Institute.

20 *Procedimientos de prueba:* Los tumores de ratones atímicos que llevan cáncer ovárico se aíslan y se cortan en piezas de 1 mm<sup>3</sup>, que a continuación se implantan por vía subcutánea a los ratones atímicos de prueba. Después de 10 días, los tumores crecen hasta un tamaño de aproximadamente 0,1 cm<sup>3</sup>. Los ratones de prueba se dividen aleatoriamente en 5 grupos de seis animales.

Grupos de tratamiento: Gemcitabina 25 mg/kg + XC608-F 50 mg/kg, Gemcitabina 25 mg/kg + AZD7762 10 mg/kg, y control.

25 A partir de 11 días después del implante del tumor, a los animales se les administraron los compuestos i.v. Se pesaron los animales cada dos días, y se midió el volumen del tumor. Después de 24 días desde el comienzo de la administración del compuesto de prueba, se mataron los animales y se aislaron y se pesaron los tumores.

30 Se mide y se calcula el volumen de tumor (TV).

El volumen de tumor relativo (RTV) es  $V_t/V_0$ , en el que  $V_t$  es el volumen de tumor en el momento de la medida, mientras que  $V_0$  es el volumen del tumor cuando comenzó la administración del fármaco.

35 La actividad antitumoral de un compuesto se mide por la tasa de crecimiento del RTV, T/C (%), que se calcula como:  $T/C = RTC_{tratamiento}/RTC_{grupo\ control} \times 100\%$ .

Si TC(%) es más de 60, entonces se considera que el tratamiento no tiene ningún efecto. Sólo cuando TC es menos de 60, y la diferencia es estadísticamente significativa se considera que el tratamiento es eficaz.

40 Otra medida es la tasa de inhibición tumoral, que es  $IR (\%) = (\text{peso de tumor del grupo de control} - \text{peso de tumor del grupo de tratamiento})/\text{peso de tumor del grupo de control} \times 100 \%$ .

Resultados: Los resultados se resumen en las dos tablas a continuación:

45 Tabla 4-1. Efectos de XC608, y XC608-C1 (i.v.) combinadas con Gemcitabina en el tratamiento de ratones atímicos trasplantados con cáncer ovárico humano (peso corporal)

Grupo	Dosificación (mg/kg)	Recuento animal		Peso corporal (con tumor) (g)		Peso corporal (sin tumor) (g)
		d0	dn	d0	dn	
Gemcitabina	25	6	6	21,38	25,50	22,65
G+XC608CI	25+50	6	6	20,50	23,57	21,40
G+608	25+50	6	6	20,70	23,48	22,03
G+AZD	25+10	6	6	20,98	23,57	22,03
Control		6	6	20,63	25,88	22,33

50

Tabla 4-2. Efectos de XC608, y XC608-Cl (i.v.) combinadas con Gemcitabina en el tratamiento de ratones atímicos trasplantados con cáncer ovárico humano (volumen y peso de tumor)

Grupo	TV		RTV	T/C	Peso de tumor	RI tumor	RI tumor /Gemcitabina
	mm <sup>3</sup>			%	g	%	
	d0	Dn	dn	Dn	dn	dn	
Gemcitabina	143,67 ± 44,38	1734,05 ± 586,49	12,07	82,27	2,85	19,72	
G + XC608Cl	140,95 ± 47,93	1173,39 ± 511,44	8,32	56,75*	2,17	38,97	23,98
G + 608	145,00 ± 50,38	969,22 ± 330,78	6,68	45,56*	1,45	59,15	49,12
G+AZD	144,94 ± 68,50	980,01 ± 272,98	6,76	46,09**	1,53	56,81	46,20
Control	147,72 ± 63,19	2167,02 ± 545,18	14,67	100,00	3,55		

Nota: \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; i.v. = inyección intravenosa

