

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 525 866**

51 Int. Cl.:

**A01N 43/90** (2006.01)

**A61K 31/505** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.07.2011** **E 11815012 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.10.2014** **EP 2600719**

54 Título: **8-alkuil-7-oxo-7,8-dihidropirido [2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilos sustituidos en 2 y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**05.08.2010 US 370946 P**

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

**30.12.2014**

73 Titular/es:

**TEMPLE UNIVERSITY - OF THE  
COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER  
EDUCATION (100.0%)  
Broad Street and Montgomery Avenue  
Philadelphia, PA 19122, US**

72 Inventor/es:

**REDDY, E., PREMKUMAR y  
REDDY, M. V., RAMANA**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 525 866 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

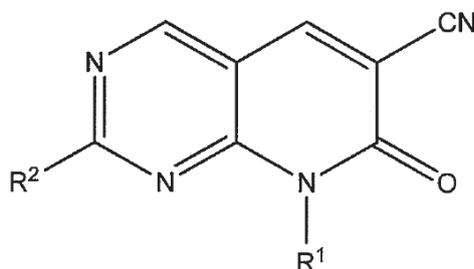
8-alkil-7-oxo-7,8-dihidropirido [2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilos sustituidos en 2 y usos de los mismos

La invención se refiere a compuestos, métodos para su preparación, composiciones que los incluyen para el tratamiento de trastornos proliferativos celulares, que incluyen, pero sin limitación, cáncer.

5 Los trastornos proliferativos celulares tales como el cáncer se encuentran entre las causas más comunes de muerte en los países desarrollados. Respecto a enfermedades para las cuales existen tratamientos, tales como el cáncer, y a pesar de los continuos avances, los tratamientos existentes tienen efectos secundarios indeseables y una eficacia limitada. La identificación de nuevos fármacos eficaces contra trastornos proliferativos celulares, entre ellos cáncer, es un foco continuo de investigación médica.

10 Se ha hallado que ciertos compuestos y composiciones son útiles para el tratamiento de cáncer y otros trastornos proliferativos celulares. Los compuestos biológicamente activos de la invención son 8-alkil-7-oxo-7,8-dihidropirido [2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilos sustituidos en 2.

En ciertas realizaciones, se proporcionan compuestos de acuerdo con la Fórmula I, o una sal de los mismos,



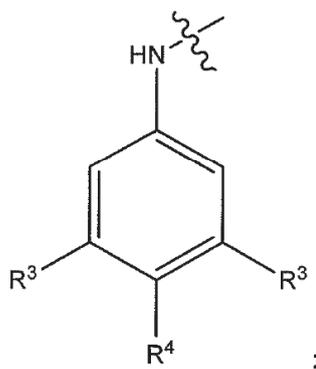
Fórmula I

15

En un compuesto de Fórmula I,

$R^1$  es alquilo ( $C_1-C_6$ ) o cicloalquilo ( $C_3-C_8$ );

$R^2$  es 4-(4-metilpiperazin-1-il)anilino, 4-morfolinoanilino, o bien



20  $R^3$  es, de manera independiente en cada aparición, alcoxi ( $C_1-C_6$ ); y

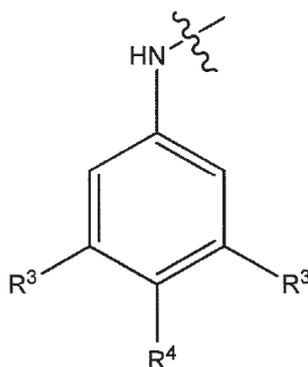
$R^4$  es H o alcoxi ( $C_1-C_6$ ).

En realizaciones particulares,  $R^2$  es 4-(4-metilpiperazin-1-il)anilino.

En algunas realizaciones,  $R^1$  es cicloalquilo ( $C_3-C_8$ ).

En realizaciones particulares,  $R^1$  es ciclopentilo o ciclohexilo.

25 En algunas realizaciones,  $R^2$  es



En realizaciones particulares, R<sup>1</sup> es ciclopentilo.

En ciertas realizaciones, cada aparición de R<sup>3</sup> es metoxi.

En algunas realizaciones, R<sup>4</sup> es hidrógeno.

5 En algunas realizaciones, R<sup>4</sup> es metoxi.

En algunas realizaciones, R<sup>2</sup> es 4-morfolinoanilino.

En ciertas realizaciones, R<sup>1</sup> es ciclopentilo.

10 En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula I está seleccionado del grupo consistente en 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclohexil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclopentil-2-((3,5-dimetoxifenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclopentil-7-oxo-2-((3,4,5-trimetoxifenil)amino)-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo; y 8-ciclopentil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo.

15 En realizaciones particulares, el compuesto de acuerdo con la Fórmula I es 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo o una sal del mismo.

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

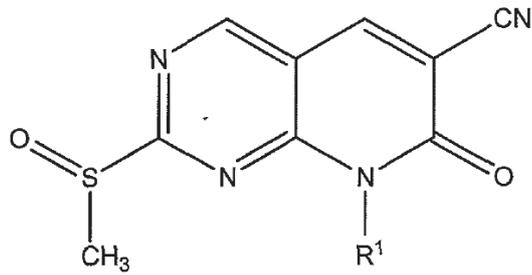
20 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica incluye un compuesto de Fórmula I seleccionado del grupo consistente en 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclohexil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclopentil-2-((3,5-dimetoxifenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclopentil-7-oxo-2-((3,4,5-trimetoxifenil)amino)-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclopentil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

25 En ciertas realizaciones, el trastorno proliferativo celular está seleccionado del grupo consistente en hemangiomatosis en el recién nacido, esclerosis múltiple progresiva secundaria, aterosclerosis, enfermedad mielodegenerativa progresiva crónica, neurofibromatosis, ganglioneuromatosis, formación de queloides, enfermedad ósea de Paget, enfermedad fibroquística de la mama, fibroides uterinos, enfermedad de Peyronie, enfermedad de Dupuytren, restenosis, enfermedad mamaria proliferativa benigna, hiperplasia prostática benigna, trastorno proliferativo linfocelular vinculado a X, trastorno proliferativo linfocelular posterior a trasplante, degeneración macular, retinopatías, vitreorretinopatía proliferativa y trastornos proliferativos linfocelulares no cancerosos.

30 En realizaciones particulares, el trastorno proliferativo celular es cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer está seleccionado del grupo consistente en cáncer de ovario; cáncer cervical; cáncer de mama; cáncer de próstata; cáncer testicular, cáncer de pulmón, cáncer renal; cáncer colorrectal; cáncer de piel; cáncer de cerebro; leucemia, que incluye leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoide aguda y leucemia linfoide crónica.

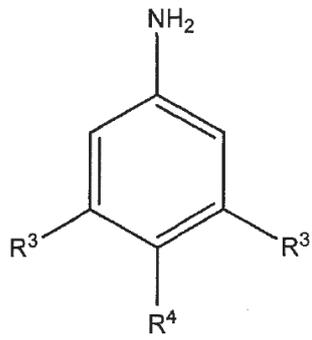
35 En algunas realizaciones, las células cancerosas son células tumorales. En realizaciones particulares, las células tumorales están seleccionadas del grupo consistente en células de cáncer de ovario, cervical, uterino, vaginal, de mama, de próstata, testicular, de pulmón, renal, colorrectal, de estómago, de glándula suprarrenal, de boca, esofágico, hepático, de vesícula biliar, óseo, linfático, de ojo, de piel y de tumor cerebral.

40 La presente invención proporciona además un procedimiento para preparar un compuesto de acuerdo con la Fórmula I. En algunas realizaciones, el procedimiento comprende tratar un compuesto de Fórmula II



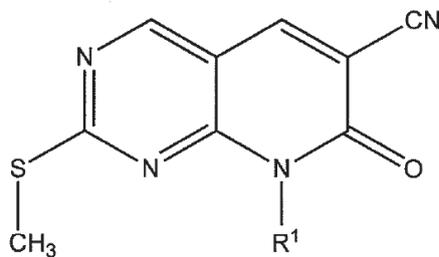
Fórmula II

con una amina seleccionada del grupo consistente en 4-(4-metilpiperazin-1-il)anilina, 4-morfolinoanilina, y



- 5 en donde R<sup>1</sup> es alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) o cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>); R<sup>3</sup> es, de manera independiente en cada aparición, alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); y R<sup>4</sup> es H o alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>). El procedimiento incluye además obtener un compuesto de acuerdo con la Fórmula I.

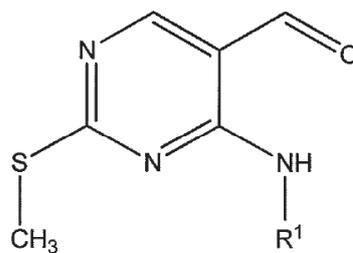
En algunas realizaciones, se prepara un compuesto de Fórmula II haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula III



Fórmula III

- 10 con un oxidante.

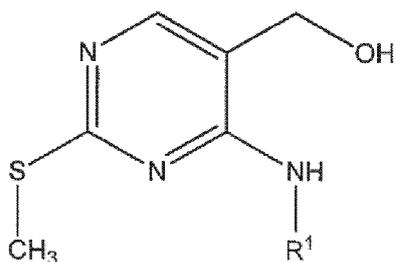
En algunas realizaciones, se prepara un compuesto de Fórmula III haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula IV



Fórmula IV

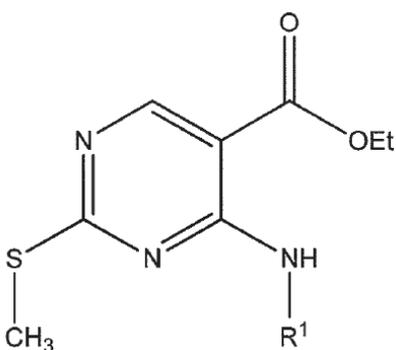
con ácido 2-cianoacético en presencia de bencilamina y ácido acético.

- 15 En algunas realizaciones, se prepara un compuesto de Fórmula IV oxidando selectivamente un compuesto de Fórmula V



Fórmula V.

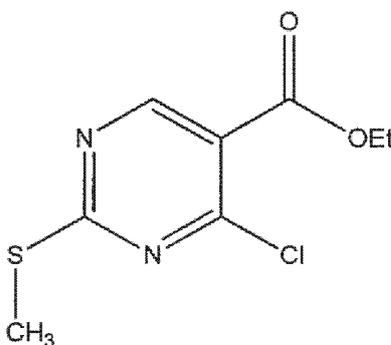
En algunas realizaciones, se prepara un compuesto de Fórmula V reduciendo un compuesto de Fórmula VI



Fórmula VI.

5

En realizaciones adicionales, se prepara un compuesto de Fórmula VI haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula VII



Fórmula VII

10 con una amina que tiene la fórmula  $\text{NH}_2\text{R}^1$ .

#### Descripción detallada de la invención

Se cree que los compuestos y composiciones de la invención inhiben selectivamente la proliferación de células cancerosas, y suprimen diversos tipos de células tumorales. Los compuestos de la invención inhiben diversas proteína-cinasas. Aunque se ha publicado de compuestos similares que inhiben actividad de cinasa (véase, por ejemplo, el documento US 6,498,163), los compuestos de la presente invención tienen un perfil de inhibición de cinasa sorprendentemente diferente e inhiben una gama más amplia de proteína-cinasas.

Se cree que los compuestos de la invención inhiben la proliferación de células tumorales y, respecto a algunos compuestos, inducen muerte celular. La muerte celular es consecuencia de la inducción de apoptosis. Se cree que los compuestos son eficaces contra una amplia gama de tipos de tumor, que incluyen, pero sin limitación, los siguientes: cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer renal, cáncer colorrectal, cáncer de cerebro y leucemia.

También se cree que los compuestos son útiles en el tratamiento de trastornos proliferativos celulares no cancerosos, que incluyen, pero sin limitación, los siguientes: hemangiomatosis en el recién nacido, esclerosis

múltiple progresiva secundaria, enfermedad mielodegenerativa progresiva crónica, neurofibromatosis, ganglioneuromatosis, formación de queloides, enfermedad ósea de Paget, enfermedad fibroquística de la mama, fibroides uterinos, enfermedad de Peyronie, enfermedad de Dupuytren, reestenosis y cirrosis.

### Breve descripción de los dibujos

- 5 El precedente compendio, así como la siguiente descripción detallada de las realizaciones, se entenderán mejor cuando se lean conjuntamente con los dibujos adjuntos. Con fines de ilustración, se muestran en los dibujos algunas realizaciones que pueden ser preferibles.

10 La Figura 1 es un gráfico que muestra la eficacia de 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo en la inhibición del crecimiento de fragmentos de tumor Colo-205 implantados en hembras de ratón carentes de sistema inmunitario (desnudas) atímicas.

#### I. Definiciones

##### A. Generalidades

Tal como se utilizan en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el", "la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente otras cosa.

- 15 Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos "tratar" y "tratamiento" se usan indistintamente, y se pretende que indiquen un aplazamiento del desarrollo de un trastorno y/o una disminución de la gravedad de los síntomas que se esperaría o se espera que se desarrollen. Los términos incluyen además la mejora de síntomas existentes, la prevención de síntomas adicionales, y la mejora o prevención de las causas metabólicas subyacentes a los síntomas.

