

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 793**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.11.2007 E 12153131 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.10.2014 EP 2497772**

54 Título: **Compuestos para inhibir la progresión mitótica**

30 Prioridad:

16.11.2006 US 859340 P

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

12.02.2015

73 Titular/es:

**MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
40 Landsdowne Street
Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**CLAIBORNE, CHRISTOPHER F.;
SELLS, TODD B. y
STROUD, STEPHEN G.**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 528 793 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 para inhibir la progresión mitótica

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a compuestos y procedimientos para el tratamiento del cáncer. En particular, la invención proporciona un compuesto que inhibe enzimas Aurora quinasa, composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto, y procedimientos para usar el compuesto para el tratamiento de cáncer.

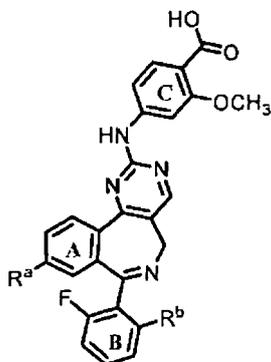
Antecedentes de la invención

- 10 De acuerdo con la Sociedad Americana del Cáncer, se diagnosticó un cáncer por primera vez a una estimación de 1,4 millones de americanos en 2004 y aproximadamente 560.000 víctimas murieron de la enfermedad. Aunque los avances médicos han mejorado las tasas de supervivencia de cáncer, sigue existiendo una necesidad continuada de tratamiento nuevo y más eficaz.

- 15 El cáncer se caracteriza por reproducción celular incontrolada. La mitosis es una etapa en el ciclo celular durante la que una serie de acontecimientos complejos aseguran la fidelidad de la separación de los cromosomas en dos células hija. Varias terapias de cáncer actuales, incluyendo los taxanos y alcaloides de la vinca, actúan para inhibir la maquinaria mitótica. La progresión mitótica se regula en gran medida por proteólisis y por acontecimientos de fosforilación que están mediados por quinastas mitóticas. Los miembros de la familia de Aurora quinasa (por ejemplo, Aurora A, Aurora B, Aurora C) regulan la progresión mitótica a través de modulación de la separación del centrosoma, dinámica del huso, punto de control de ensamblaje del huso, alineamiento cromosómico y citocinesis (Dutertre y col., *Oncogene*, 21: 6175 (2002); Berdnik y col., *Curr. Biol.*, 12: 640 (2002)). La sobreexpresión y/o amplificación de Aurora quinastas se ha ligado a oncogénesis en varios tipos tumorales incluyendo los de colon y mama (Warner y col., *Mol. Cancer Ther.*, 2: 589 (2003); Bischoff y col., *EMBO*, 17: 3062 (1998); Sen y col., *Cancer Res.*, 94: 1320 (2002)). Además, la inhibición de Aurora quinasa en células tumorales da como resultado detención mitótica y apoptosis, lo que sugiere que estas quinastas son dianas importantes para la terapia de cáncer (Ditchfield, *J. Cell Biol.*, 161: 267 (2003); Harrington y col., *Nature Med.*, 1 (2004)). Dado el papel central de la mitosis en la progresión de prácticamente todos los tumores malignos, se espera que los inhibidores de las Aurora quinastas tengan aplicación a lo largo de una amplia serie de tumores humanos. Existe por lo tanto una necesidad de nuevos inhibidores de Aurora quinasa.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

- 30 Claiborne y col., Publicación de Patente Internacional WO 05/111039, desvela compuestos de pirimidobenzazepina con actividad inhibidora de Aurora quinasa. Los presentes inventores han descubierto ahora compuestos de pirimidobenzazepina con potencia inesperadamente superior frente a Aurora A quinasa. Los compuestos reivindicados son útiles para inhibir la actividad de Aurora A quinasa *in vitro* e *in vivo*, y son especialmente útiles para el tratamiento de diversas enfermedades proliferativas celulares.
- 35 Por lo tanto, en un aspecto, la invención proporciona un compuesto para su uso en el tratamiento de un trastorno proliferativo representado por la fórmula (I):



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

R^a se selecciona entre el grupo que consiste en alifático C_{1-3} , fluoroalifático C_{1-3} , $-R^1$, $-T-R^1$, $-R^2$ y $-T-R^2$;

- 40 T es una cadena alquilo C_{1-3} opcionalmente sustituida con flúor;

R¹ es un anillo arilo, heteroarilo o heterociclilo de 5 ó 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halo, alifático C₁₋₃ y fluoroalifático C₁₋₃;

R² se selecciona entre el grupo que consiste en halo, -C≡C-R³, -CH=CH-R³, -N(R⁴)₂ y -OR⁵;

5 R³ es hidrógeno, C₁₋₃ alifático, C₁₋₃ fluoroalifático o -CH₂OCH₃ o un grupo arilo, heteroarilo o heterociclilo;

cada R⁴ independientemente es hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo o heterociclilo; o dos R⁴ en el mismo átomo de nitrógeno, tomados junto con el átomo de nitrógeno forman un anillo heteroarilo de 5 a 6 miembros o heterociclilo de 4 a 8 miembros que tiene, además del átomo de nitrógeno, 0-2 heteroátomos en el anillo seleccionados entre N, O y S;

10 R⁵ es hidrógeno, alifático C₁₋₃, fluoroalifático C₁₋₃ o un grupo arilo, heteroarilo o heterociclilo; y

R^b se selecciona entre el grupo que consiste en flúor, cloro, -CH₃, -CF₃, -OH, -OCH₃, -OCF₃, -OCH₂CH₃ y -OCH₂CF₃.

15 En ciertas realizaciones, R¹ es un anillo fenilo, furilo, pirrolidinilo o tienilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halo, alifático C₁₋₃ y fluoroalifático C₁₋₃.

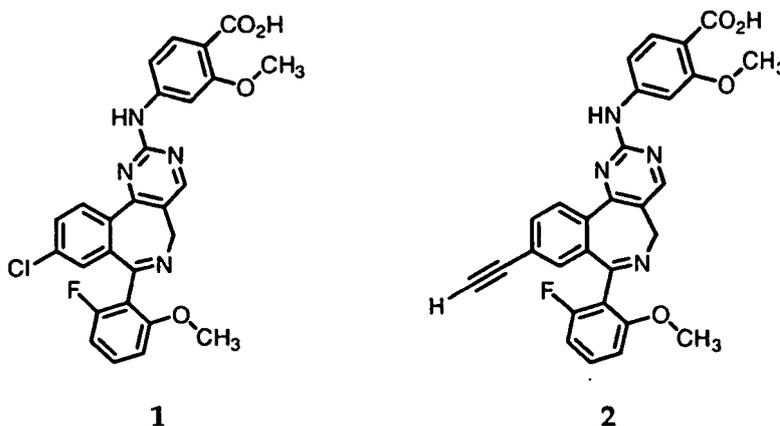
En algunas realizaciones, R³ es hidrógeno, alifático C₁₋₃, fluoroalifático C₁₋₃ o -CH₂-OCH₃.

En algunas realizaciones, R⁵ es hidrógeno, alifático C₁₋₃ o fluoroalifático C₁₋₃.

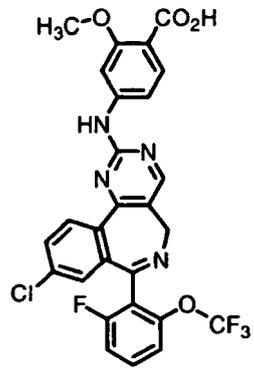
20 En ciertas realizaciones, R^a es halo, alifático C₁₋₃, fluoroalifático C₁₋₃, -OH, -O(alifático C₁₋₃), -O(fluoroalifático C₁₋₃), -C=C-R³, -CH=CH-R³, o un anillo pirrolidinilo, tienilo, furilo o fenilo opcionalmente sustituido, en el que R³ es hidrógeno, alifático C₁₋₃, fluoroalifático C₁₋₃ o -CH₂-OCH₃. En ciertas realizaciones particulares, R^a se selecciona entre el grupo que consiste en cloro, flúor, alifático C₁₋₃, fluoroalifático C₁₋₃, -OCH₃, -OCF₃, -C≡C-H, -C≡C-CH₃, -C≡C-CH₂OCH₃, -CH=CH₂, -CH=CHCH₃, N-metilpirrolidinilo, tienilo, metiltienilo, furilo, metilfurilo, fenilo, fluorofenilo y toliilo.

La Tabla 1 muestra ejemplos específicos de compuestos de fórmula (I).