5 En la figura 1 se muestra una representación gráfica de los resultados anteriores. Ejemplo 7: Efectos antineoplásicos de XC608 y su mecanismo

1. Sumario

10 Los experimentos a continuación examinaron el mecanismo de acción y el efecto de sensibilización de XC608 sobre fármacos antitumorales citotóxicos, así como sus efectos terapéuticos cuando se combinan con 5-fluorouracilo (5-Fu) y adriamicina (ADR) en ratones atímicos con cáncer de mama y cáncer de colon humano trasplantado. Mecanismo de acción de XC608

15 XC608 inhibe claramente las actividades de Chk1 y Chk2, pero no tiene efecto evidente sobre c-met, HER2, o EGFR; elimina la fosforilación de cdc2 inducida por topoisomerasa I, conduce a las células con daños en el ADN para que continúen entrando en el ciclo celular; y potencia claramente la reacción de las células a los fármacos que provocan los daños en el ADN. Estos resultados, tomados conjuntamente, demuestran que XC608 es un inhibidor de Chk1 específico, y que sensibilizan otros fármacos antineoplásicos inhibiendo el procedimiento de reparación de ADN.

20 2. Efectos de XC608 sobre la sensibilización de fármacos antineoplásicos citotóxicos en el nivel celular

25 Se evalúan los efectos de XC608 y AZD7762 sobre varios fármacos antitumorales citotóxicos usando cultivos celulares. Se estudian los fármacos antitumorales citotóxicos incluyendo cisplatino (DDP), paclitaxel, pemetrexed, 5-fluorouracilo (5-fu), vinorelbina, oxaliplatino, y gemcitabina. Los resultados muestran que XC608 tiene fuertes efectos de sensibilización sobre gemcitabina, DDP, 5-fu y pemetrexed, siendo el de gemcitabina el mayor, que alcanza más de 20 veces.

30 3. Pruebas en animales que muestran los efectos de XC608 sobre la sensibilización de fármacos antineoplásicos citotóxicos

35 Se someten a prueba ratones atímicos trasplantados con HT-29 y SW-620 de cáncer de colon humano y MDA-MB-231 de cáncer de mama usando XC608 sola y en combinación con ADR y 5-fu. Los resultados muestran que XC608 tiene efectos de sensibilización significativos sobre los efectos de tratamiento de ADR y 5-fu sobre HT-29 y SW-620.

4. Conclusión

40 XC608 es un inhibidor de Chk1 específico; sensibiliza las células cancerosas para potenciar los efectos de otros fármacos antineoplásicos citotóxicos inhibiendo la reparación de daños en el ADN. Dichos efectos de sensibilización de XC608 están fuertemente correlacionados con los tipos de fármacos antineoplásicos citotóxicos así como los tipos de líneas celulares cancerosas. II. Mecanismo de acción de XC608

45 1. Sumario Se estudian los efectos de XC608 sobre la actividad de las proteína cinasas Chk1, Chk2 y c-met, y sobre células que entran en el ciclo celular después de daños en el ADN inducidos por fármacos y reacciones celulares a los daños en el ADN. XC608 inhibe fuertemente las actividades de Chk-1 y Chk-2, reduce fosforilación de cdc-2 inducida por topoisomerasa I y conduce a las células a que continúen entrando en el ciclo celular. Al mismo tiempo, XC608 incrementó claramente la susceptibilidad celular a daños en el ADN. Estos resultados muestran que XC608 inhibe la reparación de daños en el ADN.

2. Materiales y procedimientos

XC608 y AZD-7762 son polvo blanquecino, con un número de lote de 090309-2 y 081107, respectivamente. Se disolvieron bien en DMSO en solución madre 10 mM.

Se suministró el kit K-LISA™ Chk-1/Chk2 Activity Kit por Calbiochem (n.º Cat. CBA020). Chk1 y Chk2 son de Upstate Biotechnology, Inc., y C-Met, HER2, EGFR son de Sigma. El péptido Chk (KKKVSRSGLYRSPSM-PENLNRPR) (SEQ ID NO: 1) es de Cell Signaling, Inc., (Beverly, MA, EE. UU.), y se almacena a -70 °C.