- 20 Tal como utiliza en la presente memoria, "individuo" (como en el sujeto del tratamiento) significa mamíferos y no mamíferos. Los mamíferos incluyen, por ejemplo, seres humanos; primates no humanos, por ejemplo simios y monos; ganado vacuno; caballos; ovejas; y cabras. Los no mamíferos incluyen, por ejemplo, peces y aves.

- 25 La expresión "cantidad eficaz", cuando se usa para describir la terapia para un individuo que padece un cáncer u otro trastorno proliferativo celular, se refiere a la cantidad de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I que inhibe el crecimiento anormal o proliferación, o bien, como alternativa, induce apoptosis de células cancerosas, preferiblemente células tumorales, dando como resultado un efecto citotóxico terapéuticamente útil y selectivo sobre células proliferativas.

- 30 El término "trastorno proliferativo celular" significa un trastorno en el cual se produce proliferación celular no deseada de uno o más subconjuntos de células en un organismo multicelular. En algunos de tales trastornos, el organismo produce células a un ritmo anormalmente acelerado.

##### B. Química

En los siguientes párrafos, algunas de las definiciones incluyen ejemplos. Se pretende que los ejemplos sean ilustrativos y no limitantes.

- 35 El término "alquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa, a menos que se indique otra cosa, un hidrocarburo de cadena lineal, ramificada o cíclica (cicloalquilo) que tiene el número de átomos de carbono que se indica (es decir, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> significa de uno a seis carbonos) e incluye grupos de cadena lineal, ramificada o cíclicos. Los ejemplos incluyen: metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terc.-butilo, pentilo, neopentilo, hexilo, ciclohexilo y ciclopropilmetilo. Los grupos alquilo preferidos son alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), en particular metilo, etilo e isopropilo. Los grupos cicloalquilo preferidos incluyen cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>), siendo los grupos cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>) más preferidos ciclopentilo y ciclohexilo.

El término "alcoxi", empleado sólo o en combinación con otros términos significa, a menos que se indique otra cosa, un grupo alquilo que tiene el número de átomos de carbono que se indica, tal como se ha definido antes, conectado al resto de la molécula a través de un átomo de oxígeno, tal como, por ejemplo, metoxi, etoxi, 1-propoxi, 2-propoxi (isopropoxi) y los homólogos e isómeros superiores. Son preferidos alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), especialmente etoxi y metoxi.

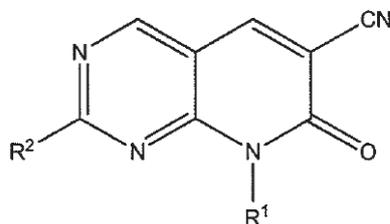
- 45 El término "ciano" se refiere a un grupo -C≡N.

Los términos "halo" o "halógeno" por sí mismos o como parte de otro sustituyente significan, a menos que se indique otra cosa, un átomo monovalente de flúor, cloro, bromo o yodo, preferiblemente de flúor, cloro o bromo, más preferiblemente de flúor o cloro.

- 50 El término "aromático" se refiere generalmente a un carbociclo o heterociclo que tiene uno o más anillos poliinsaturados que tienen carácter aromático (es decir, con (4n + 2) electrones π (pi) deslocalizados, donde n es un número entero).

## II. Compuestos de la invención

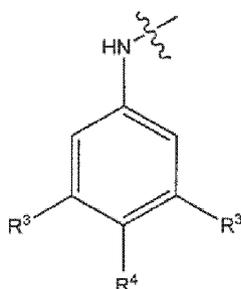
Los compuestos de la invención incluyen los compuestos de Fórmula I, así como sales de los mismos:



Fórmula I.

- 5 En la Fórmula I, R<sup>1</sup> es alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) o cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>). En realizaciones preferidas, R<sup>1</sup> puede ser ciclopentilo o ciclohexilo, muy preferiblemente ciclopentilo.

R<sup>2</sup> es 4-(4-metilpiperazin-1-il)anilino, 4-morfolinoanilino, o bien



- 10 R<sup>3</sup> es, de manera independiente en cada aparición, alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), preferiblemente metoxi o etoxi, muy preferiblemente metoxi.

R<sup>4</sup> es H o alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>). Cuando R<sup>4</sup> es alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), preferiblemente es o bien etoxi o bien metoxi, muy preferiblemente metoxi.

En algunas realizaciones, cada aparición de R<sup>3</sup> es metoxi y R<sup>4</sup> es hidrógeno. En otras realizaciones, cada aparición de R<sup>3</sup>, así como R<sup>4</sup>, son metoxi.

- 15 Se prepararon los siguientes compuestos de la invención: 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclopentil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclopentil-2-((3,5-dimetoxifenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo y 8-ciclohexil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo.

- 20 Otros compuestos ilustrativos dentro del alcance de la presente invención incluyen los siguientes, y sales de los mismos: 8-ciclohexil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclohexil-2-((3,5-dimetoxifenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclohexil-7-oxo-2-((3,4,5-trimetoxifenil)amino)-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclopropil-7-oxo-2-((3,4,5-trimetoxifenil)amino)-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclobutil-7-oxo-2-((3,4,5-trimetoxifenil)amino)-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclobutil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclobutil-2-((3,5-dimetoxifenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclopropil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclopropil-2-((3,5-dimetoxifenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclobutil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclobutil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo y 8-ciclopropil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo.

- 25 7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclobutil-2-((3,5-dimetoxifenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclobutil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo, 8-ciclobutil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo y 8-ciclopropil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo.

Debe entenderse que otras realizaciones particulares y preferidas de los compuestos de la invención combinarán las características de las realizaciones particulares y preferidas de la invención descritas de forma explícita en lo que antecede. Las realizaciones definidas por tales combinaciones están contempladas como realizaciones particulares de la invención.

- 35 En otras realizaciones preferidas, el compuesto de Fórmula I, o cualquiera de las realizaciones del mismo, es un compuesto aislado. En otras realizaciones preferidas, el compuesto de Fórmula I, y composiciones que contienen los compuestos, con inclusión de composiciones farmacéuticas, están sustancialmente libres de contaminantes

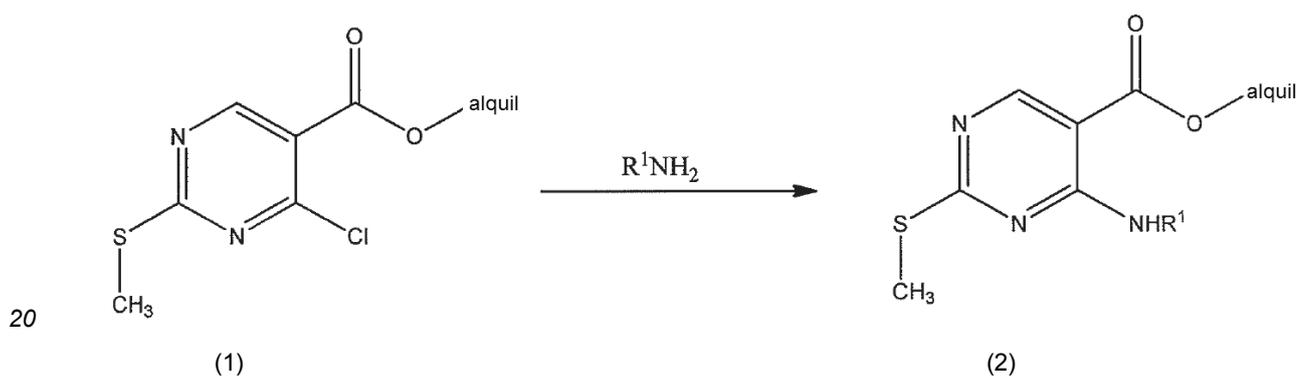
farmacéuticamente inaceptables. Un contaminante farmacéuticamente inaceptable es una sustancia que, si está presente en más de una cantidad insustancial, haría al compuesto o composición inadecuado para el uso como un producto farmacéutico para la administración terapéutica. Los ejemplos incluyen materiales tóxicos tales como disolventes halogenados y metales pesados, y materiales potencialmente infecciosos tales como bacterias, hongos, virus y esporas bacterianas y fúngicas.

### III. Métodos para preparar compuestos de la invención e intermedios útiles en la síntesis de compuestos de la invención

La presente invención proporciona procedimientos para preparar compuestos de acuerdo con la Fórmula I, intermedios que son útiles en la preparación de tales compuestos, y procedimientos para preparar tales intermedios.

Los compuestos se pueden preparar mediante diversas rutas sintéticas. En los Esquemas 1-5 se muestran procedimientos representativos. Será fácilmente evidente que los compuestos pueden sintetizarse por sustitución de los materiales de partida, reaccionantes y reactivos adecuados en las síntesis que se muestran a continuación, estando  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  y  $R^4$  definidos tal como se ha expuesto anteriormente en la presente memoria. También será evidente que se puede cambiar el orden de los propios pasos, dependiendo de la naturaleza de las reacciones. Los compuestos precursores, productos intermedios y reactivos están disponibles comercialmente o bien se pueden preparar a partir de materiales de partida comercialmente disponibles. Los siguientes esquemas son representativos, y en modo alguno se pretende que limiten el alcance de los compuestos de las realizaciones de la presente invención.

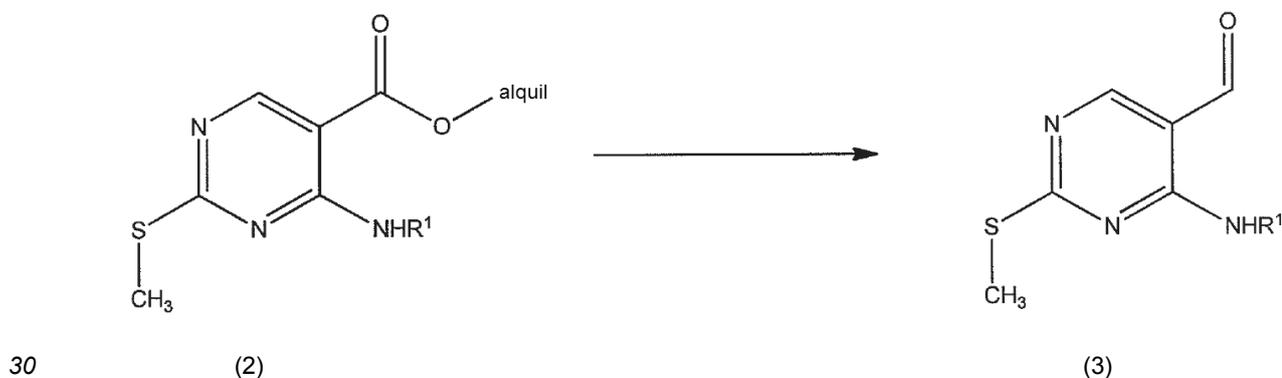
Esquema 1



En el Esquema 1 se muestra una síntesis de compuestos de fórmula (2). Los compuestos de fórmula (2) se pueden preparar haciendo reaccionar un carboxilato de 4-halopirimidina comercialmente disponible, tal como un compuesto de fórmula (1), con una amina,  $R^1-NH_2$ , en presencia de una base en un disolvente polar o aprótico. Las bases útiles incluyen bases orgánicas, por ejemplo aminas terciarias tales como diisopropiletilamina (DIPEA) o trietilamina (TEA). Los disolventes útiles pueden incluir tetrahidrofurano (THF), acetonitrilo, *p*-dioxano o *N,N*-dimetilformamida (DMF). La reacción se puede calentar, en la medida necesaria, a una temperatura apropiada para un disolvente dado.

25

Esquema 2



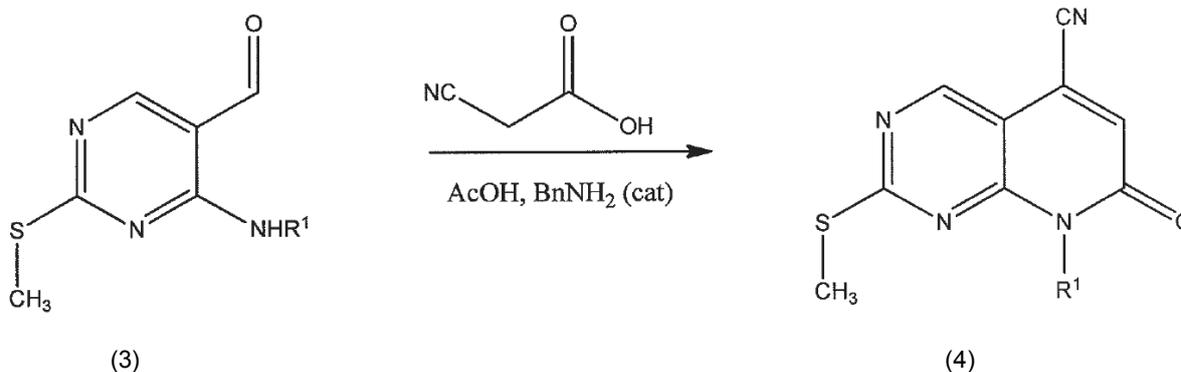
En el Esquema 2 se muestra una síntesis de compuestos de acuerdo con la fórmula (3). El éster (2) puede ser reducido empleando un agente reductor tal como hidruro de litio y aluminio (LAH) en un disolvente polar, para proporcionar un intermedio alcohol. Otros agentes reductores útiles incluyen hidruro de diisobutilaluminio (DIBAL-H, 2 equivalentes), complejo de borano-THF, y similares. Los disolventes útiles incluyen tetrahidrofurano (THF), éter dietílico y similares. El alcohol intermedio puede ser oxidado al aldehído (3) empleando un agente oxidante tal como

35

dióxido de manganeso en un disolvente halogenado. Otros agentes oxidantes útiles capaces de oxidar un alcohol a un aldehído, tales como, solamente a modo de ejemplo, peryodinato de Dess-Martin, son bien conocidos en la técnica. Los disolventes halogenados útiles incluyen diclorometano, cloroformo y similares.