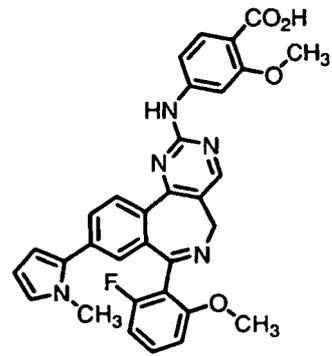
Tabla 1. Inhibidores de Aurora quinasa



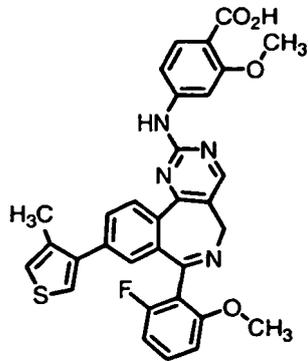
(continuación)



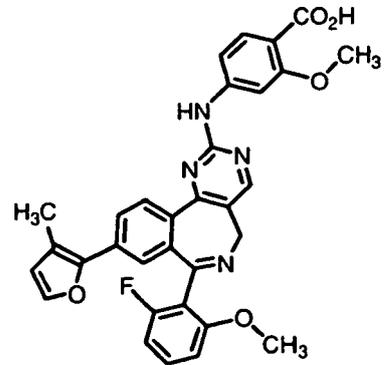
3



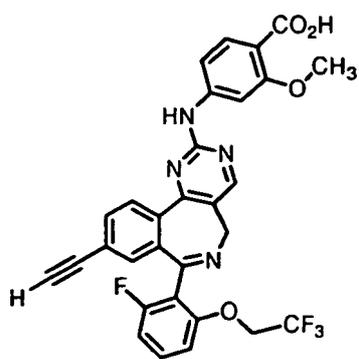
4



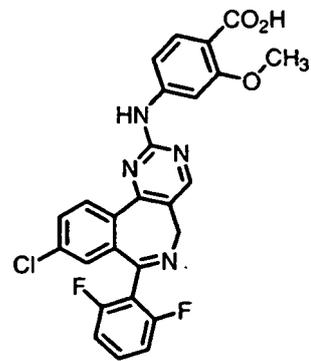
5



6

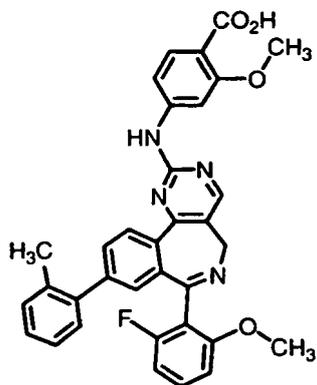


7

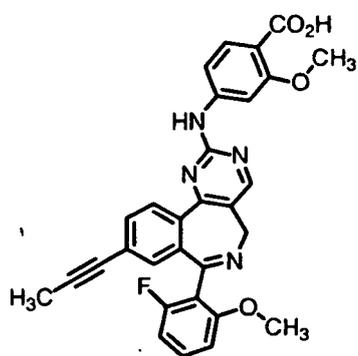


8

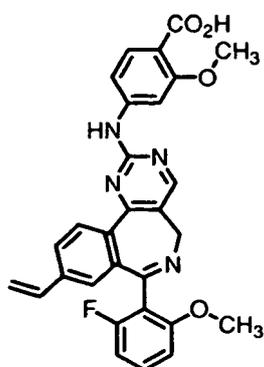
(continuación)



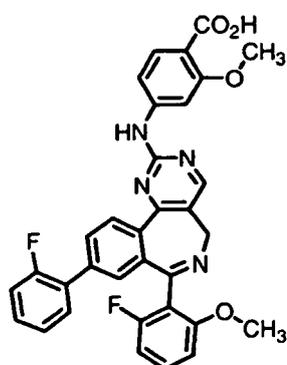
9



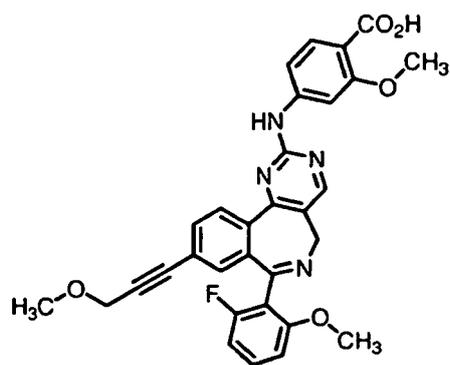
10



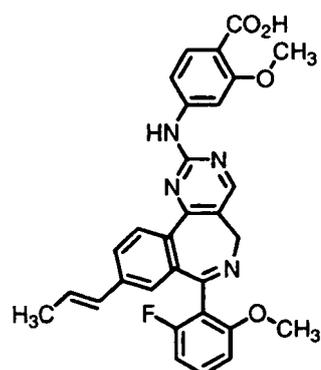
11



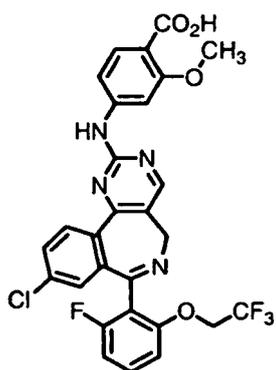
12



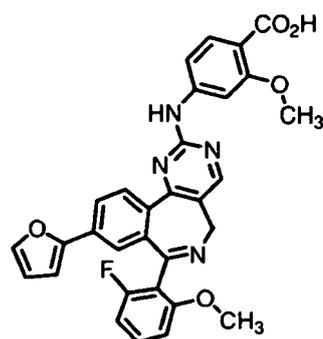
13



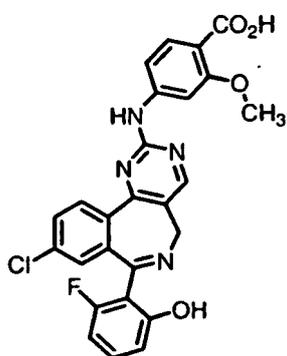
14



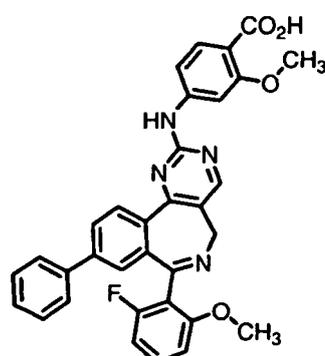
15



16



17



18

Los compuestos en la Tabla 1 anterior también pueden identificarse por los siguientes nombres químicos:

	Nombre Químico
1	ácido 4-{{9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico
2	ácido 4-{{9-etinil-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico
3	ácido 4-{{9-cloro-7-[2-fluoro-6-(trifluorometoxi)fenil]-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico
4	ácido 4-{{7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-(1-metil-1H-pirrol-2-il)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico
5	ácido 4-{{7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-(4-metil-3-tienil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico
6	ácido 4-{{7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-(3-metil-2-furil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico
7	ácido 4-{{9-etinil-7-[2-fluoro-6-(2,2,2-trifluoroetoxi)fenil]-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico
8	ácido 4-{{9-cloro-7-(2,6-difluorofenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico
9	ácido 4-{{7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-(2-metilfenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico
10	ácido 4-{{7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-prop-1-in-1-il-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico
11	ácido 4-{{7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-vinil-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il}amino}-2-metoxibenzoico

(continuación)

	Nombre Químico
12	ácido 4-[[7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-(2-fluorofenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino]-2-metoxibenzoico
13	ácido 4-[[7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-(3-metoxiprop-1-in-1-il)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il] amino]-2-metoxibenzoico
14	ácido 4-((7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-[(1E)-prop-1-en-1-il]-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il)amino)-2-metoxibenzoico
15	ácido 4-((9-cloro-7-[2-fluoro-6-(2,2,2-trifluoroetoxi)fenil]-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il)amino)-2-metoxibenzoico
16	ácido 4-[[7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-(2-furil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino]-2-metoxibenzoico
17	ácido 4-[[9-cloro-7-(2-fluoro-6-hidroxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino]-2-metoxibenzoico
18	ácido 4-[[7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-9-fenil]-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino)-2-metoxibenzoico

En una realización, el compuesto de fórmula (I) es ácido 4-[[9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino]-2-metoxibenzoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización particular, el compuesto de fórmula (I) es 4-[[9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino]-2-metoxibenzoato sódico.

A menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento pretenden incluir compuestos que difieren únicamente en presencia de uno o más átomos enriquecidos con isótopos. Por ejemplo, los compuestos que tienen la presente estructura excepto para el reemplazo de un átomo de hidrógeno por un deuterio o tritio, o el reemplazo de un átomo de carbono por un carbono enriquecido con ^{13}C o ^{14}C están dentro del alcance de la invención.