La línea celular HT29 se adquiere de ATCC, y se cultiva a 37 °C con CO<sub>2</sub> al 5 % en medio 5A de Mycoy (GIBCO, Grand Island, NY, EE. UU.), que contiene suero bovino al 10 %, L-glutamina, penicilina (100 IU/ml) y estreptomycin (100 µg/ml).

Medidas de actividad de cinasas: Se añaden la enzima, muestra, péptido Chk, ATP 5 µM, y tampón de reacción a los orificios de placas de reacción biotiniladas. Después de que se termina la reacción con un tampón de detención, se descarga el contenido, se reemplaza con 100 µl/orificio de anticuerpo serina cinasa, para detectar la fosforilación, y se añade anticuerpo de cabra anti-IgG de conejo marcado con HRP y se incuba a temperatura ambiente durante 1 hora. Se lleva a cabo la reacción TMB para determinar la fosforilación del sustrato, con los controles apropiados. Se mide la DO450 usando VERSAmax (Sunnyvale, CA, EE. UU.). Se calcula la tasa de inhibición como sigue: Tasa de inhibición (I) = (valor DO orificio reacción - valor DO de control sin enzima)/(valor DO de control negativo - valor DO de control sin enzima) x 100 %. 4. Resultados

4.1 Efectos de XC608 sobre proteína cinasas

Estos resultados se muestran en la tabla 5, que muestra que XC608 tiene un efecto inhibitor fuerte sobre las proteína cinasas.

Tabla 5 Efectos de XC608 sobre las actividades de proteína cinasas

Fármacos	Inhibición (%) (Media ± DE)				
	Chk1	Chk2	c-Met	HER2	EGFR
XC608 (1 µM)	85 ± 11,1	90,6 ± 13,2	15,96	10,2 ± 1,3	15,9 ± 5,3
AZD7762 (100 nM)	80,6 ± 11,3	99 ± 0	/	/	/

III. Efectos de XC608 sobre la sensibilización de células cancerosas para fármacos antineoplásicos citotóxicos

1. Sumario

Se evalúan los efectos de XC608 y AZD7762 sobre varios fármacos antitumorales citotóxicos. Se estudian los fármacos antitumorales citotóxicos incluyendo cisplatino (DDP), paclitaxel, pemetrexed, 5-fluorouracilo (5-fu), vinorelbina, oxaliplatino, y gemcitabina. Los resultados muestran que XC608 tiene fuertes efectos de sensibilización sobre gemcitabina, DDP, 5-fu y pemetrexed, siendo el de gemcitabina el mayor, que alcanza más de 20 veces.

2. Objetivos

Se evalúan los efectos de XC608 en la sensibilización de células para varios fármacos antitumorales citotóxicos, y se comparan con los de un sensibilizador conocido AZD7762.

3. Materiales y procedimientos

3.1 Compuestos de prueba: XC608 y AZD-7762 son polvo blanquecino, con un número de lote de 090309-2 y 081107, respectivamente.

3.2 Líneas celulares: Línea celular HT-29 (de ATCC).

3.3 Equipo/Dispositivos: 5a de McCoy, de Gibco BRL; suero fetal bovino de JRH; 5a de McCoy, de Gibco BRL; suero fetal bovino, de JRH Biosciences, Australia, espectrofotómetro de microplacas SPECTRA MAX 190, de Molecular Device ; SRB de Sigma.