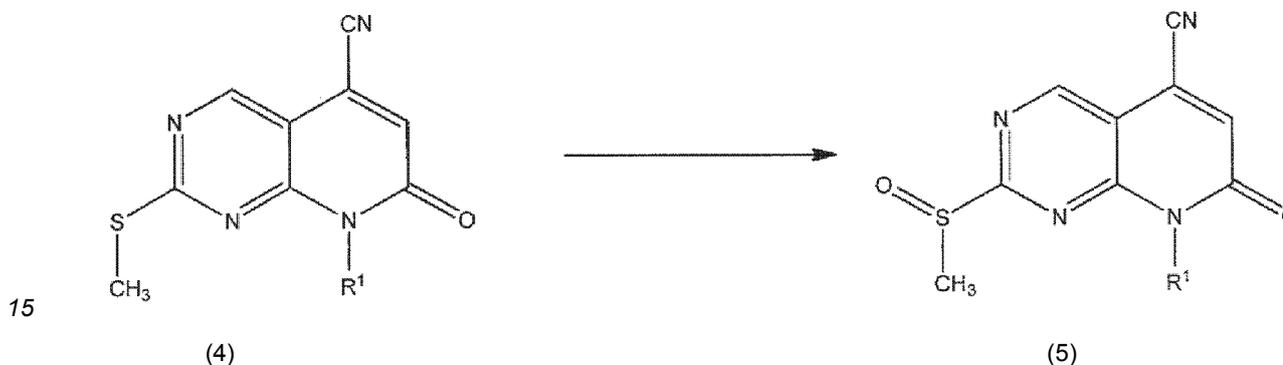
- 5 En una realización alternativa, el éster (2) puede ser convertido directamente a aldehído (3) por tratamiento con 1 equivalente de DIBAL-H a una temperatura adecuada en un disolvente tal como diclorometano, THF o tolueno.

Esquema 3



- 10 En el Esquema 3 se proporciona una síntesis de compuestos de acuerdo con la fórmula (4). De acuerdo con el Esquema 3, se pueden condensar compuestos de fórmula (3) con ácido cianoacético en ácido acético, para proporcionar un compuesto de fórmula (4). En la reacción de condensación se puede utilizar una cantidad catalítica de bencilamina. Las temperaturas para la reacción de condensación pueden variar de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 120 °C (reflujo).

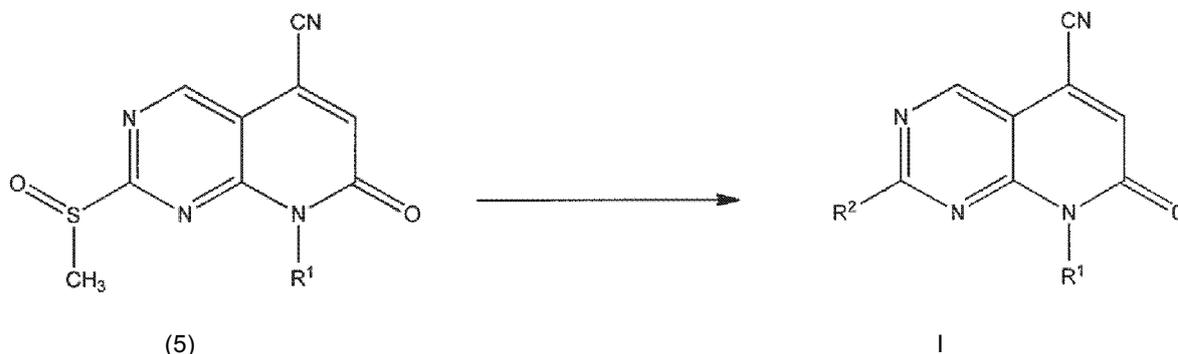
Esquema 4



- 15 En el Esquema 4 se muestra una síntesis de compuestos de acuerdo con la fórmula (5). El compuesto de la fórmula (4) puede ser oxidado a un sulfóxido por tratamiento de (4) con un agente oxidante. Los agentes oxidantes útiles pueden incluir, pero sin limitación, ácido *meta*-cloroperoxisbenzoico (*m*-CPBA), peróxido de hidrógeno, hipoclorito de sodio, peryodato de sodio, hipoclorito de *terc.*-butilo, y perácidos tales como ácido peracético. En caso necesario, se puede emplear el uso estequiométrico del agente oxidante para controlar el estado de oxidación del azufre. Los disolventes útiles incluyen ácido acético y disolventes halogenados tales como cloroformo o diclorometano, y similares. Un reactivo oxidante preferido es *m*-CPBA en diclorometano.
- 20

25

Esquema 5



5 En el Esquema 5 se muestra la síntesis de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I. Se puede tratar el compuesto de fórmula (5) con un compuesto de amina que tenga la fórmula  $R^2-NH_2$  para proporcionar un compuesto de Fórmula I.  $R_2$  puede ser tal como se ha definido con anterioridad en la presente memoria. Los ejemplos de disolventes adecuados para esta reacción incluyen disolventes bencenoides tales como tolueno, *o*-xileno, *m*-xileno, *p*-xileno, mezclas de xileno, anisol, y mezclas de los mismos. Otros disolventes útiles incluyen *p*-dioxano, 1,2-dimetoxietano (DME), THF y similares. Las temperaturas útiles para llevar a cabo la reacción pueden variar de 10 aproximadamente 65 °C a aproximadamente 150 °C, dependiendo del disolvente utilizado. Se puede emplear un exceso molar de la amina  $R^2-NH_2$ , que incluye cualquiera desde aproximadamente 1,05 hasta aproximadamente 2,0 equivalentes.

15 Las reacciones descritas en lo que antecede, salvo que se indique otra cosa, se realizan habitualmente a una presión de aproximadamente una a aproximadamente tres atmósferas, preferiblemente a presión ambiente (aproximadamente una atmósfera).

20 La presente invención abarca además compuestos aislados de acuerdo con la Fórmula I. La expresión "compuesto aislado" se refiere a una preparación de un compuesto de Fórmula I, o una mezcla de compuestos de acuerdo con la Fórmula I, en la cual el compuesto aislado ha sido separado de los reactivos utilizados, y/o subproductos formados, durante la síntesis del compuesto o compuestos. "Aislado" no significa que la preparación sea técnicamente pura (homogénea), sino que es suficientemente puro para ser elaborada en una forma en la cual se pueda utilizar terapéuticamente. Preferiblemente, un "compuesto aislado" se refiere a una preparación de un compuesto de Fórmula I o una mezcla de compuestos de acuerdo con la Fórmula I, que contiene el compuesto o mezcla de compuestos de acuerdo con la Fórmula I, citados, en una cantidad de al menos 10 por ciento en peso del peso total. Preferiblemente, la preparación contiene el compuesto o mezcla de compuestos citados en una cantidad de al 25 menos 50 por ciento en peso del peso total; más preferiblemente al menos 80 por ciento en peso del peso total; y muy preferiblemente al menos 90 por ciento, al menos 95 por ciento o al menos 98 por ciento en peso del peso total de la preparación.

30 Los compuestos de la invención y los intermedios se pueden aislar de sus mezclas de reacción y purificarse mediante técnicas establecidas tales como filtración, extracción líquido-líquido, extracción en fase sólida, destilación, recristalización o cromatografía, con inclusión de cromatografía en columna flash, o HPLC. El método preferido para la purificación de los compuestos de acuerdo con la Fórmula I o sales de los mismos comprende cristalizar el compuesto o sal en un disolvente para formar, preferiblemente, una forma cristalina de los compuestos o sales de los mismos. Después de la cristalización, se elimina el disolvente de cristalización mediante un procedimiento distinto de la evaporación, por ejemplo filtración o decantación, y después se lavan los cristales preferiblemente 35 empleando disolvente puro (o una mezcla de disolventes puros). Los disolventes preferidos para la cristalización incluyen agua, alcoholes, en particular alcoholes que contienen hasta cuatro átomos de carbono tales como metanol, etanol, isopropanol y butan-1-ol, butan-2-ol y 2-metil-2-propanol, éteres, por ejemplo éter dietílico, éter diisopropílico, éter *t*-butilmetílico, 1,2-dimetoxietano, tetrahidrofurano y 1,4-dioxano, ácidos carboxílicos, por ejemplo ácido fórmico y ácido acético, y disolventes hidrocarbonados, por ejemplo pentano, hexano, tolueno y mezclas de los mismos, en particular mezclas acuosas tales como etanol acuoso. Preferiblemente se utilizan disolventes puros, preferiblemente 40 de al menos calidad analítica, y más preferiblemente de calidad farmacéutica. En una realización preferida de los procedimientos de la invención, los productos son aislados de esa manera. En los compuestos de la invención de acuerdo con la Fórmula I o sales de los mismos, y composiciones farmacéuticas de los mismos, el compuesto de acuerdo con la Fórmula I o sal del mismo se encuentra preferiblemente en una forma cristalina o bien se prepara a 45 partir de una forma cristalina, preferiblemente preparada de acuerdo con un procedimiento de este tipo.

50 Los métodos sintéticos descritos en lo que antecede reflejan una estrategia de síntesis convergente. Así, se pueden sintetizar dos componentes y elaborarlos por separado antes de condensar o acoplar los dos componentes para formar los compuestos objetivo. Estos esquemas de síntesis convergentes permiten diseñar los pasos de montaje del esqueleto de los compuestos objetivo y la derivatización de funcionalidades derivatizables para acomodarse a la sensibilidad de los grupos funcionales y/o para permitir introducir grupos funcionales o elementos, ya sea antes o

después del montaje del esqueleto de los compuestos de interés a través de las reacciones de condensación o de acoplamiento descritas.

Un experto en la técnica apreciará que ciertos sustituyentes aromáticos de los compuestos de la invención, intermedios utilizados en los procedimientos descritos en lo que antecede, o precursores de los mismos, se pueden introducir empleando reacciones de sustitución aromática para introducir o reemplazar un sustituyente, o mediante el uso de transformaciones de grupos funcionales con el fin de modificar un sustituyente existente, o una combinación de ambas cosas. Tales reacciones se pueden llevar a cabo o bien antes o bien inmediatamente después de los procedimientos mencionados en lo que antecede, y están incluidas como parte del aspecto de procedimiento de la invención. Los reactivos y condiciones de reacción para tales procedimientos son conocidos en la técnica. Los ejemplos específicos de procedimientos que se pueden emplear incluyen, pero sin limitación, la funcionalización electrófila de un anillo aromático, por ejemplo mediante nitración, halogenación o acilación; la transformación de un grupo nitro en un grupo amino, por ejemplo mediante reducción, por ejemplo mediante hidrogenación catalítica; la acilación, alquilación o sulfonilación de un grupo amino o hidroxilo; el reemplazo de un grupo amino por otro grupo funcional mediante la conversión en una sal de diazonio intermedia seguida de sustitución nucleófila o por radicales libres de la sal de diazonio; o bien reemplazo de un halógeno por otro grupo, por ejemplo a través de reacciones de sustitución nucleófila o catalizadas por compuestos organometálicos.

Además, en los procesos antes mencionados, pueden protegerse mediante grupos protectores ciertos grupos funcionales que serían sensibles a las condiciones de reacción. Un grupo protector es un derivado de un grupo funcional químico que de otro modo sería incompatible con las condiciones requeridas para llevar a cabo una reacción particular y que, después que se ha llevado a cabo la reacción, se puede eliminar con el fin de regenerar el grupo funcional original, que de ese modo se considera que ha sido "protegido". Cualquier funcionalidad química que sea un componente estructural de cualquiera de los reactivos utilizados para sintetizar compuestos de esta invención puede ser opcionalmente protegido con un grupo protector químico si tal grupo protector es útil en la síntesis de compuestos de esta invención. El experto en la técnica sabe cuándo están indicados grupos protectores, cómo seleccionar tales grupos, y los procedimientos que se pueden utilizar para introducirlos de manera selectiva y eliminarlos de manera selectiva, ya que los métodos de selección y empleo de grupos protectores han sido documentados ampliamente en la bibliografía química. Se pueden encontrar técnicas para seleccionar, incorporar y eliminar grupos protectores químicos, por ejemplo, en *Protective Groups in Organic Synthesis* por Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts (John Wiley & Sons, Inc. 1999), cuya descripción completa se incorpora en la presente memoria por referencia.

Además del uso de un grupo protector, los grupos funcionales sensibles pueden ser introducidos en el producto intermedio o final en forma de precursores sintéticos del grupo funcional deseado. Un ejemplo de ello lo constituye un grupo nitro aromático (-NO<sub>2</sub>). El grupo nitro aromático no experimenta ninguna de las reacciones nucleófilas de un grupo amino aromático. Sin embargo, el grupo nitro puede servir como el equivalente de un grupo amino protegido, ya que es reducido fácilmente al grupo amino bajo condiciones suaves que son selectivas para el grupo nitro respecto de la mayoría de otros grupos funcionales.