El término "alifático" o "grupo alifático", como se usa en el presente documento, se refiere a un hidrocarburo C_{1-12} cíclico sustituido o sin sustituir de cadena lineal o ramificada, que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático. Por ejemplo, los grupos alifáticos adecuados incluyen grupos alquilo, alqueno, alquino cíclicos sustituidos o sin sustituir, lineales o ramificados, e híbridos de los mismos, tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalqueno)alquilo o (cicloalquino)alqueno.

El término "cicloalifático", usado solo o como parte de un resto mayor, se refiere a un sistema de anillos alifático cíclico saturado o parcialmente insaturado que tiene de 3 a aproximadamente 14 miembros, en el que el sistema de anillos alifático está opcionalmente sustituido. En algunas realizaciones, el cicloalifático es un hidrocarburo monocíclico que tiene 3-8 ó 3-6 átomos de carbono en el anillo. Los ejemplos no limitantes incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, cicloheptenilo, ciclooctilo, ciclooctenilo y ciclooctadienilo. En algunas realizaciones, el cicloalifático es un hidrocarburo bicíclico puenteado o condensado que tiene 6-12, 6-10 ó 6-8 átomos de carbono en el anillo, en el que cualquier anillo individual en el sistema de anillos bicíclico tiene 3-8 miembros.

En algunas realizaciones, dos sustituyentes adyacentes en el anillo cicloalifático, tomados junto con los átomos en el anillo que intervienen, forman un anillo opcionalmente sustituido condensado aromático de 5 a 6 miembros o no aromático de 3 a 8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos en el anillo seleccionados entre el grupo que consiste en O, N y S. Por lo tanto, el término "cicloalifático" incluye anillos alifáticos que están condensados a uno o más anillos arilo, heteroarilo o heterociclilo. Los ejemplos no limitantes incluyen indanilo, 5,6,7,8-tetrahydroquinoxalinilo, decahidronaftilo o tetrahidronaftilo, en los que el radical o punto de unión está en el anillo alifático. El término "cicloalifático" puede usarse de forma intercambiable con los términos "carbociclo", "carbociclilo", "carbociclo" o "carbocíclico".

Las expresiones "arilo" y "ar-", usadas solas o como parte de un resto mayor, por ejemplo, "aralquilo", "aralcoxi" o "ariloxialquilo", se refieren a un hidrocarburo aromático de C_6 a C_{14} , que comprende de uno a tres anillos, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido. Preferentemente, el grupo arilo es un grupo arilo C_{6-10} . Los grupos arilo incluyen, sin limitación, fenilo, naftilo y antraceno. En algunas realizaciones, dos sustituyentes adyacentes en el anillo arilo, tomados junto con los átomos en el anillo que intervienen, forman un anillo opcionalmente sustituido condensado aromático de 5 a 6 miembros o no aromático de 4 a 8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos en el anillo seleccionados entre el grupo que consiste en O, N y S. Por lo tanto, el término "arilo", como se usa en el presente documento, incluye grupos en los que un anillo aromático está condensado a uno o más anillos heteroarilo, cicloalifáticos o heterociclilo, en los que el radical o punto de unión está en el anillo aromático. Los ejemplos no

limitantes de dichos sistemas de anillos condensados incluyen indolilo, isoindolilo, benzo-tienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinnolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, carbazolilo, acridinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, fluorenilo, indanilo, fenantridinilo, tetrahidronaftilo, indolinilo, fenoxazinilo, benzodioxanilo y benzodioxolilo. Un grupo arilo puede ser mono-, bi-, tri- o policíclico, preferentemente mono-, bi- o tricíclico, más preferentemente mono- o bicíclico. El término "arilo" puede usarse de forma intercambiable con las expresiones "grupo arilo", "resto arilo" y "anillo arilo".

Un grupo "aralquilo" o "arilalquilo" comprende un grupo arilo unido covalentemente a un grupo alquilo, cualquiera de los cuales está independientemente sustituido opcionalmente. Preferentemente, el grupo aralquilo es aril C₆₋₁₀-alquilo (C₁₋₆), aril C₆₋₁₀-alquilo (C₁₋₄) o aril C₆₋₁₀-alquilo (C₁₋₃), incluyendo, sin limitación, bencilo, fenetilo y naftilmetilo.

Las expresiones "heteroarilo" y "heteroar-", usadas solas o como parte de un resto mayor, por ejemplo, heteroaralquilo, o "heteroaralcoxi", se refieren a grupos que tienen de 5 a 14 átomos en el anillo, preferentemente 5, 6, 9 ó 10 átomos en el anillo; que tienen 6, 10 ó 14 π electrones compartidos en una matriz cíclica; y que tienen, además de átomos de carbono, de uno a cuatro heteroátomos. El término "heteroátomo" se refiere a nitrógeno, oxígeno o azufre, e incluye cualquier forma oxidada de nitrógeno o azufre, y cualquier forma cuaternizada de un nitrógeno básico. Los grupos heteroarilo incluyen, sin limitación, tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolizino, purinilo, naftiridinilo y pteridinilo. En algunas realizaciones, dos sustituyentes adyacentes en el heteroarilo, tomados junto con los átomos en el anillo que intervienen, forman un anillo opcionalmente sustituido condensado aromático de 5 a 6 miembros o no aromático de 4 a 8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos en el anillo seleccionados entre el grupo que consiste en O, N y S. Por lo tanto, los términos "heteroarilo" y "heteroar-", como se usan en el presente documento, también incluyen grupos en los que un anillo heteroaromático está condensado a uno o más anillos arilo, cicloalifáticos o heterociclilo, en los que el radical o punto de unión está en el anillo heteroaromático. Los ejemplos no limitantes incluyen indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinnolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 4H-quinolizino, carbazolilo, acridinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo y pirido[2,3-b]-1,4-oxazin-3(4H)-ona. Un grupo heteroarilo puede ser mono-, bi-, tri- o policíclico, preferentemente mono-, bi- o tricíclico, más preferentemente mono- o bicíclico. El término "heteroarilo" puede usarse de forma intercambiable con las expresiones "anillo heteroarilo", "grupo heteroarilo" o "heteroaromático", incluyendo cualquiera de dichos términos anillos que están opcionalmente sustituidos. El término "heteroaralquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un heteroarilo, en el que las porciones alquilo y heteroarilo están independientemente sustituidas opcionalmente.

Como se usa el presente documento, las expresiones "heterociclo", "heterociclilo", "radical heterocíclico" y "anillo heterocíclico" se usan de forma intercambiable y se refieren a un resto heterocíclico bicíclico estable monocíclico de 3 a 7 miembros, o a un resto heterocíclico bicíclico condensado de 7 a 10 miembros o puentado de 6 a 10 miembros que está saturado o parcialmente insaturado, y que tiene, además de átomos de carbono, uno o más, preferentemente de uno a cuatro, heteroátomos, como se ha definido anteriormente. Cuando se usa en referencia a un átomo del anillo de un heterociclo, el término "nitrógeno" incluye un nitrógeno sustituido. Como ejemplo, en un anillo heterociclilo que tiene 1-3 heteroátomos seleccionados entre oxígeno, azufre o nitrógeno, el nitrógeno puede ser N (como en 3,4-dihidro-2H-pirrolilo), NH (como en pirrolidinilo) o +NR (como en pirrolidinilo N-sustituido). Un anillo heterocíclico puede estar unido a su grupo colgante en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que dé como resultado una estructura estable, y cualquiera de los átomos en el anillo puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos de dichos radicales heterocíclicos saturados o parcialmente insaturados incluyen, sin limitación, tetrahydrofuranoilo, tetrahidrotienilo, pirrolidinilo, pirrolidono, piperidinilo, piperolinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, decahydroquinolinilo, oxazolidinilo, piperazinilo, dioxanilo, dioxolanilo, diazepinilo, oxazepinilo, tiazepinilo, morfolinilo y quinuclidinilo.

En algunas realizaciones, dos sustituyentes adyacentes en un anillo heterocíclico, tomados junto con los átomos en el anillo que intervienen, forman un anillo opcionalmente sustituido condensado aromático de 5 a 6 miembros o no aromático de 3 a 8 miembros que tiene 0-3 heteroátomos en el anillo seleccionados entre el grupo que consiste en O, N y S. Por lo tanto, las expresiones "heterociclo", "heterociclilo", "anillo heterociclilo", "grupo heterocíclico", "resto heterocíclico" y "radical heterocíclico", se usan de forma intercambiable en el presente documento, e incluyen grupos en los que un anillo heterociclilo está condensado a uno o más anillos arilo, heteroarilo o cicloalifáticos, tales como indolinilo, 3H-indolilo, cromanilo, fenantridinilo o tetrahydroquinolinilo, en los que el radical o punto de unión está en el anillo heterociclilo. Un grupo heterociclilo puede ser mono-, bi-, tri-, o policíclico, preferentemente mono-, bi-, o tricíclico, más preferentemente mono- o bicíclico. El término "heterociclilalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un heterociclilo, en el que las porciones alquilo y heterociclilo están independientemente sustituidas opcionalmente.