4. Protocolo de prueba: Se midieron los efectos de los compuestos sobre la multiplicación de células cancerosas usando Sulforrodamina B (SRB). Específicamente, se inoculan células en fase logarítmica en los orificios de placas de cultivo de 96 orificios, se deja que crezcan usando el procedimiento de adhesión a las paredes a 37 °C bajo CO<sub>2</sub> al 5 %. Se añadió el compuesto de prueba en 9 concentraciones diferentes, cada concentración por duplicado, con

controles sin células y agua en solución salina apropiados. Se cultivan las células durante 72 horas adicionales, y se fijan con TCA, y se añade SRB para tinción, y se lava y se seca con aire. Después de añadir la solución Tris, se mide el valor de DO a 510 nm usando un Spectra Max 190. Se calcula la tasa de inhibición de acuerdo con la fórmula a continuación:

5 
$$\text{Tasa de inhibición} = (\text{DO}_{\text{control}} - \text{DO}_{\text{fármaco}}) / \text{DO}_{\text{control}} \times 100 \%$$

Se calcula la  $CI_{50}$  en base a las proporciones anteriores.

10 5. Resultados Los efectos de sensibilización de XCCS650(S) y AZD7762 se muestran en la tabla 6. Consistente con los resultados anteriores, XC608 tiene fuertes efectos de sensibilización sobre gemcitabina, DDP, 5-fu y pemetrexed, siendo el de gemcitabina el mayor, que alcanza más de 20 veces.

15 Tabla 6 Efectos de sensibilización de XC608 sobre fármacos antitumorales citotóxicos

Fármacos	$CI_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )			
	Fármaco solo	+1 $\mu\text{M}$ XC608	+10 nM AZD7762	+100 nM AZD7762
DDP	7,7	1,3	5,2 (1,6)	1,3
Paclitaxel	0,003	0,002(1,0)	0,003(1,0)	0,005 (1,1)
5-Fu	1,1	0,2	1,0 (1,1)	0,3
oxaliplatino	1,6	1,3 (1,2)	2,5 (0,7)	1,1 (1,4)
Gemcitabina	0,07	0.003	0,03 (2,0)	0.005

Conclusión: XC-608 es eficaz en la sensibilización de células cancerosas para fármacos antineoplásicos citotóxicos DDP, 5-Fu, oxaliplatino, y Gemcitabina.

20 Ejemplo 8: Efectos antineoplásicos de XC620 y su mecanismo

Se sintetiza un compuesto idéntico a XC608 excepto porque en la fórmula  $Y = O$  y se designa como XC620. También se someten a prueba el mecanismo de acción y el efecto de sensibilización de XC620 sobre fármacos antitumorales citotóxicos, así como sus efectos terapéuticos cuando se combina con 5-fluorouracilo (5-Fu) y adriamicina (ADR) sobre ratones atímicos con cáncer de mama y cáncer de colon trasplantado, siguiendo los protocolos descritos anteriormente. Los resultados muestran que XC620 también inhibe claramente las actividades de Chk1 y Chk2, y es un inhibidor de Chk1 específico, y que sensibiliza otros fármacos antineoplásicos inhibiendo el proceso de reparación de ADN.

30 Los efectos de XC620 sobre la sensibilización de fármacos antineoplásicos citotóxicos en el nivel celular son comparables a XC608. También tiene un efecto similar, aunque no tan eficaz, sobre la sensibilización de líneas celulares tumorales para fármacos antitumorales citotóxicos incluyendo cisplatino (DDP), paclitaxel, pemetrexed, 5-fluorouracilo (5-fu), vinorelbina, oxaliplatino y gemcitabina se estudian.

35 Por tanto, XC620 también es un inhibidor de Chk1 específico; sensibiliza las células cancerosas para potenciar los efectos de otros fármacos antineoplásicos citotóxicos inhibiendo la reparación de daños en el ADN.