Un experto en la técnica apreciará que los procedimientos descritos no son los únicos medios mediante los cuales se pueden sintetizar los compuestos de la invención, y que se encuentra disponible un muy amplio repertorio de reacciones orgánicas sintéticas para ser potencialmente empleadas en la síntesis de los compuestos de la invención. El experto en la técnica sabe cómo seleccionar e implementar rutas sintéticas apropiadas. Los métodos sintéticos adecuados pueden ser identificados mediante referencia a la bibliografía, que incluye fuentes de referencia tales como *Comprehensive Organic Synthesis*, compilado por B. M. Trost e I. Fleming (Pergamon Press, 1991), *Comprehensive Organic Functional Group Transformations*, compilado por A.R. Katritzky, O. Meth-Cohn y C. W. Rees (Pergamon Press, 1996), *Comprehensive Organic Functional Group Transformations II*, compilado por A. R. Katritzky y R. J. K. Taylor (compilador) (Elsevier, 2ª edición, 2004), *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, compilado por A.R. Katritzky y C.W. Rees (Pergamon Press, 1984), *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, compilado por A.R. Katritzky, C.W. Rees y E. F. V. Scriven (Pergamon Press, 1996), y *Advanced Organic Chemistry*, 4ª edición, J. March (John Wiley & Sons, 1992).

#### IV. Tratamiento de trastornos proliferativos celulares mediante el uso de compuestos de la invención

La invención también está dirigida al uso en medicina de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La invención también se refiere a compuestos de Fórmula I, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, para el tratamiento de un trastorno proliferativo, o para inducir apoptosis de células tumorales.

La invención también se refiere a un medicamento que comprende un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de un trastorno proliferativo, o para inducir apoptosis de células tumorales.

La invención también se dirige al uso de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno proliferativo celular,

en particular cáncer, o para inducir apoptosis de células tumorales en un individuo afectado por cáncer.

Son realizaciones particulares y preferidas de este aspecto de la invención aquellas en donde el compuesto de Fórmula I usado en el método de tratamiento, ya sea solo o como parte de una composición, es una realización particular o preferida del compuesto de Fórmula I en la descripción de los compuestos y composiciones de la invención tal como se proporciona en la presente memoria.

5 Los compuestos de acuerdo con la invención se pueden administrar a individuos (mamíferos, con inclusión de animales y humanos) afectados de un trastorno proliferativo celular tal como cáncer, tumores malignos y benignos, trastornos proliferativos de vasos sanguíneos, trastornos autoinmunes y trastornos fibróticos. En una realización particular de la invención, el individuo tratado es un ser humano.

10 Se cree que los compuestos son eficaces contra un amplio abanico de tipos de tumor, que incluyen, pero sin limitación, los siguientes: cáncer de ovario; cáncer cervical; cáncer de mama; cáncer de próstata; cáncer testicular, cáncer de pulmón, cáncer renal; cáncer colorrectal; cáncer de piel; cáncer de cerebro; leucemia, que incluye leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica aguda y leucemia linfocítica crónica.

15 Más particularmente, los cánceres que se pueden tratar por los compuestos, composiciones y de la invención incluyen, pero sin limitación, los siguientes:

cánceres cardíacos que incluyen, por ejemplo, sarcoma, por ejemplo angiosarcoma, fibrosarcoma, rhabdomyosarcoma y liposarcoma; mixoma; rhabdomyoma; fibroma; lipoma y teratoma;

20 cánceres de pulmón que incluyen, por ejemplo, carcinoma broncogénico, por ejemplo, de células escamosas, microcístico indiferenciado, macrocístico indiferenciado, y adenocarcinoma; carcinoma alveolar y bronquiolar; adenoma bronquial; sarcoma; linfoma; hamartoma condromatoso; y mesotelioma;

25 cáncer gastrointestinal que incluye, por ejemplo, cánceres del esófago, por ejemplo carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomyosarcoma y linfoma; cánceres del estómago, por ejemplo carcinoma, linfoma y leiomyosarcoma; cánceres del páncreas, por ejemplo adenocarcinoma ductal, insulinooma, glucagonoma, gastrinooma, tumores carcinoides, y vipoma; cánceres del intestino delgado, por ejemplo adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma y fibroma; cánceres del intestino grueso, por ejemplo adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma vellosos, hamartoma y leiomioma;

30 cánceres del tracto genitourinario que incluyen, por ejemplo, cánceres de riñón, por ejemplo adenocarcinoma, tumor de Wilm (nefroblastoma), linfoma y leucemia; cánceres de la vejiga y la uretra, por ejemplo carcinoma de células escamosas, carcinoma de células transicionales y adenocarcinoma; cánceres de la próstata, por ejemplo adenocarcinoma y sarcoma; cáncer de testículo, por ejemplo seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoides y lipoma;

35 cánceres de hígado que incluyen, por ejemplo, hepatoma, por ejemplo carcinoma hepatocelular; colangiocarcinoma; hepatoblastoma; angiosarcoma; adenoma hepatocelular y hemangioma;

40 cánceres óseos que incluyen, por ejemplo, sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de células reticulares), mieloma múltiple, tumor de células gigantes malignas, cordoma, osteocondroma (exostosis osteocartilaginosas), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes;

45 cánceres del sistema nervioso que incluyen, por ejemplo, cánceres del cráneo, por ejemplo osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma y osteitis deformante; cánceres de las meninges, por ejemplo meningioma, meningiosarcoma y gliomatosis; cánceres del cerebro, por ejemplo astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma (pinealoma), glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, y tumores congénitos; y cánceres de la médula espinal, por ejemplo neurofibroma, meningioma, glioma y sarcoma;

50 cánceres ginecológicos que incluyen, por ejemplo, cánceres del útero, por ejemplo carcinoma de endometrio; cánceres del cuello uterino, por ejemplo carcinoma cervical y displasia cervical pre-tumoral; cáncer de los ovarios, por ejemplo carcinoma de ovario, que incluye cistoadenocarcinoma seroso, cistoadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado, tumores de células cono-tecales, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma y teratoma maligno; cánceres de la vulva, por ejemplo carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma y melanoma; cánceres de la vagina, por ejemplo carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioides y rhabdomyosarcoma embrionario; y cáncer de las trompas de Falopio, por ejemplo carcinoma;

55 cánceres hematológicos que incluyen, por ejemplo, cánceres de la sangre, por ejemplo leucemia mieloide

aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple y síndrome mielodisplásico, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin (linfoma maligno) y macroglobulinemia de Waldenström;

5 cánceres cutáneos que incluyen, por ejemplo, melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, lunares, nevus displásicos, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis; y

cánceres de la glándula suprarrenal que incluyen, por ejemplo, neuroblastoma.

10 Los cánceres pueden ser tumores sólidos que pueden ser o no metastásicos. También pueden producirse cánceres, como en la leucemia, en forma de un tejido difuso. Así, la expresión "célula tumoral", según se utiliza en la presente memoria, incluye una célula afectada por uno cualquiera de los trastornos antes identificados.

15 También se cree que los compuestos son útiles en el tratamiento de trastornos proliferativos celulares no cancerosos, es decir, trastornos proliferativos celulares que se caracterizan por síntomas benignos. Estos trastornos también pueden ser denominado "citoproliferativos" o "hiperproliferativos" porque el cuerpo fabrica las células a un ritmo anormalmente elevado. Los trastornos proliferativos celulares no cancerosos que se creen tratables mediante compuestos de acuerdo con la invención incluyen, por ejemplo: hemangiomatosis en el recién nacido, esclerosis múltiple progresiva secundaria, aterosclerosis, enfermedad mielodegenerativa progresiva crónica, neurofibromatosis, ganglioneuromatosis, formación de queloides, enfermedad ósea de Paget, enfermedad fibroquística de la mama, fibroides uterinos, enfermedad de Peyronie, enfermedad de Dupuytren, restenosis, enfermedad mamaria proliferativa benigna, hiperplasia prostática benigna, trastorno proliferativo linfocelular ligado a X (enfermedad de Duncan), 20 trastorno proliferativo linfocelular posterior a trasplante (PTLD), degeneración macular, y retinopatías tales como retinopatías diabéticas y vitreoretinopatía proliferativa (PVR).

25 Otros trastornos proliferativos celulares no cancerosos que se creen tratables mediante compuestos de acuerdo con la invención incluyen la presencia de células linfoproliferativas precancerosas asociadas con un riesgo elevado de progresión a un trastorno canceroso. Muchos trastornos proliferativos linfocelulares no cancerosos se asocian con infecciones víricas latentes tales como virus de Epstein-Barr (EBV) y hepatitis C. Estos trastornos a menudo comienzan como una patología benigna y progresan a neoplasia linfoide en función del tiempo.

#### V. Sales de compuestos de acuerdo con la invención

30 Los compuestos de la presente invención pueden adoptar la forma de sales. El término "sales" abarca sales de adición de ácidos libres o de bases libres que son compuestos de la invención. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales que poseen perfiles de toxicidad dentro de un intervalo que proporciona utilidad en aplicaciones farmacéuticas. No obstante, sales farmacéuticamente inaceptables pueden poseer propiedades, tales como alta cristalinidad, que tengan utilidad en la práctica de la presente invención, por ejemplo utilidad en procesos de síntesis, purificación o formulación de compuestos de la invención.

35 Se pueden preparar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas a partir de un ácido inorgánico o de un ácido orgánico. Los ejemplos de ácidos inorgánicos incluyen ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Los ácidos orgánicos apropiados pueden seleccionarse de las clases alifática, cicloalifática, aromática, aralifática, heterocíclica, carboxílica y sulfónica de ácidos orgánicos, cuyos ejemplos incluyen el ácido fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, 40 4-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, trifluoroacético, trifluorometanosulfónico, 2-hidroxi-etanosulfónico, p-toluenosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, esteárico, algínico,  $\beta$ -hidroxibutírico, salicílico, galactárico y galacturónico. Los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente inaceptables incluyen, por ejemplo, percloratos y tetrafluoroboratos.

45 Todas estas sales se pueden preparar por medios convencionales a partir del correspondiente compuesto de acuerdo con la Fórmula I y el ácido apropiado. Preferiblemente, las sales están en forma cristalina, y preferiblemente se preparan mediante cristalización de la sal en un disolvente adecuado. El experto en la técnica sabrá cómo preparar y seleccionar formas salinas adecuadas, por ejemplo tal como se describe en *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, por P.H. Stahl y C.G. Wermuth (Wiley-VCH, 2002).

#### VI. Composiciones farmacéuticas

50 Los compuestos de la invención pueden ser administrados en forma de una composición farmacéutica, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. El ingrediente activo en tales formulaciones puede comprender de 0,1 a 99,99 por ciento en peso. "Vehículo farmacéuticamente aceptable" significa cualquier vehículo, diluyente o excipiente que sea compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el receptor.

55 El agente activo se administra preferiblemente con un vehículo farmacéuticamente aceptable seleccionado en base a la vía de administración elegida y la práctica farmacéutica habitual. El agente activo se puede formular en formas

farmacéuticas de acuerdo con las prácticas corrientes en el campo de las preparaciones farmacéuticas. Véase Alphonso Gennaro, compilador, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18ª edición (1990), Mack Publishing Co., Easton, PA. Las formas farmacéuticas adecuadas pueden comprender, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, disoluciones, disoluciones parenterales, trociscos, supositorios o suspensiones.

5 Para la administración por vía parenteral, se puede mezclar el agente activo con un vehículo o diluyente adecuado tal como agua, un aceite (en particular un aceite vegetal), etanol, solución salina, dextrosa (glucosa) acuosa y soluciones de azúcares relacionadas, glicerol, o bien un glicol tal como propilenglicol o polietilenglicol. Las disoluciones para administración parenteral contienen preferiblemente una sal soluble en agua del agente activo. También se pueden añadir agentes estabilizantes, agentes antioxidantes y conservantes. Los agentes antioxidantes adecuados incluyen sulfito, ácido ascórbico, ácido cítrico y sus sales, y EDTA sódico. Los conservantes adecuados incluyen cloruro de benzalconio, metil- o propilparabeno y clorobutanol. La composición para administración por vía parenteral puede adoptar la forma de una disolución, dispersión, suspensión o emulsión acuosa o no acuosa.

15 Para la administración por vía oral, se puede combinar el agente activo con uno o más ingredientes inactivos sólidos para preparar comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos u otras formas farmacéuticas orales adecuadas. Por ejemplo, se puede combinar el agente activo con al menos un excipiente tal como cargas, aglutinantes, humectantes, agentes desintegrantes, retardantes de disolución, aceleradores de absorción, agentes humectantes, absorbentes o agentes lubricantes. De acuerdo con una realización en comprimido, se puede combinar el agente activo con carboximetilcelulosa de calcio, estearato de magnesio, manitol y almidón, y después conformarlo en comprimidos por métodos de compresión convencionales.

20 La dosis específica de un compuesto de acuerdo con la invención para obtener un beneficio terapéutico con respecto al tratamiento de un trastorno proliferativo celular estará, por supuesto, determinada por las circunstancias particulares del paciente individual, que incluyen el tamaño, peso, edad y sexo del paciente, la naturaleza y el estadio del trastorno proliferativo celular, la agresividad del trastorno proliferativo celular y la vía de administración del compuesto.