Como se usa en el presente documento, la expresión "parcialmente insaturado" se refiere a un resto del anillo que incluye al menos un doble o triple enlace entre átomos en el anillo. La expresión "parcialmente insaturado" pretende incluir anillos que tienen múltiples sitios de insaturación, pero no pretende incluir restos arilo o heteroarilo, como se describe en el presente documento.

Los términos "haloalifático", "haloalquilo", "haloalqueno" y "haloalcoxi" se refieren a un grupo alifático, alquilo, alqueno o alcoxi, según sea el caso, que está sustituido con uno o más átomos de halógeno. Como se usa en el presente documento, el término "halógeno" o "halo" significa F, Cl, Br o I. El término "fluoroalifático" se refiere a un haloalifático, en el que el halógeno es flúor.

5 El término "alquileo" se refiere a un grupo alquilo bivalente. Una "cadena alquileo" es un grupo polimetileno, es decir, $-(CH_2)_n-$, en el que n es un número entero positivo, preferentemente de 1 a 6, de 1 a 4, de 1 a 3, de 1 a 2, o de 2 a 3. Una cadena alquileo sustituida es un grupo polimetileno en el que uno o más átomos de hidrógeno de metileno se reemplazan por un sustituyente. Los sustituyentes adecuados incluyen los descritos a continuación para un grupo alifático sustituido. Una cadena alquileo también puede estar sustituida en una o más posiciones con un grupo alifático o un grupo alifático sustituido.

10 El término "sustituido", como se usa en el presente documento, significa que un radical de hidrógeno del resto designado se reemplaza por el radical de un sustituyente específico, con la condición de que la sustitución dé como resultado un compuesto químicamente viable o estable. La expresión "uno o más sustituyentes", como se usa en el presente documento, se refiere a un número de sustituyentes que iguala de uno al número máximo de sustituyentes posibles en base al número de sitios de enlace disponibles, con la condición de que las condiciones anteriores de estabilidad y viabilidad química se cumplan. A menos que se indique otra cosa, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo, y los sustituyentes pueden ser iguales o diferentes.

20 Un grupo arilo (incluyendo el resto arilo en aralquilo, aralcoxi, ariloxialquilo y similares) o heteroarilo (incluyendo el resto heteroarilo en heteroaralquilo, heteroaralcoxi y similares) puede contener uno o más sustituyentes. Los ejemplos de sustituyentes adecuados en el átomo de carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo incluyen -halo, $-NO_2$, $-CN$, $-R^*$, $-C(R^*)=C(R^*)_2$, $-C\equiv C-R^*$, $-OR^*$, $-SR^0$, $-S(O)R^0$, $-SO_2R^0$, $-SO_3R^0$, $-SO_2N(R^+)_2$, $-N(R^+)_2$, $-NR^+C(O)R^*$, $-NR^+C(O)N(R^+)_2$, $-NR^+CO_2R^0$, $-O-CO_2R^*$, $-OC(O)N(R^+)_2$, $-O-C(O)R^*$, $-CO_2R^*$, $-C(O)-C(O)R^*$, $-C(O)R^*$, $-C(O)N(R^+)_2$, $-C(O)N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)_2$, $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)-C(O)R^*$, $-C(=NR^+)-N(R^+)_2$, $-C(=NR^+)-OR^*$, $-N(R^+)-N(R^+)_2$, $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)_2$, $-NR^+SO_2R^0$, $-NR^+SO_2N(R^+)_2$, $-P(O)(R^+)_2$, $-P(O)(OR^+)_2$, $-O-P(O)-OR^*$ y $-P(O)(NR^+)-N(R^+)_2$; o dos sustituyentes adyacentes, tomados junto con sus átomos intervinientes, forman un anillo insaturado o parcialmente insaturado de 5-6 miembros que tiene 0-3 átomos en el anillo seleccionados entre el grupo que consiste en N, O y S.

30 Un grupo arilo (incluyendo el resto arilo en aralquilo, aralcoxi, ariloxialquilo y similares) o heteroarilo (incluyendo el resto heteroarilo en heteroaralquilo y heteroaralcoxi y similares) puede contener uno o más sustituyentes. Los ejemplos de sustituyentes adecuados en el átomo de carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo incluyen -halo, $-NO_2$, $-CN$, $-R^*$, $-C(R^*)=C(R^*)_2$, $-C\equiv C-R^*$, $-OR^*$, $-SR^0$, $-S(O)R^0$, $-SO_2R^0$, $-SO_3R^0$, $-SO_2N(R^+)_2$, $-N(R^+)_2$, $-NR^+C(O)R^*$, $-NR^+C(O)N(R^+)_2$, $-NR^+CO_2R^0$, $-O-CO_2R^*$, $-OC(O)N(R^+)_2$, $-O-C(O)R^*$, $-CO_2R^*$, $-C(O)-C(O)R^*$, $-C(O)R^*$, $-C(O)N(R^+)_2$, $-C(O)N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)_2$, $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)-C(O)R^*$, $-C(=NR^+)-N(R^+)_2$, $-C(=NR^+)-OR^*$, $-N(R^+)-N(R^+)_2$, $-N(R^+)C(=NR^+)-N(R^+)_2$, $-NR^+SO_2R^0$, $-NR^+SO_2N(R^+)_2$, $-P(O)(R^+)_2$, $-P(O)(OR^+)_2$, $-O-P(O)-OR^*$ y $-P(O)(NR^+)-N(R^+)_2$; o dos sustituyentes adyacentes, tomados junto con sus átomos intervinientes, forman un anillo insaturado o parcialmente insaturado de 5-6 miembros que tiene 0-3 átomos en el anillo seleccionados entre el grupo que consiste en N, O y S.

40 Cada R^+ , independientemente, es hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo o heterociclilo opcionalmente sustituido, o dos R^+ en el mismo átomo de nitrógeno, tomados junto con el átomo de nitrógeno, forman un anillo aromático o no aromático de 5-8 miembros que tiene, además del átomo de nitrógeno, 0-2 heteroátomos en el anillo seleccionados entre N, O y S. Cada R^* independientemente es hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo o heterociclilo opcionalmente sustituido. Cada R^0 es un grupo alifático o arilo opcionalmente sustituido.

45 Un grupo alifático o un anillo heterocíclico no aromático pueden estar sustituidos con uno o más sustituyentes. Los ejemplos de sustituyentes adecuados en el carbono saturado de un grupo alifático o de un anillo heterocíclico no aromático incluyen, sin limitación, los que se han enumerado anteriormente para el carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo y los que se indican a continuación: $=O$, $=S$, $=C(R^*)_2$, $=N-N(R^*)_2$, $=N-OR^*$, $=N-NHC(O)R^*$, $=N-NHCO_2R^0$, $=N-NHSO_2R^0$, o $=N-R^*$, en los que cada R^* y R^0 es como se ha definido anteriormente.

50 Los sustituyentes adecuados en el átomo de nitrógeno de un anillo heterocíclico no aromático incluyen $-R^*$, $-N(R^*)_2$, $-C(O)R^*$, $-CO_2R^*$, $-C(O)-C(O)R^*-C(O)CH_2C(O)R^*$, $-SO_2R^*$, $-SO_2N(R^*)_2$, $-C(=S)N(R^*)_2$, $-C(=NH)-N(R^*)_2$ y $-NR^*SO_2R^*$; en los que cada R^* es como se ha definido anteriormente.

55 Los compuestos de fórmula (I) son inhibidores de Aurora quinasa. Los compuestos pueden ensayarse *in vitro* o *in vivo* con respecto a su capacidad para unirse a y/o inhibir una Aurora quinasa. Los ensayos *in vitro* incluyen ensayos para determinar la inhibición de la capacidad de una Aurora quinasa para fosforilar una proteína o péptido sustrato. Ensayos *in vitro* alternativos cuantifican la capacidad del compuesto para unirse a una Aurora quinasa. La unión del inhibidor puede medirse por radiomarcaje del inhibidor antes de la unión, aislando el complejo inhibidor/Aurora quinasa y determinando la cantidad de radiomarcador unido. Como alternativa, la unión del inhibidor puede determinarse realizando un experimento de competición en el que se incuban nuevos inhibidores con Aurora quinasa unida a un radioligando nuevo. Los compuestos de la invención también pueden ensayarse con respecto a

su capacidad para afectar a las funciones celulares o fisiológicas mediadas por la actividad Aurora quinasa. Se describen en los Ejemplos y/o se conocen en la técnica ensayos para cada una de estas actividades.