Ejemplo 9: Efectos antineoplásicos de XC655 y su mecanismo

40 Se sintetiza un compuesto idéntico a XC608 excepto porque en la fórmula  $Y = S$  y se designa como XC620. También se someten a prueba el mecanismo de acción y el efecto de sensibilización de XC655 sobre fármacos antitumorales citotóxicos, así como sus efectos terapéuticos cuando se combina con 5-fluorouracilo (5-Fu) y adriamicina (ADR) sobre ratones atímicos con cáncer de mama y cáncer de colon trasplantado, siguiendo los protocolos descritos anteriormente. Los resultados muestran que XC655 también inhibe claramente las actividades de Chk1 y Chk2, y es un inhibidor de Chk1 específico, y que sensibiliza otros fármacos antineoplásicos inhibiendo el proceso de reparación de ADN.

45 Los efectos de XC655 sobre la sensibilización de fármacos antineoplásicos citotóxicos en el nivel celular son comparables a XC608. También tiene un efecto similar, aunque no tan eficaz, sobre la sensibilización de líneas celulares tumorales para fármacos antitumorales citotóxicos incluyendo cisplatino (DDP), paclitaxel, pemetrexed, 5-fluorouracilo (5-fu), vinorelbina, oxaliplatino y gemcitabina se estudian. Por tanto, XC655 también es un inhibidor de Chk1 específico; sensibiliza las células cancerosas para potenciar los efectos de otros fármacos antineoplásicos citotóxicos inhibiendo la reparación de daños en el ADN.

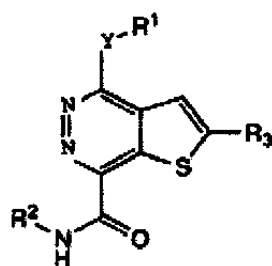
La descripción y ejemplos anteriores se han expuesto simplemente para ilustrar la invención y no se pretende que sean limitantes. Todas las referencias citadas a continuación en el presente documento y/o enumeradas a continuación se incorporan expresamente en el presente documento por referencia.

5



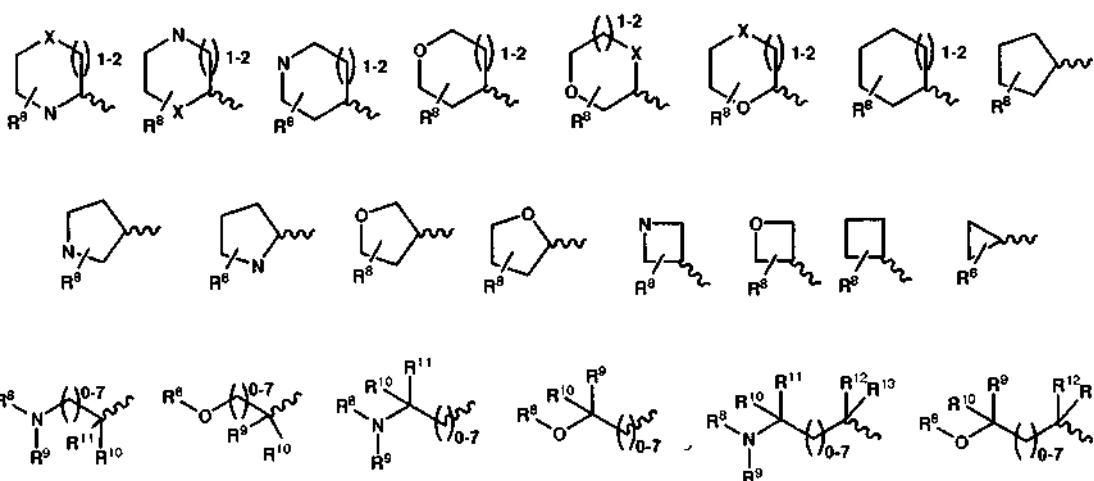
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:



(I)

en la que Y = NH, R<sup>1</sup> = seleccionado de los siguientes grupos:



en el que X = CH<sub>2</sub>, NH, S u O,

R<sup>8</sup> = -H, -NH<sub>2</sub>, -OH, -N(R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>), -C(R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>)<sub>1-7</sub>NR<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, -C(R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>)<sub>1-7</sub>OR<sup>6</sup>, o N(R<sup>4</sup>)NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>, en el que R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> = H, alquilos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilos C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, con o sin heteroátomos nucleares, tales como O, S, y N, arilos (aromáticos sustituidos o bien insustituidos), o heteroaromáticos (heteroaromáticos sustituidos o bien insustituidos),

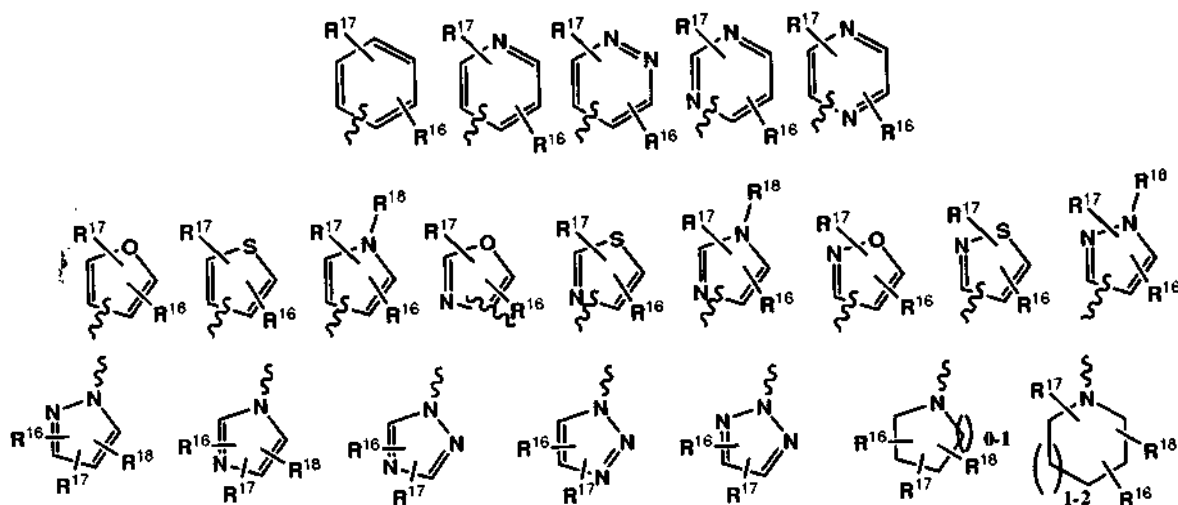
R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, y R<sup>13</sup> = H, alquilos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilos C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> con o sin heteroátomos nucleares tales como O, S o N, arilos (aromáticos sustituidos o bien insustituidos), o heteroaromáticos (heteroaromáticos sustituidos o bien insustituidos),

R<sup>2</sup> se selecciona de un grupo que consiste en H, OH, NH<sub>2</sub>, OR<sup>14</sup>, NR<sup>14</sup>R<sup>15</sup>, alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, arilalquilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, alquenilo, y alquinilo, en el que R<sup>15</sup> = H, alquilos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilos C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> con o sin heteroátomos nucleares tales como O, S, N, arilos (aromáticos sustituidos o bien insustituidos), o heteroaromáticos (heteroaromáticos sustituidos o bien insustituidos),

y

R<sup>3</sup> se selecciona de un grupo que consiste en H, alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, arilalquilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, alquenilo, y alquinilo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sup>3</sup> se selecciona de los siguientes grupos:



5 en el que R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup>, y R<sup>18</sup> se seleccionan de los siguientes grupos: H; heteroátomo, tal como F, Cl, Br, I; alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>; cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> con o sin sustituciones, en el que una sustitución se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>; cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, arilos, heteroarilos; -OR<sup>19</sup>; -SR<sup>19</sup>; -NR<sup>19</sup>R<sup>20</sup>; -S(O)R<sup>19</sup>; -S(O)<sub>2</sub>R<sup>19</sup>; -S(O)<sub>2</sub>NR<sup>19</sup>R<sup>20</sup>; -C(O)NR<sup>19</sup>R<sup>20</sup>; -N(R<sup>19</sup>)C(O)R<sup>20</sup>; -N(R<sup>19</sup>)S(O)<sub>2</sub>R<sup>20</sup>; -N(R<sup>19</sup>)C(O)N(R<sup>20</sup>R<sup>21</sup>); N(R<sup>19</sup>)C(O)OR<sup>20</sup>; arilo con o sin sustitución, heteroarilo con o sin sustitución, arilalquilo con o sin sustitución, heterociclilo con o sin sustitución, heterociclilalquilo con o sin sustitución; alqueno con o sin sustitución, y alquino con o sin sustitución;

10 en el que R<sup>19</sup>, R<sup>20</sup>, y R<sup>21</sup> se eligen independientemente de H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>; cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, arilo con o sin sustitución, alquilarilo con o sin sustituciones, heteroarilo con o sin sustitución, o R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup>, y R<sup>21</sup> pueden ser parte de un anillo condensado que contiene 0-3 heteroátomos seleccionados de N, O, y S.

15 3. Un compuesto de la reivindicación 1 o 2, seleccionado del grupo que consiste en:

- 20 amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 25 amida del ácido 2-((4-fluorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 30 amida del ácido 2-((4-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 35 amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(2-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(2-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 40 amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(S-3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(R-3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
 45 amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-piperidin-amino),

amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metilcarboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-imetilcarboxílico,  
5 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metilcarboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-fluorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
10 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
15 amida del ácido 2-((4-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
20 amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
25 amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(2-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(S-3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
30 amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(R-3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metilcarboxílico,  
35 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno [2,3-d]piridazin-7-N-metilcarboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
40 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metilcarboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
45 amida del ácido 2-(4-fluorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-(4-clorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
50 amida del ácido 2-(4-bromofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-fluorofenil)-4-(3-a-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-a-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
55 amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-(3-a-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-fluorofenil)-4-(3-a-tiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-a-tiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
60 amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-(3-a-tiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-2-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
65 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-4-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,

amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-5-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
5 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-R-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-3-piridin-amino)-tieno [2, 3-d] piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
10 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-3-tiapiiran-amino)-tieno [2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-3-tiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
15 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-3-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-3-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
20 amida del ácido 2-((4-fluorofenil)-4-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
25 amida del ácido 2-((4-fluorofenil)-4-3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
30 amida del ácido 2-((4-fluorofenil)-4-3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
35 amida del ácido 2-((4-bromofenil)-4-3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-2-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(S-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
40 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(R-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
45 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
50 amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((4-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
55 amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-bromofenil)-4-(3-piperidinamino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
60 amida del ácido 2-((3-fluorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
65 amida del ácido 2-((3-bromofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,

amida del ácido 2-((3-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
5 amida del ácido 2-((3-bromofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(2-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
10 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(2-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(S-3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(R-3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
15 amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-piperidin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metilcarboxílico,  
20 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotiapiiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,Ndimetil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metilcarboxílico,  
25 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-fluorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
30 amida del ácido 2-((3-bromofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
35 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-fluorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
40 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-bromofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
45 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(2-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(S-3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
50 amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(R-3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metilcarboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidropirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetilcarboxílico,  
55 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metilcarboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrotieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
60 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metilcarboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tetrahidrofuran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
amida del ácido 2-(3-fluorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
65 amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,