25 Por ejemplo, se puede utilizar una dosis diaria de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 50 mg/kg/día, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg/día. También se contemplan dosis más altas o más bajas, ya que puede ser necesario en algunos casos emplear posologías fuera de estos intervalos. Se puede dividir la dosis diaria, por ejemplo dividiendo la dosis diaria a partes iguales en dos a cuatro veces por día. Las composiciones se formulan preferiblemente en una forma farmacéutica unitaria, conteniendo cada dosis de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg, más típicamente de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mg de agente activo por dosis unitaria. La expresión "forma farmacéutica unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para pacientes humanos y otros mamíferos, en donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

35 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también se pueden formular de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo, empleando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, revestimientos multicapa, micropartículas, liposomas y/o microesferas.

40 En general, una preparación de liberación controlada es una composición farmacéutica capaz de liberar el ingrediente activo al ritmo requerido para mantener constante la actividad farmacológica durante un período de tiempo deseable. Tales formas farmacéuticas proporcionan un aporte de un fármaco al cuerpo durante un período de tiempo predeterminado y así mantienen los niveles de fármaco en el intervalo terapéutico durante períodos de tiempo más largos que las formulaciones no controladas convencionales.

45 La patente de EE.UU. nº 5,674,533 describe composiciones farmacéuticas de liberación controlada en formas farmacéuticas líquidas para la administración de moguisteína, un potente antitusivo periférico. La patente de EE.UU. nº 5,059,595 describe la liberación controlada de agentes activos mediante el uso de un comprimido gastroresistente para la terapia de trastornos mentales orgánicos. La patente de EE.UU. nº 5,591,767 describe un parche transdérmico de depósito líquido para la administración controlada de ketorolaco, un agente antiinflamatorio no esteroideo con potentes propiedades analgésicas. La patente de EE.UU. nº 5,120,548 describe un dispositivo de administración de fármaco de liberación controlada compuesto por polímeros hinchables. La patente de EE.UU. nº 5,073,543 describe formulaciones de liberación controlada que contienen un factor trófico atrapado mediante un vehículo de gangliósido-liposoma. La patente de EE.UU. nº 5,639,476 describe una formulación de liberación controlada sólida estable que tiene un revestimiento derivado de una dispersión acuosa de un polímero acrílico hidrófobo. Son conocidas micropartículas biodegradables para uso en formulaciones de liberación controlada. La patente de EE.UU. nº 5,354,566 describe un polvo de liberación controlada que contiene el ingrediente activo. La patente de EE.UU. nº 5,733,566 describe el uso de micropartículas poliméricas que liberan composiciones antiparasitarias.

La liberación controlada del ingrediente activo puede ser estimulada por diversos inductores, por ejemplo el pH,

temperatura, enzimas, agua u otras condiciones fisiológicas o compuestos. Existen diversos mecanismos de liberación del fármaco. Por ejemplo, en una realización, el componente de liberación controlada puede hincharse y formar aberturas porosas suficientemente grandes como para liberar el ingrediente activo tras la administración a un paciente. La expresión "componente de liberación controlada" en el contexto de la presente invención se define en la presente memoria como un compuesto o compuestos, por ejemplo polímeros, matrices poliméricas, geles, membranas permeables, liposomas y/o microesferas, que facilitan la liberación controlada del ingrediente activo de la composición farmacéutica. En otra realización, el componente de liberación controlada es biodegradable, inducido por exposición al entorno acuoso, pH, temperatura, o enzimas del cuerpo. En otra realización se pueden emplear soles-geles, en donde se incorpora el ingrediente activo en una matriz sol-gel que es un sólido a temperatura ambiente. Se implanta esta matriz en un paciente, preferiblemente un mamífero, que tenga una temperatura corporal lo suficientemente alta para inducir la formación de gel en la matriz sol-gel, liberando de este modo el ingrediente activo al paciente.

Los componentes empleados para formular las composiciones farmacéuticas tienen alta pureza y están sustancialmente libres de contaminantes potencialmente nocivos (por ejemplo, al menos de calidad alimentaria National Food, generalmente al menos de calidad analítica, y más típicamente al menos de calidad farmacéutica). En particular, para el consumo humano la composición se fabrica o formula preferiblemente de acuerdo con las Good Manufacturing Practices (Normas de Correcta Fabricación) según se definen en la normativa aplicable de la Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Medicinas) de EE.UU. Por ejemplo, las formulaciones adecuadas pueden ser estériles y/o sustancialmente isotónicas y/o cumplir plenamente todas las normas de Good Manufacturing Practices de la Food and Drug Administration de EE.UU.

#### VII. Vías de administración de compuestos y composiciones de la invención

Los compuestos se pueden administrar por cualquier vía, entre ellas, pero sin limitación, la oral, rectal, sublingual, bucal, ocular, pulmonar y la administración parenteral, o bien como un aerosol oral o nasal (por ejemplo, inhalación de vapores nebulizados, gotitas o partículas sólidas). La administración por vía parenteral incluye, por ejemplo, la administración intravenosa, intramuscular, intraarterial, intraperitoneal, intranasal, intravaginal, intravesical (por ejemplo, a la vejiga), intradérmica, transdérmica, tópica o subcutánea. También se contempla dentro del alcance de la invención la instilación de un fármaco en el cuerpo del paciente en una formulación controlada, produciéndose más tarde la liberación sistémica o local del fármaco. Por ejemplo, el fármaco puede estar localizado en un depósito para liberación controlada a la circulación, o bien para liberación a un sitio local de crecimiento tumoral.

Se pueden administrar simultáneamente uno o más compuestos útiles en la práctica de la presente invención, por las mismas o diferentes vías, o bien en diferentes momentos durante el tratamiento. Los compuestos se pueden administrar antes de, junto con, o después de otros medicamentos, entre ellos otros compuestos antiproliferativos.

El tratamiento se puede llevar a cabo durante un periodo tan largo como sea necesario, ya sea en una sola sesión ininterrumpida o bien en sesiones discretas. El médico tratante sabrá cómo aumentar, disminuir o interrumpir el tratamiento en base a la respuesta del paciente. Según una realización, el tratamiento se lleva a cabo durante un tiempo de aproximadamente cuatro a aproximadamente dieciséis semanas. El esquema de tratamiento se puede repetir según sea necesario.

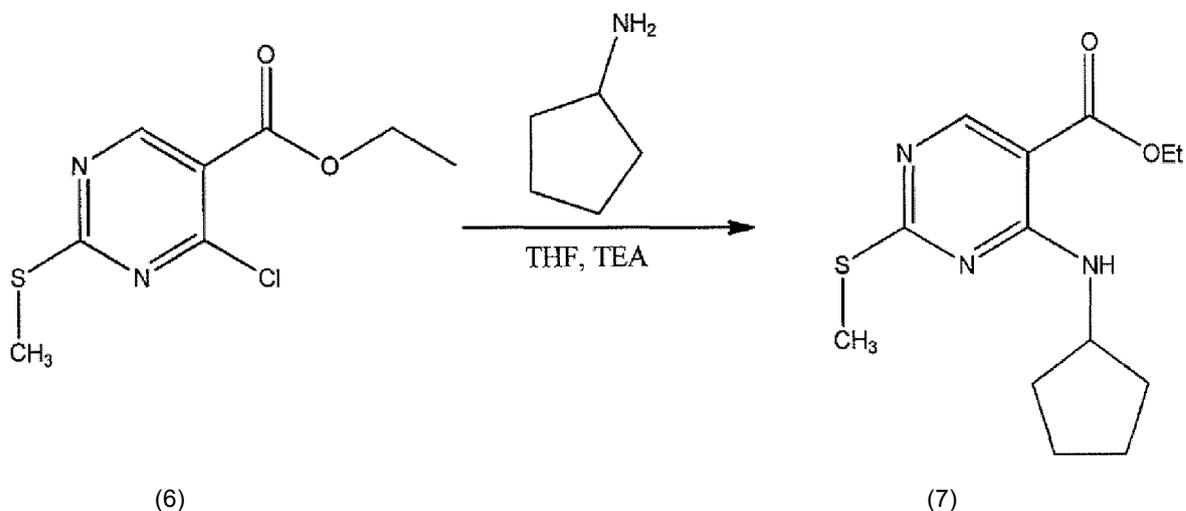
#### VIII. Ejemplos

Los siguientes ejemplos no limitantes se proporcionan para ilustrar la invención. Las vías de síntesis que se ilustran son aplicables a otras realizaciones de la invención. Los procedimientos sintéticos descritos como "métodos generales" describen lo que se cree será típicamente eficaz para llevar a cabo la síntesis indicada. Sin embargo, el experto en la técnica apreciará que puede ser necesario modificar los procedimientos para una realización dada de la invención. Por ejemplo, se puede utilizar el seguimiento de reacción, por ejemplo mediante el uso de cromatografía de capa fina (TLC) o HPLC, para determinar el tiempo de reacción óptimo. Los productos se pueden purificar mediante técnicas convencionales que pueden variar, por ejemplo, en función de la cantidad de productos secundarios producidos y de las propiedades físicas de los compuestos. A escala de laboratorio, la recristalización en un disolvente adecuado, la cromatografía en columna, la HPLC normal o de fase inversa, o la destilación son todas ellas técnicas que pueden ser útiles. El experto en la técnica apreciará cómo modificar las condiciones de reacción para sintetizar cualquier compuesto dado dentro del alcance de la invención sin experimentación indebida. Véanse, por ejemplo, *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, por A.I. Vogel, *et al.*, *Experimental Organic Chemistry: Standard and Microscale*, por L.M. Harwood *et al.* (2ª edición, Blackwell Scientific Publications, 1998), y *Advanced Practical Organic Chemistry*, por J. Leonard, *et al.* (2ª edición, CRC Press 1994).

Ejemplo 1: Síntesis de 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo

Se preparó 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo según el procedimiento siguiente.

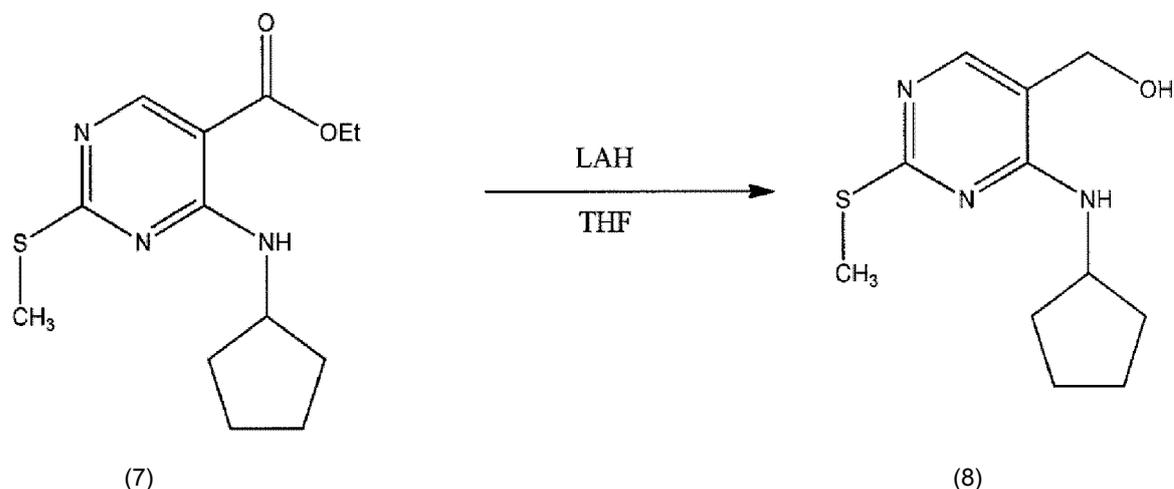
A. Éster etílico de ácido 4-ciclopentilamino-2-metilsulfanil-pirimidina-5-carboxílico (7):



5 Se disolvió en THF éster etílico de ácido 4-cloro-2-metilsulfanil-pirimidina-5-carboxílico (6) comercialmente disponible (25 g, 107 mmol). Después se añadieron a la mezcla de reacción trietilamina (32,6 g, 322 mmol) y ciclopentilamina (10 g, 117 mmol). La combinación se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Se eliminaron por filtración del disolvente las sales precipitadas y se desecharon. Después se evaporó en vacío el disolvente recogido, para proporcionar un aceite. Se disolvió en acetato de etilo el aceite resultante, se lavó con bicarbonato de sodio, y después se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Se separó por filtración el coadyuvante de secado y se evaporó bajo vacío el disolvente resultante para proporcionar 23,3 g de producto (7).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  8,60 (s, 1H), 8,25 (s ancho, 1H), 4,49-4,54 (m, 1H), 4,30 (q, 2H), 2,52 (s, 3H), 2,00-2,10 (m, 2H), 1,50-1,79 (m, 6H), 1,35 (t, 3H).