5 Los compuestos de fórmula (I) se pueden utilizar en un método para inhibir la actividad Aurora quinasa en una célula, que comprende poner en contacto una célula en la que se desea la inhibición de Aurora quinasa con el inhibidor de Aurora quinasa de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Preferentemente, el procedimiento provoca una inhibición de la proliferación celular de las células con las que se pone en contacto. La frase "inhibición de la proliferación celular" se usa para indicar una capacidad de un inhibidor de Aurora quinasa para inhibir el número de células o el crecimiento celular en células que entran en contacto en comparación con células que no entran en contacto con el inhibidor. Puede realizarse una evaluación de la proliferación celular contando células usando un contador celular o mediante un ensayo de viabilidad celular, por ejemplo, un ensayo BrdU, MTT, XTT o WST. Cuando las células están en un crecimiento sólido (por ejemplo, un tumor sólido u órgano), puede realizarse una evaluación tal de la proliferación celular midiendo el crecimiento, por ejemplo, con calibradores, y comparando el tamaño del crecimiento de células puestas en contacto con células no puestas en contacto.

15 Preferentemente, el crecimiento de células puestas en contacto con el inhibidor se retrasa al menos aproximadamente un 50 % en comparación con el crecimiento de células no puestas en contacto. En diversas realizaciones, la proliferación celular de células puestas en contacto se inhibe en al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 90 % o al menos aproximadamente un 95 % en comparación con células no puestas en contacto. En algunas realizaciones, la frase "inhibición de la proliferación celular" incluye una reducción del número de células puestas en contacto, en comparación con células no puestas en contacto. Por lo tanto, un inhibidor de Aurora quinasa que inhibe la proliferación celular en una célula puesta en contacto puede inducir que la célula puesta en contacto experimente retraso del crecimiento, experimente detención del crecimiento, experimente muerte celular programada (es decir, apoptosis) o experimente muerte celular necrótica.

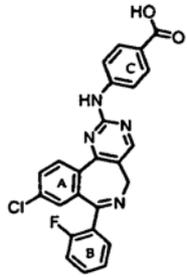
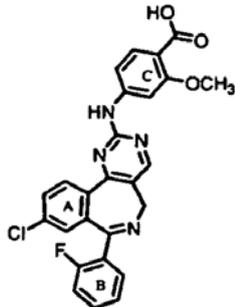
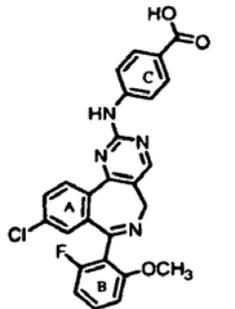
25 Los presentes inventores han descubierto que los compuestos de fórmula (I), que se caracterizan por un sustituyente metoxi en la posición *orto* para el sustituyente de ácido carboxílico en el Anillo C y un sustituyente no de hidrógeno R^b en el Anillo B, muestran potencia sorprendente en ensayos basados en células cuando se compara con compuestos estructuralmente similares.

30 Por ejemplo, la Tabla 2 muestra una comparación del compuesto 1 con los compuestos i, ii y iii desvelados en Claiborne y col., Publicación de Patente Internacional WO 05/111039. Los compuestos 1 y i-iii se ensayaron en tres ensayos celulares: (1) ensayo de autofosforilación de Aurora A pT288; (2) ensayo de proliferación celular de BrdU en células HCT116; y (3) ensayo de proliferación celular de BrdU en células SW480. Los protocolos para estos ensayos se conocen en la técnica y se describen en el Ejemplo 6. Los compuestos i y ii mostraron potencia muy similar en los tres ensayos, lo que sugiere que la adición de un sustituyente metoxi en la posición *orto* para el sustituyente de ácido carboxílico en el Anillo C tiene de poco a ningún efecto en la potencia celular. Por el contrario, el compuesto iii mostró potencia significativamente mejorada en los tres ensayos en comparación con el compuesto ii, lo que sugiere que un sustituyente adicional en el Anillo B mejora la potencia. A la vista de estos datos, el hecho de que el compuesto 1 sea más potente que los compuestos i y ii no era inesperado. Sorprendentemente, sin embargo, el compuesto 1 también muestra un notable aumento de 2 a 4 veces en potencia en comparación con el compuesto iii. Como indican estos datos, la combinación de un sustituyente de metoxi en la posición *orto* para el sustituyente de ácido carboxílico y un sustituyente no de hidrógeno R^b en el Anillo B proporciona una mejora inesperada de la potencia.

Tabla 2: Potencia Celular de Inhibidores de Aurora Quinasa

Compuesto	Estructura	CI ₅₀ de pT288 (μM)	DL ₅₀ de BrdU HCT116 (μM)	DL ₅₀ de BrdU SW480 (μM)
1		0,005	0,03	0,41

(continuación)

Compuesto	Estructura	Cl ₅₀ de pT288 (μM)	DL ₅₀ de BrdU HCT116 (μM)	DL ₅₀ de BrdU SW480 (μM)
i		0,18	0,707	6,502
ii		0,15	0,758	7,579
iii		0,018	0,13	0,94

5 El compuesto **1** también es más potente que el compuesto **iii** *in vivo*, como se demuestra en un modelo de xenotransplante de carcinoma de colon humano HCT116 en ratón (véase Ejemplo 7). Se espera que la potencia *in vivo* mejorada de los compuestos de fórmula (**1**) dé como resultado un índice terapéutico mejorado con respecto a efectos secundarios fuera de diana.

Se puede proporcionar un compuesto de fórmula (**1**), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una composición farmacéutica que también comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

10 Si se utiliza una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto en estas composiciones, la sal deriva preferentemente de un ácido o base inorgánico u orgánico. Para revisiones de sales adecuadas, véase, por ejemplo, Berge y col, J. Pharm. Sci. 66: 1-19 (1977) y Remington; The Science and Practice of Pharmacy, 20.^a Ed., ed. A. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

15 Los ejemplos no limitantes de sales de adición de ácidos adecuadas incluyen los siguientes: acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canfor sulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, lucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenil-propionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato.

20 Las sales de adición de bases adecuadas incluyen, sin limitación, sales de amonio, sales de metales alcalinos, tales como sales de sodio y potasio, sales de metales alcalinotérreos, tales como sales de calcio y magnesio, sales con bases orgánicas, tales como diciclohexilamina, *N*-metil-D-glucamina, *t*-butilamina, etilendiamina, etanolamina y colina y sales con aminoácidos tales como arginina, lisina y así sucesivamente. En una realización, el compuesto de fórmula (**1**) puede formularse como la sal de sodio correspondiente.

Además, los grupos que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse con tales agentes como haluros de alquilos inferiores, tales como, metil, etil, propil y butil cloruros, bromuros y yoduros; dialquil sulfatos, tales como dimetil, dietil, dibutil y diamil sulfatos, haluros de cadena larga tales como decil, lauril, miristil y estearil cloruros, bromuros y yoduros, aralquil haluros, tales como bencil y fenetil bromuros y otros. Se obtienen de este modo productos dispersables o solubles en agua o aceite.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" se usa en el presente documento para referirse a un material que es compatible con un sujeto receptor, preferentemente un mamífero, más preferentemente un ser humano, y es adecuado para suministrar un agente activo al sitio diana sin detener la actividad del agente. La toxicidad o efectos adversos, si los hubiera, asociados con el vehículo preferentemente son proporcionados a una relación de riesgo/beneficio razonable para el uso pretendido del agente activo.