amida del ácido 2-((3-bromofenil)-4-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
5 amida del ácido 2-((3-fluorofenil) -4-3-a-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-3-a-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-bromofenil)-4-3-a-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
10 amida del ácido 2-((3-fluorofenil) -4-3-a-tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-3-a-tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
15 amida del ácido 2-((3-bromofenil)-4-3-a-tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-2-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-4-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
20 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-5-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-R-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
25 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-3-piridin-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-3-tiapiran-amino)-tieno [2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
30 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-3-tiapiran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-3-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
35 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-3-piran-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-fluorofenil) -4-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
40 amida del ácido 2-((3-bromofenil)-4-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-fluorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
45 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-bromofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
50 amida del ácido 2-((3-fluorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-(3-bromofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
55 amida del ácido 2-(3-clorofenil)-4-(2-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(S-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(R-3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-carboxílico,  
60 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,  
amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-pirrol-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,  
65 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico,

amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-tieno-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico,

amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N-metil-carboxílico, y

5 amida del ácido 2-((3-clorofenil)-4-(3-furan-amino)-tieno[2,3-d]piridazin-7-N,N-dimetil-carboxílico.

4. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, para su uso en el tratamiento de cáncer.

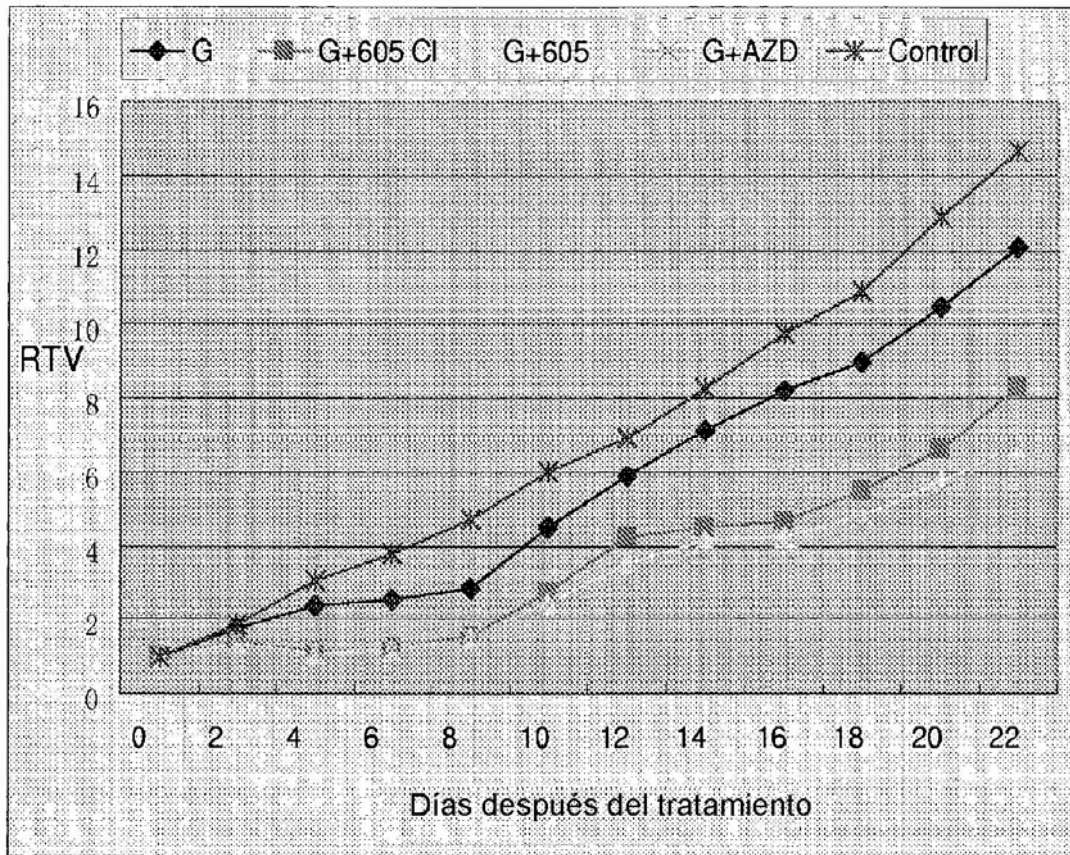


Figura 1