10

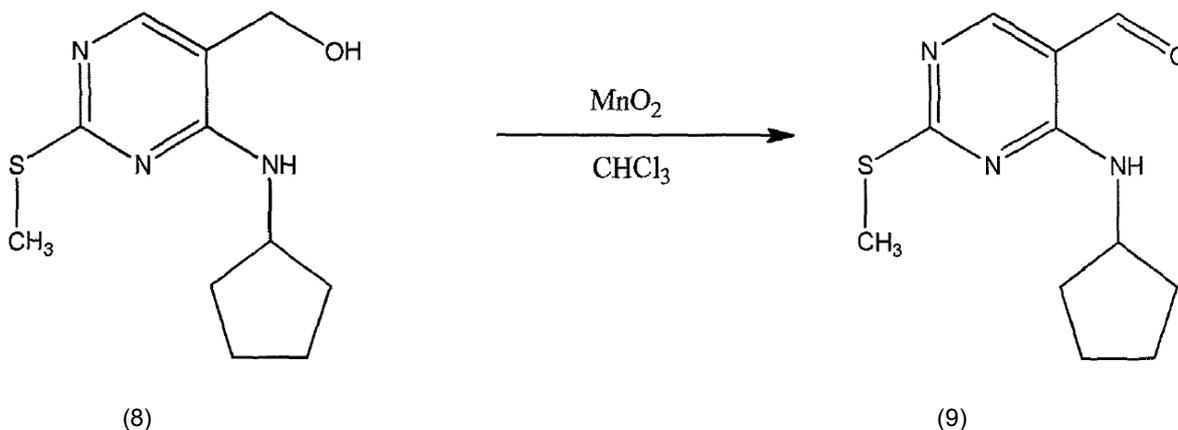
B. (4-Ciclopentilamino-2-metilsulfanil-piridina-5-il)-metanol (8):



15 Se suspendió hidruro de litio y aluminio (10 g, 35,5 mmol) en THF bajo una atmósfera de nitrógeno, y se enfrió con hielo seco. Se disolvió en THF éster etílico de ácido 4-ciclopentilamino-2-metilsulfanil-pirimidina-5-carboxílico (7), (2,02 g, 53,3 mmol) y se añadió gota a gota a la disolución de LAH enfriada, manteniendo la temperatura de reacción por debajo de  $-20$  °C durante el transcurso de la adición. Posteriormente se llevó la reacción a temperatura ambiente y se agitó durante 5 horas. Después de la agitación, se inactivó la reacción mediante la adición de agua (5 ml), NaOH al 15% (10 ml) y después nuevamente agua (15 ml). Se separó por filtración un sólido blanco precipitado, y el filtrado se evaporó en vacío para proporcionar el producto (8) como un sólido amarillo (7,2 g). El producto (8) se usó sin más purificación ni caracterización.

20

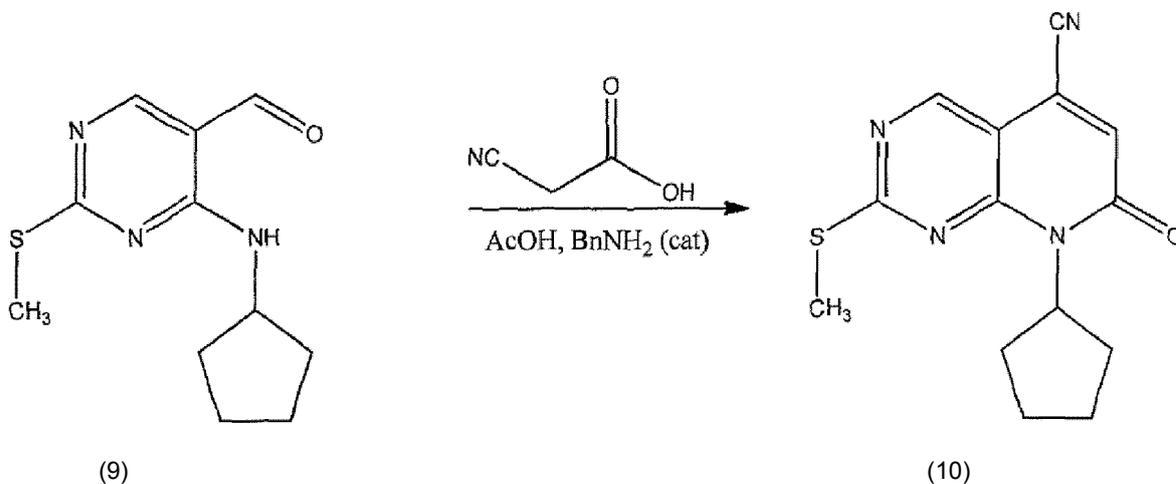
C. 4-Ciclopentilamino-2-metilsulfanil-pirimidina-5-carbaldehído (9):



5 Se disolvió (4-ciclopentilamino-2-metilsulfanil-piridina-5-il)-metanol (8) (5 g, 20,8 mmol) en cloroformo al que se había añadido MnO<sub>2</sub> (10,39 g, 119 mmol). Se agitó la reacción durante una noche. Se añadió una porción adicional de MnO<sub>2</sub> (2,7 g, 31,3 mmol) y se agitó la reacción durante 12 horas adicionales. Se eliminó MnO<sub>2</sub> por filtración a través de un lecho de Celite, que se lavó bien con cloroformo. Se evaporó bajo vacío el cloroformo para proporcionar el producto deseado (9) como un líquido espeso (4,7 g) que solidificó al reposar durante un tiempo. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 9,65 (s, 1H), 8,60 (s ancho, 1H), 8,25 (s, 1H), 4,49-4,54 (m, 1H), 2,52 (s, 3H), 2,01-2,12 (m, 2H), 1,50-1,82 (m, 6H).

10

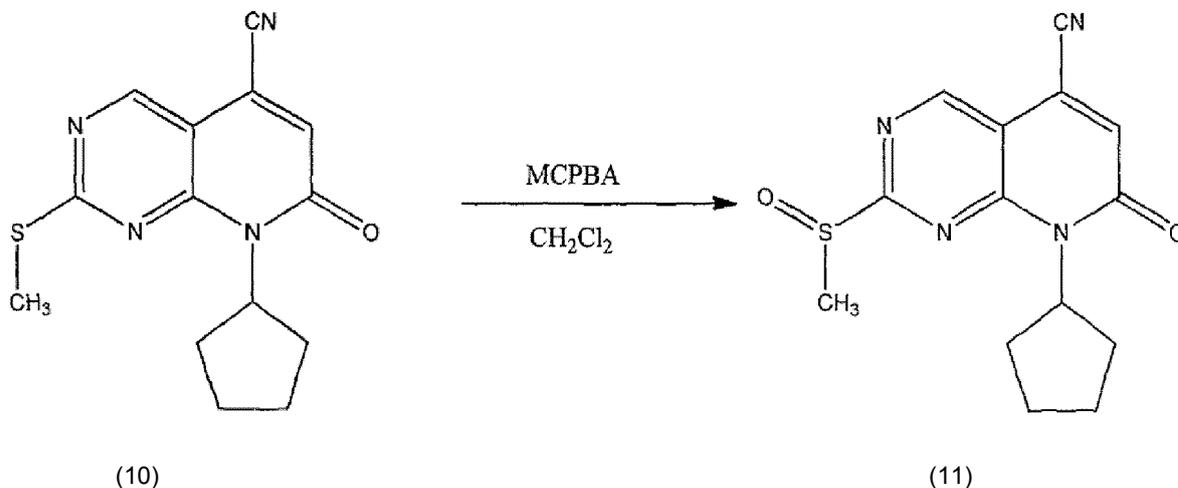
D. 8-Ciclopentil-2-(metiltio)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina (10):



15 Se tomó en ácido acético una mezcla de 4-ciclopentilamino-2-metilsulfanil-pirimidina-5-carbaldehído (9) (1 g, 4,2 mmol), 1,2 equivalentes de ácido cianoacético y una cantidad catalítica de bencilamina, y se hizo refluir durante aproximadamente 6 horas. Una vez completada la reacción según TLC, se enfrió a temperatura ambiente la mezcla de reacción y precipitó producto de la mezcla de reacción. Se precipitó producto adicional de la mezcla de reacción mediante la adición de hexano. Se cosechó el sólido resultante, se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado y agua, y posteriormente se secó en vacío. Se recristalizó en 2-propanol el producto crudo resultante (10).

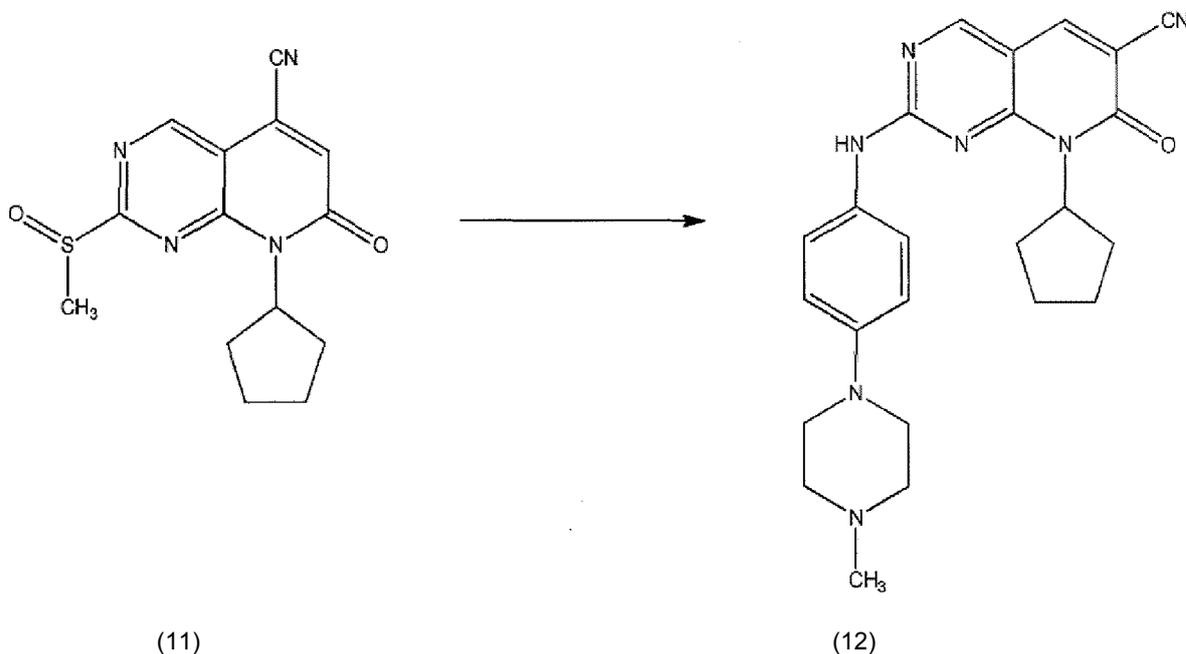
20

E. 8-Ciclopentil-2-(metilsulfinil)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina (11):



5 Se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 12 horas una disolución de 8-ciclopentil-2-(metiltio)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina (10), (3,5 mmol) y MCPBA (5,25 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Una vez completada la reacción, se lavó la mezcla de reacción con  $\text{Na}_2\text{HCO}_3$  saturado. Se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  la capa orgánica, se eliminó por filtración el agente desecante, y se concentró para proporcionar el producto deseado (11), que se usó sin purificación adicional.

F. 8-Ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo (12):

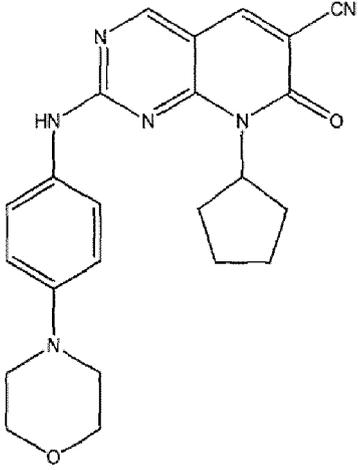
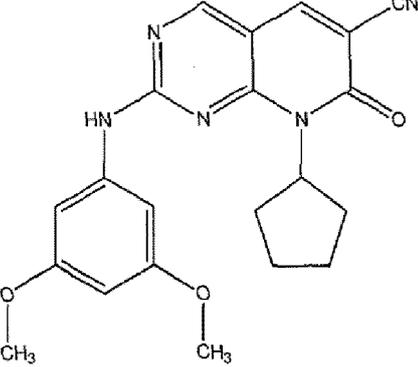
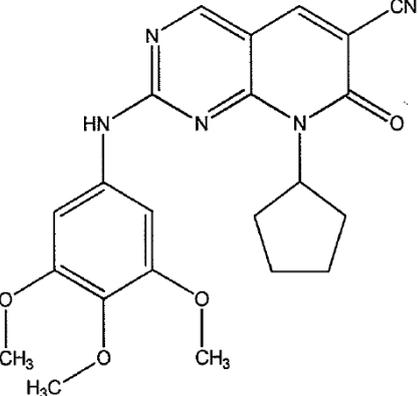


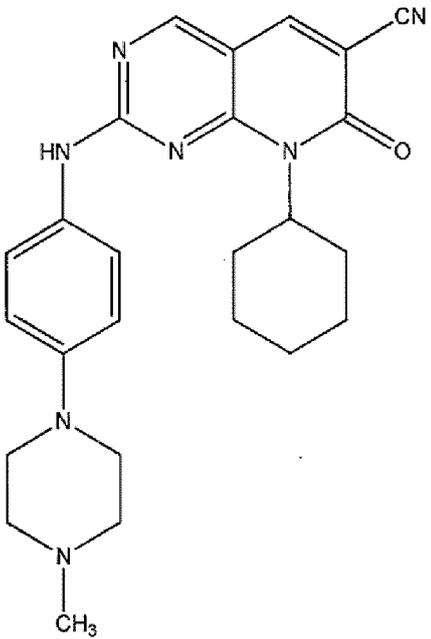
10  
15 Se agitó a  $100^\circ\text{C}$  durante una noche una mezcla de 8-ciclopentil-2-(metilsulfinil)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina (11) (1,65 mmol) y 4-(4-metilpiperazin-1-il)anilina (2 mmol) en tolueno. Se enfrió la mezcla de reacción y se recolectó por filtración un sólido que se había formado. Se lavaron con tolueno los sólidos y se secaron para proporcionar el producto deseado (12).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 8,55 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,40-7,45 (m, 2H), 6,91-6,99 (m, 2H), 3,23-3,27 (m, 4H), 2,63-2,66 (m, 4H), 2,43 (s, 3H), 2,21-2,30 (m, 2H), 1,85 (s ancho, 4H), 1,62 (s ancho, 2H). Punto de fusión:  $290\text{-}292^\circ\text{C}$ .