Los términos "transportador", "adyuvante" o "vehículo" se usan de forma intercambiable en el presente documento e incluyen todos y cada uno de los disolventes, diluyentes y otros vehículos líquidos, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sean adecuados para la forma farmacéutica particular deseada. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20.^a Ed., ed. A. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000 desvela diversos vehículos usados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto siempre que cualquier medio de vehículo convencional sea incompatible con los compuestos de la invención, tal como por producción de cualquier efecto biológico indeseable o interacción de otro modo de una manera deletérea con cualquier otro componente o componentes de la composición farmacéuticamente aceptable, se contempla que su uso está dentro del alcance de la presente invención. Algunos ejemplos de materiales que pueden actuar como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas del suero, tales como albúmina de suero humano, sustancias tamponantes tales como fosfato de hidrógeno disódico, fosfato de hidrógeno potásico, carbonato sódico, bicarbonato sódico, carbonato potásico, bicarbonato potásico, hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio, glicina, ácido sórbico o sorbato potásico, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, agua sin pirógenos, sales o electrolitos tales como sulfato de protamina, fosfato de hidrógeno disódico, fosfato de hidrógeno potásico, cloruro sódico y sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato magnésico, polivinilpirrolidona, poliácridatos, ceras, polímeros en bloque de polietileno-polioxipropileno, lanolina, azúcares tales como lactosa, glucosa, sacarosa, almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata, celulosa y sus derivados tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa, goma de tragacanto en polvo; malta, gelatina, talco, excipientes tales como manteca de cacao y ceras de supositorios, aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja, glicoles tales como propilenglicol y polietilenglicol, ésteres tales como etil oleato y etil laurato, agar, ácido algínico, solución salina isotónica, solución de Ringer, alcoholes tales como etanol, alcohol isopropílico, alcohol hexadecílico y glicerol, ciclodextrinas, lubricantes tales como laurilsulfato sódico y estearato de magnesio, hidrocarburos del petróleo tales como aceite mineral y vaselina. También pueden estar presentes en la composición agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de revestimiento, agentes edulcorantes, saporíferos y perfumantes, conservantes y antioxidantes, de acuerdo con el criterio del formulador.

Las composiciones farmacéuticas pueden fabricarse por procedimientos bien conocidos en la técnica tales como procedimientos convencionales de granulación, mezcla, disolución, encapsulación, liofilización o emulsión, entre otros. Las composiciones pueden producirse en diversas formas, incluyendo gránulos, precipitados o particulados, polvos, incluyendo polvos liofilizados, secados por rotación o secados por pulverización, polvos amorfos, comprimidos, cápsulas, jarabe, supositorios, inyecciones, emulsiones, elixires, suspensiones o soluciones. Las formulaciones pueden contener opcionalmente disolventes, diluyentes y otros vehículos líquidos, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, modificadores del pH, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, estabilizadores y conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sea adecuado para la forma farmacéutica particular deseada.

Las composiciones se pueden formular para administración farmacéutica a un mamífero, preferentemente un ser humano. Tales composiciones farmacéuticas pueden administrarse por vía oral, vía parenteral, por pulverización de inhalación, por vía tópica, vía rectal, vía nasal, vía bucal, vía vaginal o mediante un depósito implantado. El término "parenteral" como se usa en el presente documento incluye técnicas de inyección o infusión subcutáneas, intravenosas, intramusculares, intraarticulares, intrasinoviales, intraesternales, intratecales, intrahepáticas, intralesionales e intracraneales. Preferentemente, las composiciones se administran por vía oral, vía intravenosa o vía subcutánea. Las formulaciones pueden diseñarse para ser de actuación corta, liberación rápida o actuación larga. Además, los compuestos pueden administrarse en un medio local en lugar de sistémico, tal como administración (por ejemplo, por inyección) en un sitio tumoral.

Las formas farmacéuticas líquidas para administración oral incluyen, pero sin limitación, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes habitualmente usados en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, etilcarbonato, etilacetato, alcohol bencílico, bencilbenzoato, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, ciclodextrinas, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz,

germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitan y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saporíferos y perfumantes.

- 5 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución de Ringer, U.S.P. y solución de cloruro sódico isotónica. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos estériles como un disolvente o medio de suspensión. Para este fin puede emplearse cualquier aceite fijo insípido incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables. Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, por filtración a través de un filtro que retiene bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso. Las composiciones formuladas para administración parenteral pueden inyectarse por inyección de embolada o por presión temporalizada, o pueden administrarse por infusión continua.

20 Para prolongar el efecto de un compuesto de la presente invención es deseable con frecuencia ralentizar la absorción del compuesto de inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede conseguirse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La tasa de absorción del compuesto depende por lo tanto de su tasa de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Como alternativa, se consigue absorción retardada de un compuesto administrado por vía parenteral disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso. Se preparan formas de liberación prolongada inyectables formando matrices microencapsuladas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la relación del compuesto y polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, la tasa de liberación del compuesto puede controlarse. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan formulaciones inyectables de liberación prolongada inmovilizando el compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con tejidos corporales.

- 30 Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferentemente supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de la presente invención con excipientes o vehículos adecuados no irritantes tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a temperatura corporal y por lo tanto se funden en el recto o la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

35 Las formas farmacéuticas sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable tal como citrato sódico o fosfato dicálcico y/o a) cargas o extensores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos y carbonato sódico, e) agentes retardantes de solución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolina y arcilla de bentonita e i) lubricantes tales como talco, estearato cálcico, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica también puede comprender agentes tamponantes tales como fosfatos o carbonatos.

45 También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando tales excipientes como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grajeas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con revestimientos y cubiertas tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y también pueden ser de una composición tal que liberen el principio o los principios activos solamente, o preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando tales excipientes como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

50 Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes tal como se ha observado anteriormente. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grajeas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con revestimientos y cubiertas tales como revestimientos entéricos, revestimientos de control de la liberación y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En tales formas farmacéuticas sólidas el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas farmacéuticas también pueden comprender, como es práctica habitual,

5 sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes de preparación de comprimidos y otros adyuvantes de preparación de comprimidos tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes. Pueden opcionalmente contener agentes opacificantes y también pueden ser de una composición tal que libere el principio o los principios activos solamente, o preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

10 Las formas farmacéuticas para administración tópica o transdérmica de un compuesto de la presente invención incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizaciones, inhalantes o parches. El componente activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario según puedan requerirse. También se contemplan formulaciones oftálmicas, gotas óticas y colirios dentro del alcance de la presente invención. Adicionalmente, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos que tienen la ventaja añadida de proporcionar suministro controlado de un compuesto al cuerpo. Tales formas farmacéuticas pueden prepararse disolviendo o dispersando el compuesto en el medio apropiado. También pueden usarse potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana controladora de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz o gel polimérico.

15 Las composiciones farmacéuticas de compuestos de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, son particularmente útiles en aplicaciones terapéuticas relacionadas con un trastorno mediado por Aurora quinasa. Como se usa en el presente documento, la expresión "trastorno mediado por Aurora quinasa" incluye cualquier trastorno, enfermedad o afección que está provocado o caracterizado por un aumento de la expresión o actividad de Aurora quinasa, o que requiere actividad Aurora quinasa. La expresión "trastorno mediado por Aurora quinasa" también incluye cualquier trastorno, enfermedad o afección en la que la inhibición de la actividad Aurora quinasa sea beneficiosa. Los trastornos mediados por Aurora quinasa incluyen trastornos proliferativos. Los ejemplos no limitantes de trastornos proliferativos incluyen trastornos proliferativos inflamatorios crónicos, por ejemplo, psoriasis y artritis reumatoide; trastornos oculares proliferativos, por ejemplo, retinopatía diabética; trastornos proliferativos benignos, por ejemplo, hemangiomas; y cáncer.

20 Preferentemente, la composición se formula para administración a un paciente que tenga o esté en riesgo de desarrollar o experimentar una recurrencia de un trastorno mediado por Aurora quinasa. El término "paciente", como se usa en el presente documento, significa un animal, preferentemente un mamífero, más preferentemente un ser humano. Las composiciones farmacéuticas preferidas de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, son las formuladas para administración oral, intravenosa, o subcutánea. Sin embargo, cualquiera de las formas farmacéuticas anteriores que contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, están dentro de los límites de la experimentación rutinaria. La composición farmacéutica puede comprender adicionalmente otro agente terapéutico. Preferentemente, otro agente terapéutico tal es uno normalmente administrado a pacientes con la enfermedad o afección que se trate.

25 Por "cantidad terapéuticamente eficaz" se entiende una cantidad suficiente para provocar una reducción detectable de actividad Aurora quinasa o la gravedad de un trastorno mediado por Aurora quinasa. La cantidad de inhibidor de Aurora quinasa necesaria dependerá de la eficacia del inhibidor para el tipo celular dado y la cantidad de tiempo requerida para tratar el trastorno. También debería entenderse que un régimen de tratamiento y dosificación específico para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente, momento de administración, tasa de excreción, combinaciones farmacológicas, el criterio del médico a cargo, y la gravedad de la enfermedad particular que se trate. La cantidad de agente terapéutico adicional presente en la composición de la presente invención típicamente no será mayor que la cantidad que normalmente se administraría en una composición que comprenda ese agente terapéutico como el único agente activo. Preferentemente, la cantidad de agente terapéutico adicional variará de aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % de la cantidad normalmente presente en una composición que comprende ese agente como el único agente terapéuticamente activo.

30 Las composiciones de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, pueden formularse en formas farmacéuticas unitarias para facilitar la administración y conseguir uniformidad de dosificación. La expresión "forma farmacéutica unitaria" como se usa en el presente documento se refiere a una unidad físicamente discreta de agente apropiada para el paciente que va a tratarse. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y composiciones de los mismos, se decidirá por el médico a cargo dentro del alcance del criterio médico razonable. Una forma farmacéutica unitaria para administración parenteral puede estar en ampollas o en envases multidosis.

35 Los compuestos de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se pueden utilizar en un procedimiento para tratar a un paciente que tenga o esté en riesgo de desarrollar o experimentar una recurrencia de un trastorno mediado por Aurora quinasa. El procedimiento comprende la etapa de administrar al paciente un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o composición farmacéutica del mismo.

Los compuestos y composiciones farmacéuticas pueden usarse para conseguir un efecto terapéutico o profiláctico beneficioso, por ejemplo, en un paciente con un trastorno proliferativo, como se ha analizado anteriormente. Los compuestos y composiciones farmacéuticas son particularmente útiles para el tratamiento del cáncer.

5 Como se usa en el presente documento, el término “cáncer” se refiere a un trastorno celular caracterizado por proliferación celular incontrolada o desregulada, diferenciación celular reducida, capacidad inapropiada para invadir el tejido circundante y/o capacidad para establecer nuevo crecimiento en sitios ectópicos. El término “cáncer” incluye, pero sin limitación, tumores sólidos y tumores sanguíneos. El término “cáncer” abarca enfermedades de la piel, tejidos, órganos, hueso, cartílago, sangre y vasos. El término “cáncer” abarca adicionalmente cánceres primarios y metastásicos.

10 Los ejemplos no limitantes de tumores sólidos que pueden tratarse por los procedimientos de la invención incluyen cáncer pancreático; cáncer de vejiga; cáncer colorrectal; cáncer de mama, incluyendo cáncer de mama metastásico; cáncer de próstata, incluyendo cáncer de próstata dependiente de andrógenos e independiente de andrógenos; cáncer renal, incluyendo, por ejemplo, carcinoma de células renales metastásico; cáncer hepatocelular; cáncer de pulmón, incluyendo, por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), carcinoma bronquioloalveolar (BAC) y adenocarcinoma del pulmón; cáncer ovárico, incluyendo, por ejemplo, cáncer peritoneal primario o epitelial progresivo; cáncer cervical; cáncer gástrico; cáncer esofágico; cáncer de cabeza y cuello, incluyendo, por ejemplo, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello; melanoma, cáncer neuroendocrino, incluyendo tumores neuroendocrinos metastásicos; tumores cerebrales, incluyendo, por ejemplo, glioma, oligodendroglioma anaplásico, glioblastoma multiforme del adulto y astrocitoma anaplásico del adulto; cáncer de hueso; y sarcoma de tejido blando.

20 En algunas otras realizaciones, el cáncer es un tumor maligno hematológico. Los ejemplos no limitantes de tumores malignos hematológicos incluyen leucemia mieloide aguda (AML); leucemia mielógena crónica (CML), incluyendo CML acelerada y fase de blasto de CML (CML-BP); leucemia linfoblástica aguda (ALL); leucemia linfocítica crónica (CLL); enfermedad de Hodgkin (HD); linfoma no de Hodgkin (NHL), incluyendo linfoma folicular y linfoma de células de manto; linfoma de linfocitos B; linfoma de linfocitos T; mieloma múltiple (MM); macroglobulinemia de Waldenstrom; síndromes mielodisplásicos (MDS), incluyendo anemia refractaria (RA), anemia refractaria con sideroblastos anillados (RARS), anemia refractaria con exceso de blastos (RAEB) y RAEB en transformación (RAEB-T); y síndromes mieloproliferativos.

30 En algunas realizaciones, el compuesto o composición de la invención se usa para tratar un cáncer en el que la actividad de una Aurora quinasa está amplificada. En algunas realizaciones, el compuesto o composición de la invención se usa para tratar a un paciente que tiene o está en riesgo de desarrollar o experimentar una recurrencia en un cáncer seleccionado del grupo que consiste en cáncer colorrectal, cáncer ovárico, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de próstata y cáncer pancreático. En ciertas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer pancreático.

35 En algunas realizaciones, el inhibidor de Aurora quinasa de la invención se administra junto con otro agente terapéutico. El otro agente terapéutico también puede inhibir Aurora quinasa o puede actuar por un mecanismo diferente. En algunas realizaciones, el otro agente terapéutico es uno que normalmente se administra a pacientes con la enfermedad o afección que se trata. El inhibidor de Aurora quinasa de la invención puede administrarse con el otro agente terapéutico en una forma farmacéutica sencilla o como una forma farmacéutica separada. Cuando se administra como una forma farmacéutica separada, el otro agente terapéutico puede administrarse antes de, a la vez
40 que, o después de la administración del inhibidor de Aurora quinasa de la invención.

En algunas realizaciones, el inhibidor de Aurora quinasa de la invención se administra junto con un agente terapéutico seleccionado del grupo que consiste en agentes citotóxicos, radioterapia e inmunoterapia. Los ejemplos no limitantes de agentes citotóxicos adecuados para su uso en combinación con los inhibidores de Aurora quinasa de la invención incluyen: antimetabolitos, incluyendo, por ejemplo, capecitabina, gemcitabina, 5-fluorouracilo o 5-fluorouracilo/leucovorina, fludarabina, citarabina, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina y metotrexato; inhibidores de topoisomerasa, incluyendo, por ejemplo, etopósido, tenipósido, camptotecina, topotecán, irinotecán, doxorrubicina, y daunorrubicina; alcaloides de la vinca, incluyendo, por ejemplo, vincristina y vinblastina; taxanos, incluyendo, por ejemplo, paclitaxel y docetaxel; agentes de platino, incluyendo, por ejemplo, cisplatino, carboplatino y oxaliplatino; antibióticos, incluyendo, por ejemplo, actinomicina D, bleomicina, mitomicina C, adriamicina, daunorrubicina, idarubicina, doxorrubicina y doxorrubicina liposomal pegilada; agentes alquilantes tales como melfalán, clorambucilo, busulfán, tiotepa, ifosfamida, carmustina, lomustina, semustina, estreptozocina, decarbazina y ciclofosfamida; talidomida y análogos relacionados, incluyendo, por ejemplo, CC-5013 y CC-4047; inhibidores de proteína tirosina quinasa, incluyendo, por ejemplo, mesilato de imatinib y gefitinib; anticuerpos, incluyendo, por ejemplo, trastuzumab, rituximab, cetuximab y bevacizumab; mitoxantrona; dexametasona; prednisona y temozolomida.
55

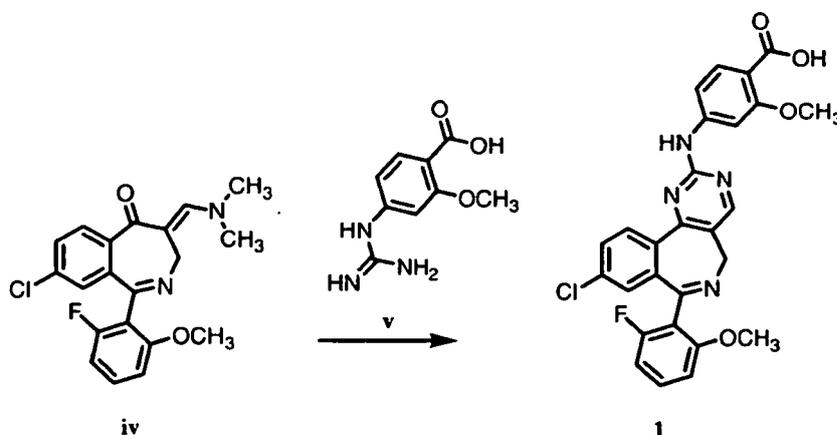
Para que la presente invención se entienda más completamente, se exponen los siguientes ejemplos preparatorios y de ensayo. Estos ejemplos ilustran cómo preparar o ensayar compuestos específicos y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención de ninguna manera.

Ejemplos

Definiciones

AcOH	ácido acético
ATP	trifosfato de adenosina
BrdU	5-bromo-2'-deoxiuridina
BSA	albúmina de suero bovino
DCM	diclorometano
DMSO	dimetilsulfóxido
DTT	ditiotreitól
EDTA	ácido etilendiaminatetraacético
EtOH	etanol
HPbCD	hidroxipropil beta-ciclodextrina
MeOH	metanol
MTT	metiltiazoltetrazolio
WST	(sal sódica de 4-[3-(4-yodofenil)-2-(4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benceno disulfonato)
PKA	cAMP-proteína cinasa dependiente
THF	tetrahidrofurano
h	horas
min	minutos
m/z	masa con respecto a carga
EM	espectro de masas
EMAR	espectro de masas de alto rendimiento

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de punto de fusión de capilaridad MEL-TEMP II y están sin corregir. Los espectros de RMN ^1H se registraron en un espectrómetro Bruker Avance 400. Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrómetro Waters ZQ 2000 (capilaridad de 3,5 kV, cono de 30 V). El análisis elemental se realizó por Atlantic Microlab.