Ejemplos 2 a 6

20 Los compuestos 13-16, mostrados en la Tabla 1 a continuación, se prepararon siguiendo los procedimientos generales de los Esquemas 1-5, como se ha ejemplificado por la preparación del compuesto (12). La Tabla 1 incluye además datos espectrales de  $^1\text{H}$  NMR y datos de punto de fusión para los compuestos 13-16.

Tabla 1

Comp. n°	Compuesto	Nombre del compuesto	Datos de <sup>1</sup> H NMR y p.f.
13		8-ciclopentil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina-6-carbonitrilo	8,55 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,43-7,48 (m, 2H), 6,93-6,99 (m, 2H), 5,82-5,89 (m, 1H), 3,87-3,92 (m, 4H), 3,15-3,22 (m, 4H), 2,22-2,31 (m, 2H), 1,80-1,91 (m, 4H), 1,59-1,68 (m, 2H) p.f.: 294-296 °C
14		8-ciclopentil-2-((3,5-dimetoxifenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina-6-carbonitrilo	8,60 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 6,83-6,84 (m, 2H), 6,30-6,31 (m, 2H), 5,88-5,94 (m, 1H), 3,82 (s, 6H), 2,23-2,36 (m, 2H), 2,05-2,18 (m, 2H), 1,83-1,93 (m, 2H), 1,62-1,64 (m, 2H). p.f.: 150-151 °C
15		8-ciclopentil-7-oxo-2-((3,4,5-trimetoxifenil)amino)-7,8-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina-6-carbonitrilo	8,59 (s, 1H), 8,01 (s, 1H), 6,91 (s, 2H), 5,93-5,99 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 2,23-2,32 (m, 2H), 2,3-2,14 (m, 2H), 1,85-1,92 (m, 2H), 1,52-1,58 (m, 2H). p.f.: 169-170 °C

Comp. n°	Compuesto	Nombre del compuesto	Datos de <sup>1</sup> H NMR y p.f.
16		8-ciclohexil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo	8,53 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,45-7,66 (m, 2H), 6,95-6,98 (m, 2H), 5,43-5,47 (m, 1H), 3,22-3,26 (m, 4H), 2,62-2,65 (m, 4H), 2,39 (s, 3H), 1,88 (s ancho, 2H), 1,64 (s ancho, 4H), 1,33 (s ancho, 4H). p.f.: 279-280 °C

Ejemplo 7: Ensayo de citotoxicidad para 8-ciclohexil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo

- 5 Se sembraron en placa células ( $1 \times 10^5$ ) en platillos de 6 pocillos y 24 horas más tarde se añadió 8-ciclohexil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo (12) a cinco concentraciones diferentes a lo largo de una dilución de 2 logaritmos (1-100  $\mu$ M). Tras 96 horas de tratamiento continuo se determinó utilizando un hemacitómetro el número total de células viables por tinción con azul de tripano y recuento del número de células no teñidas (viables) que quedaban en cada pocillo. El porcentaje de células viables remanentes se calculó como sigue: n° de células viables (tratado con compuesto) / n° de células viables (tratado con DMSO) \* 100.
- 10 Se determinó la GI<sub>50</sub> (la concentración de fármaco que produce la pérdida neta de 50% de inhibición del crecimiento). Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

LINEA CELULAR	Tipo de tumor	GI <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
K562	CML	0,5
DU145	PRÓSTATA	0,75
BT474	ErbB2 + mama	0,25
SK-BR-3	ErbB2 + mama	0,6
MCF-7	ER + mama	0,15
BT20	Mama	0,1
MDA-MB-468	MAMA (triple neg.; RB neg.)	1,5
Z138C	MCL	0,025

LINEA CELULAR	Tipo de tumor	GI <sub>50</sub> (μM)
GRANTA-519	MCL	0,075
SK-OV-3	Ovario	0,75
U87	Glioblastoma	0,1
MIA-PaCa-2	Pancreático	0,25
HCT-15	Colon (MDR elevado)	0,4
COLO-205	Colon	0,2
HELA	Cervical	0,75
A549	NSCLC	0,2
N417	SCLC	0,25
N87	Gástrico (ErbB2+)	0,9
SNU-5	Gástrico	0,2
SNU-398	Gástrico	0,5
SNU-449	Gástrico	0,75
SNU-475	Gástrico	0,3
U266	Mieloma múltiple	0,2
RAJI	Linfoma de células B	0,25
JURKAT	Linfoma de células T	0,15
DLD-1	COLO-RECTAL	0,1
SW480	COLO-RECTAL	0,1

## Ejemplo 8: Ensayo de cinasa ARK5

5 Se diluyeron en tampón de cinasa (HEPES 25 mM pH 7,5, MgCl<sub>2</sub> 10 mM, EGTA 0,5 mM, Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> 25 mM, β-glicerofosfato 5 mM, DTT 2,5 mM, Triton X-100 al 0,01%) 20 ng de ARK5 de longitud completa marcado con His (Invitrogen PV4127), una proteína-cinasa, y se incubaron con la concentración indicada de un compuesto de la Tabla 3 a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después se iniciaron las reacciones de cinasa mediante la adición de 1 μg (3,28 μM) de péptido sustrato CHKtide (Upstate 12-414), ATP 1 μM y μ10 Ci de <sup>32</sup>P-ATP. Las reacciones fueron incubadas a 30 °C durante 10 minutos.

10 A continuación se detuvieron las reacciones mediante la adición de ácido fosfórico al 3%. Después se transfirió una alícuota de 10 μl a una zona apropiada de una estera filtrante p30. Se dejó secar la estera filtrante durante 20 minutos a temperatura ambiente y después se lavó tres veces con ácido fosfórico 75 mM y dos veces con metanol. Después se secó la estera filtrante durante 20 minutos a temperatura ambiente. A continuación se expuso la estera filtrante a una película de rayos X o bien se leyó en un contador de centelleo. Los valores de recuento de centelleo se representaron gráficamente como función del logaritmo de la concentración de fármaco utilizando el programa informático Graph Pad Prism 4 y se determinaron los valores de CI<sub>50</sub> mediante el trazado de curvas sigmoidales de

15

regresión no lineal con pendiente variable.

Tal como se muestra en la Tabla 3, los compuestos de los Ejemplos 1-6 inhibieron sustancialmente la actividad de cinasa de ARK5. Los ejemplos comparativos que carecían de la funcionalidad nitrilo de los compuestos de la invención mostraron poca o ninguna capacidad de inhibición de ARK5.

5

Tabla 3: Ensayo de inhibición de ARK5

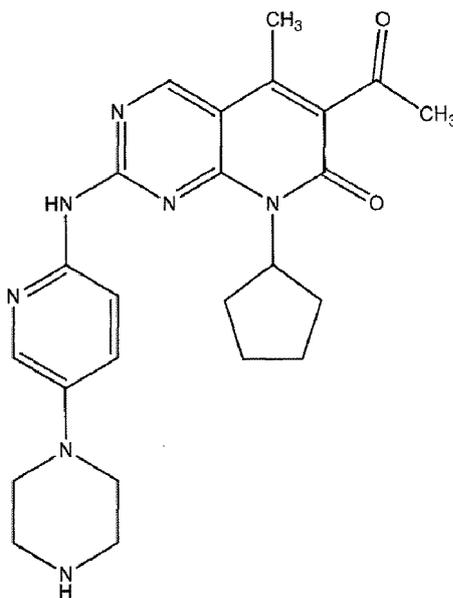
Comp. nº	Compuesto	CI <sub>50</sub> (nM)
12	8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina-6-carbonitrilo	27,3
15	8-ciclopentil-7-oxo-2-((3,4,5-trimetoxifenil)amino)-7,8-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina-6-carbonitrilo	49,8
16	8-ciclohexil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina-6-carbonitrilo	43,41
13	8-ciclopentil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina-6-carbonitrilo	75
14	8-ciclopentil-2-((3,5-dimetoxifenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina-6-carbonitrilo	75
Ej. comp. 1	8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-6-(metilsulfonyl)pirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8H)-ona	>10.000
Ej. comp. 2	6-((4-clorofenil)sulfonyl)-8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)pirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8H)-ona	>10.000
Ej. comp. 3	6-((4-clorofenil)sulfonyl)-8-ciclohexil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)pirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8H)-ona	1.000
Ej. comp. 4	8-ciclopentil-2-((3,4-dimetoxifenil)amino)pirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8H)-ona	>1.000
Ej. comp. 5	8-ciclopentil-2-((2,4-dimetoxifenil)amino)pirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidin-7(8H)-ona	>5.000

Ejemplo 9: Eficacia *in vivo* de 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo contra cáncer de colon humano.

10 Se implantaron fragmentos Colo-205 en hembras de ratón carentes de sistema inmunitario ("desnudas") atímicas y se dejaron crecer hasta un tamaño medio de 150 mm<sup>3</sup>. A continuación se trató a los ratones con placebo (n = 10) o bien con 100 mg/kg de hidrocloreuro de 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo formulado en agua estéril (N = 10) mediante inyección IP de acuerdo con el siguiente calendario: cada día durante los días 1-21; días libres 22 y 23; administración reanudada los días 24-28. Un ratón fue sacrificado el día 25 por peritonitis no relacionada con el fármaco. Se determinaron los volúmenes de tumor y se representó la mediana (+/- ETM (error típico de la medida)) frente a días de tratamiento. Véase la Figura 1.

Ejemplo 10: Comparación de inhibición de cinasa de 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-*d*]pirimidina-6-carbonitrilo con inhibición de cinasa de PD0332991

PD0332991 tiene la estructura:



Según el National Cancer Institute, PD0332991 es un inhibidor de cinasa dependiente de ciclina (CDK) derivado de piridopirimidina disponible por vía oral, con potencial actividad antineoplásica. En particular, PD-0332991 inhibe selectivamente cinasas dependientes de ciclina (particularmente cinasa de Cdk4/ciclina D1) que pueden inhibir la fosforilación de proteína de retinoblastoma (Rb), lo que evita que células tumorales Rb-positivas entren en la fase S del ciclo celular (detención en la fase G1). Esto da como resultado la supresión de la replicación del ADN y una proliferación de células tumorales disminuida.

Los compuestos de la Tabla 4 fueron ensayados en cuanto a su capacidad de inhibir la actividad de cinasa de las proteína-cinasas enumeradas. Los compuestos se ensayaron en el modo de  $CI_{50}$  de 5 dosis, con dilución en serie en factores de 10 comenzando en 10  $\mu$ M. Se ensayó estaurosporina, un inhibidor conocido de proteína-cinasa, en el modo de  $CI_{50}$  de 5 dosis con dilución en serie en factores de 3 comenzando en 20 mM. Las reacciones se llevaron a cabo en ATP10  $\mu$ M.

Tabla 4

 $CI_{50}$  (nM)

Cinasa	PD0332991	8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo	Estaurosporina
ABL1	ND	75,64	66,37
ABL2/ARG	ND	91,57	21,58
ARK5	3.388,00	7,85	<1,0
c-Kit	>10.000	407,50	28,47
c-MET	ND	ND	378,10
c-Src	ND	93,01	1,49
CDK2/ciclina A	5.986,00	97,32	<1,0
CDK2/ciclina E	>10.000	769,50	2,13
CDK3/ciclina E	ND	3.219,00	10,13
CDK4/ciclina D1	7,41	4,00	22,14

ES 2 525 866 T3

Cinasa	PD0332991	8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3- <i>d</i> ]pirimidina-6-carbonitrilo	Estausporina
CDK4/ciclina D3	25,81	21,23	47,22
CDK5/p25	5.987,00	263,70	1,91
CDK5/p35	5.928,00	181,50	1,89
CDK6/ciclina D1	12,75	18,39	14,19
CDK6/ciclina D3	36,48	38,67	128,00
CDK7/ciclina H/MNAT1	ND	>10.000	195,80
CDK9/ciclina K	351,60	27,10	7,52
CDK9/ciclina T1	2.245,00	85,36	12,55
EphA1	ND	37,13	55,56
EPHA2	ND	113,70	108,20
EphB1	ND	26,74	49,32
EphB2/HEK5	ND	130,30	50,48
EphB4	ND	120,40	165,30
FGFR1	ND	68,15	3,44
FGFR2	ND	54,79	1,70
FGFR3	ND	123,60	6,45
FGFR4	ND	3.548,00	104,60
FGR	>10.000	112,20	<1,0
FLTINEGFRI	>10.000	94,14	4,32
FLT3	324,20	13,57	<1,0
FLT4NEGFR3	>10.000	63,51	4,99
FMS	1.990,00	1,46	1,14
FRK/PTK5	ND	574,70	51,44
FYN	>10.000	26,59	2,26
LCK	>10.000	50,41	2,07
LIMK1	ND	70,84	3,26
LOK/STK10	2.443,00	180,90	4,68
LYN	>10.000	68,53	<1,0
LYNB	ND	6.645,00	27,33

Cinasa	PD0332991	8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo	Estaurosporina
NLK	ND	45,27	51,44
PAK3	ND	1.929,00	<1,0
PDGFRb	980,30	2,64	<1,0
PKCmu	126,50	142,10	1,63
PKCnu/PRK D3	60,87	55,76	<1,0
PKG2/PRKG2	ND	ND	1,46
RIPK2	ND	40,75	138,50
SIK2/SNF1LK2	ND	96,79	33,78
SNARK/NUAK2	8.667,00	20,71	3,08
TAOK1	2.844,00	78,68	<1,0
TAOK2ITA01	1.781,00	69,64	4,41
TBK1	ND	71,78	<1,0
TGFbR2	ND	62,28	17.780,00
TTK	696,60	155,80	71,49
YES/YES1	3.675,00	38,08	<1,0
ZAK/MLTK	ND	29,49	19.480,00

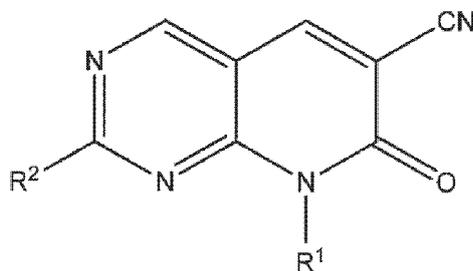
ND = no realizado

Tal como se observa en la Tabla 4, 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo tiene un perfil de inhibición de proteína-cinasa significativamente distinto en comparación con PD0332991. El compuesto de la invención es un inhibidor de proteína-cinasa multi-específico, siendo inhibidor frente a un abanico de proteína-cinasas más amplio que PD0332991.

5

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, o una sal del mismo,

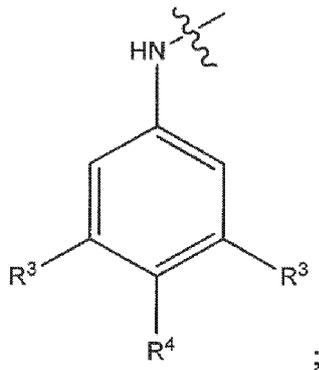


Fórmula I

5 en donde

R<sup>1</sup> es alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) o cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>);

R<sup>2</sup> es 4-(4-metilpiperazin-1-il)anilino, 4-morfolinoanilino, o bien



R<sup>3</sup> es, de manera independiente en cada aparición, alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); y

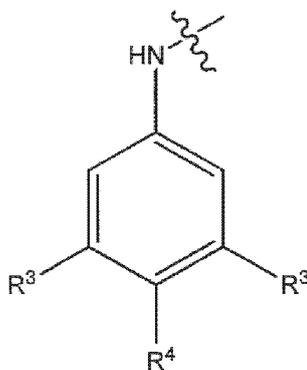
10 R<sup>4</sup> es H o alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).

2. El compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>2</sup> es 4-(4-metilpiperazin-1-il)anilino.

3. El compuesto según la reivindicación 2, en donde R<sup>1</sup> es cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>).

4. El compuesto según la reivindicación 3, en donde R<sup>1</sup> es ciclopentilo o ciclohexilo.

5. El compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>2</sup> es

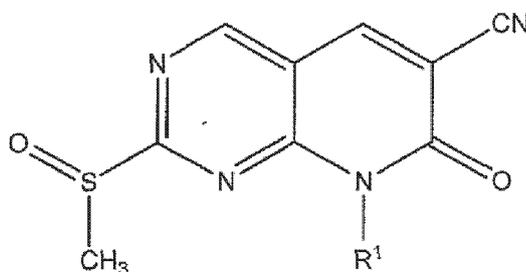


15

6. El compuesto según la reivindicación 5, en donde R<sup>1</sup> es ciclopentilo.

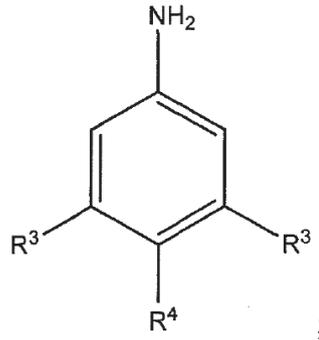
7. El compuesto según la reivindicación 6, en donde cada aparición de R<sup>3</sup> es metoxi.

8. El compuesto según la reivindicación 7, en donde R<sup>4</sup> es hidrógeno o metoxi.
9. El compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>4</sup> es 4-morfolinoanilino.
10. El compuesto según la reivindicación 9, en donde R<sup>1</sup> es ciclopentilo.
- 5 11. El compuesto según la reivindicación 1, en donde el compuesto está seleccionado del grupo consistente en 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclohexil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclopentil-2-((3,5-dimetoxifenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclopentil-7-oxo-2-((3,4,5-trimetoxifenil)amino)-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo; 8-ciclopentil-2-((4-morfolinofenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo; y sales de los mismos.
- 10 12. El compuesto según la reivindicación 11, en donde el compuesto es 8-ciclopentil-2-((4-(4-metilpiperazin-1-il)fenil)amino)-7-oxo-7,8-dihidropirido[2,3-d]pirimidina-6-carbonitrilo o una sal del mismo.
13. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 15 14. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o composición farmacéutica según la reivindicación 13, para uso en medicina.
15. Un compuesto o sal aceptable farmacéuticamente del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o composición farmacéutica según la reivindicación 13, para tratar un trastorno proliferativo celular.
- 20 16. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o composición farmacéutica, según la reivindicación 15, en donde el trastorno proliferativo celular está seleccionado del grupo consistente en cáncer, hemangiomatosis en el recién nacido, esclerosis múltiple progresiva secundaria, aterosclerosis, enfermedad mielodegenerativa progresiva crónica, neurofibromatosis, ganglioneuromatosis, formación de queloides, enfermedad ósea de Paget, enfermedad fibroquística de la mama, fibroides uterinos, enfermedad de Peyronie, enfermedad de Dupuytren, restenosis, enfermedad mamaria proliferativa benigna, hiperplasia prostática benigna, trastorno proliferativo linfocelular vinculado a X, trastorno proliferativo linfocelular posterior a trasplante, degeneración macular, retinopatías, vitreoretinopatía proliferativa y trastornos proliferativos linfocelulares no cancerosos.
- 25 17. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o composición farmacéutica, según la reivindicación 16, en donde el cáncer está seleccionado del grupo consistente en cáncer de ovario; cáncer cervical; cáncer de mama; cáncer de próstata; cáncer testicular, cáncer de pulmón, cáncer renal; cáncer colorrectal; cáncer de piel; cáncer de cerebro; leucemia, que incluye leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocelular aguda y leucemia linfocelular crónica.
- 30 18. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o composición farmacéutica según la reivindicación 13, para inducir apoptosis de células cancerosas en un individuo aquejado de cáncer.
19. Un compuesto o sal aceptable farmacéuticamente del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o composición farmacéutica según la reivindicación 13, para inhibir actividad de cinasa en un mamífero.
- 35 20. Un procedimiento para preparar un compuesto según la reivindicación 1, comprendiendo dicho procedimiento tratar un compuesto de Fórmula II



Fórmula II

- 40 con una amina seleccionada del grupo consistente en 4-(4-metilpiperazin-1-il)anilina, 4-morfolinoanilina, y



en donde

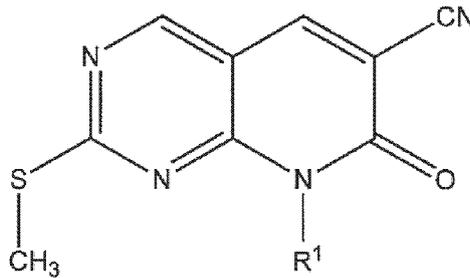
R<sup>1</sup> es alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) o cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>);

R<sup>3</sup> es, de manera independiente en cada aparición, alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); y

5 R<sup>4</sup> es H o alcoxi(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).

y obtener un compuesto según la reivindicación 1, o una sal del mismo.

21. El procedimiento según la reivindicación 20, en donde el compuesto de Fórmula II se prepara haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula III

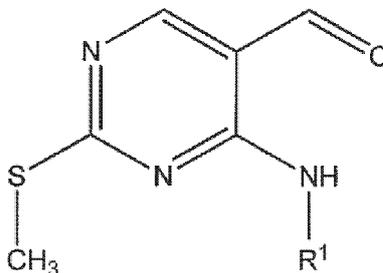


10

Fórmula III

con un oxidante.

22. El procedimiento según la reivindicación 21, en donde el compuesto de Fórmula III se prepara haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula IV

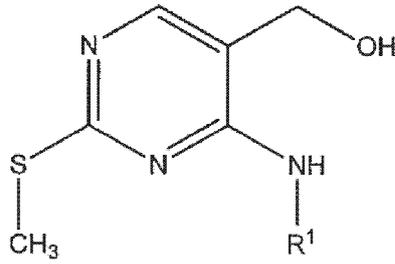


15

Fórmula IV

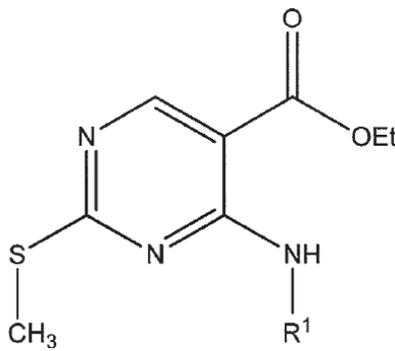
con ácido 2-cianoacético en presencia de bencilamina y ácido acético.

23. El procedimiento según la reivindicación 22, en donde el compuesto de Fórmula IV se prepara oxidando selectivamente un compuesto de Fórmula V



Fórmula V.

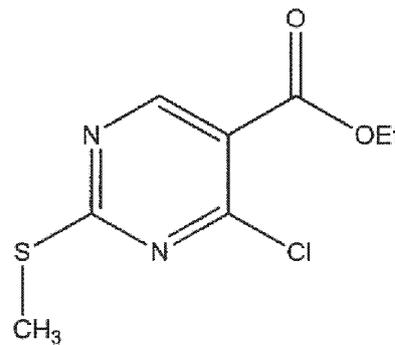
24. El procedimiento según la reivindicación 23, en donde el compuesto de Fórmula V se prepara reduciendo un compuesto de Fórmula VI



5

Fórmula VI.

25. El procedimiento según la reivindicación 24, en donde el compuesto de Fórmula VI se prepara haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula VII



10

Fórmula VII

con una amina que tiene la fórmula  $\text{NH}_2\text{R}^1$ .

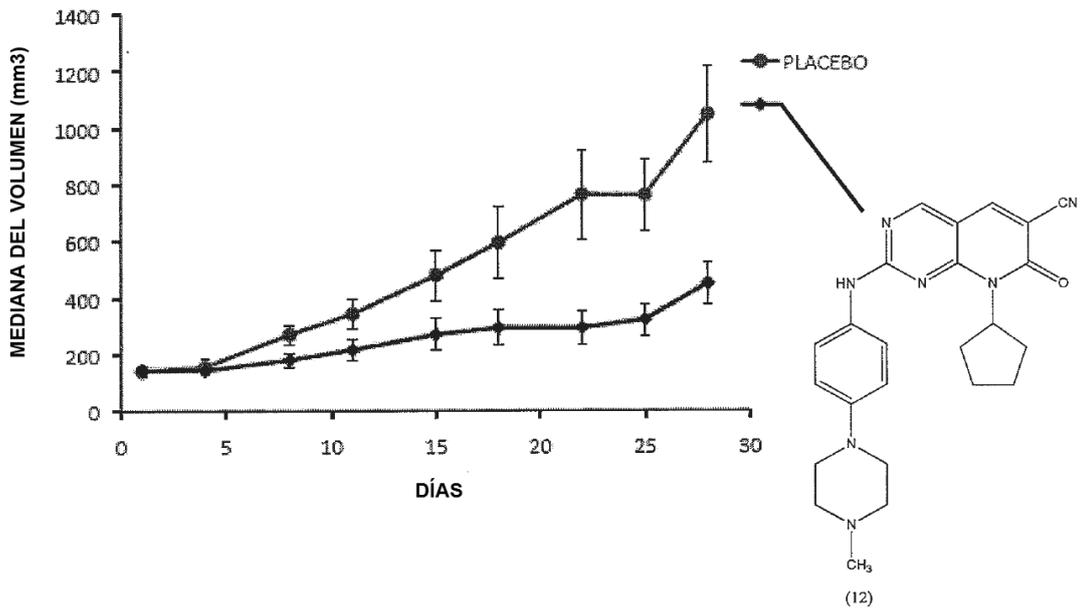


FIG. 1