Ejemplo 1: Preparación de ácido 4-[[9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino]-2-metoxibenzoico (1)

10 Puede prepararse 8-cloro-4-[(dimetilamino)metileno]-1-(2-fluoro-6-metoxifenil)-3,4-dihidro-5H-2-benzazepin-5-ona (**iv**) como se describe en Claiborne y col., Publicación de Patente de Estados Unidos 2005-256102. Puede prepararse ácido 4-[[amino(imino)metil]amino]-2-metoxibenzoico-HCl (**v**) de una manera similar a la que se describe en Sugiki y col., Publicación de Patente Internacional WO 01/042199.

15 Se añadió metanol (50,0 ml) a **iv** (2,39 g, 6,42 mmol), **v** (1,77 g, 7,21 mmol) y carbonato potásico-1,5 [H_2O] (2,65 g, 16,0 mmol) en un matraz de fondo redondo de 100 ml equipado con una barra de agitación y un condensador de reflujo. La mezcla de reacción se agitó a la temperatura de reflujo durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua (450 ml) y se acidificó a pH 1 con HCl 1 N. Se añadió éter dietílico (200 ml) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. El precipitado resultante se recogió por filtración y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice ($\text{NH}_4\text{OH}:\text{MeOH}:\text{DCM}$, 0,5:5:94,5 a 2:20:78), produciendo la sal de amonio en forma de un sólido de color castaño. El sólido se suspendió en agua (100 ml) y, con agitación rápida, se añadió HCl 1 N a pH 1. La mezcla se agitó durante aproximadamente 30 minutos, después se añadieron éter dietílico (50 ml) y acetato de etilo (5 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 hora. El producto se recogió en un embudo sinterizado (fino), se lavó con agua (50 ml) y éter dietílico (50 ml), y se secó al vacío a 40 °C durante una noche, proporcionando 1,65 g (rendimiento del 50%) de ácido 4-[[9-cloro-7-(2-

fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido(5,4-d) [2]benzazepin-2-il]amino)-2-metoxibenzoico (1). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 12,08 (s, 1H), 10,23 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,29 (d, 1H), 7,95 (s a, 1H), 7,80 (dd, 1H), 7,70 (d, 1H), 7,4-7,35 (m, 2H), 7,21 (s a, 1H), 6,9 (s a, 2H), 4,9 (s a, 1H), 3,9 (s a, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,3 (s a, 3H); EM *m/z* 519 (M⁺+H, 100%).

5 Los compuestos 2-18 se prepararon mediante procedimientos análogos a los que se han descrito para el compuesto 1 o en Claiborne y col., WO 05/111039.

Ejemplo 2: Preparación de la forma polimorfa 1 de 4-[[9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino]-2-metoxibenzoato sódico

10 A una suspensión agitada de ácido 4-[[9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il] amino]-2-metoxibenzoico (98,0 g, 190 mmol) en etanol (2,0 l) se le añadió hidróxido sódico 1,044 M en agua (199 ml). La solución homogénea resultante se agitó durante 1 hora, tiempo durante el cual se formó un precipitado espeso. El producto se recogió por filtración y se lavó con etanol (0,5 l) y éter dietílico (1,0 l). El sólido resultante se secó al vacío a 60-70 °C durante 4 días, proporcionando 88,6 g (86,8%) de 4-[[9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino]-2-metoxibenzoato sódico en forma de un sólido de color castaño claro, p.f. 225 °C (descomp.). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 9,86 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,29 (d, 1H), 7,79 (dd, 1H), 7,60 (s a, 1H), 7,40 (dd, 1H), 7,29 (d, 1H), 7,25-7,15 (m, 2H), 6,9 (s a, 2H), 4,9 (s a, 1H), 3,8 (s a, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,35 (s a, 3H); EM *m/z* 519 (M⁺-Na+H, 100%); CHN Anál. calc. para C₂₇H₁₉ClFN₄NaO₄·0,33 EtOH·1,3 H₂O: C, 57,33; H, 4,10; N, 9,67. Encontrado: C, 57,14; H, 3,99; N, 9,65.

Ejemplo 3: Preparación de la forma polimorfa 2 de 4-[[9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino]-2-metoxibenzoato sódico

20 Se suspendió la forma polimorfa 1 de 4-[[9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino]-2-metoxibenzoato sódico (100 mg) en agua (0,2 ml) y etanol (2 ml) y la mezcla se agitó con calentamiento a 70 °C durante 6 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, el sólido de color amarillo claro se recogió en un embudo sinterizado y se secó al vacío a 70 °C durante 3 días, produciendo 70 mg de la forma polimorfa cristalina 2, p.f. 265 °C. RMN ¹H (DMSO-d₆) δ : 9,86 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,29 (d, 1H), 7,79 (dd, 1H), 7,60 (s a, 1H), 7,40 (dd, 1H), 7,29 (d, 1H), 7,25-7,15 (m, 2H), 6,9 (s a, 2H), 4,9 (s a, 1H), 3,8 (s a, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,35 (s a, 3H). EM *m/z* 519 (M⁺-Na+H, 100%).

Ejemplo 4: Expresión y Purificación de Enzimas Proteína Quinasa

Expresión y Purificación de Enzima Aurora A

30 Se expresó Aurora A de ratón recombinante con un marcador de hexahistidina amino-terminal (His-Aurora A) usando un vector de baculovirus convencional y sistema de expresión en células de insectos (Bac-to-Bac®, Invitrogen).

Se purificó Aurora A de ratón recombinante soluble de células de insecto usando Ni-NTA agarosa (Qiagen) como se describe por el fabricante y se purificó adicionalmente sobre una columna de exclusión por tamaño S75 (Amersham Pharmacia Biotech).

35 Expresión y Purificación de Enzima Aurora B

Se expresó Aurora B de ratón recombinante con un marcador de hexahistidina amino-terminal (His-Aurora B) usando un vector de baculovirus convencional y sistema de expresión de células de insecto (Bac-to-Bac®, Invitrogen).

40 Se purificó Aurora B de ratón recombinante soluble de células de insecto usando Ni-NTA agarosa (Qiagen) como se describe por el fabricante.

Ejemplo 5: Ensayos de Enzima Proteína Quinasa

Ensayo de Aurora A DELFIA® Quinasa

45 La reacción enzimática de Aurora A de ratón tuvo un total de 25 µl y contenía Tris-HCl 25 mM (pH 8,5), MgCl₂ 2,5 mM, Surfact-AMPS-20 0,05 %, Fluoruro Sódico 5 mM, DTT 5 mM, ATP 1 mM, sustrato peptídico 3 µM (Biotin-β-Ala-QTRRKSTGGKAPR-NH₂), y enzima Aurora A murina recombinante 0,5 nM. La mezcla de reacción enzimática, con y sin compuesto de ensayo, se incubó durante 10 min a temperatura ambiente antes de terminación con 100 µl de tampón de parada (BSA 1 %, Surfact-AMPS-20 0,05 % y EDTA 100 mM). Se transfirió un total de 100 µl de la mezcla de reacción enzimática a pocillos de una placa de 96 pocillos revestida con Neutravidina (Pierce) y se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Los pocillos se lavaron con tampón de lavado (Tris 25 mM, cloruro sódico 150 mM y Tween 20 0,1 %) y se incubó durante 1 hora con 100 µl de mezcla de reacción de anticuerpos que contenía BSA 1 %, Surfact-AMPS-20 0,05 %, anticuerpo policlonal de conejo anti-fosfo-PKA (1:2000, New England Biolabs), e IgG anticonejo marcado con europio (1:2000, Perkin Elmer). Los pocillos se lavaron y después se liberó

el europio marcado usando 100 μ l de Solución de Potenciación (Perkin Elmer). Se realizó cuantificación de Europio usando un EnVision Wallac™ (Perkin Elmer).

Ensayo de Aurora B DELFIA® Quinasa

5 La reacción enzimática de Aurora B de ratón con un total de 25 μ l contenía Tris-HCl 25 mM (pH 8,5), MgCl₂ 2,5 mM, Surfact-AMPS-20 0,025 % (Pierce), Glicerol 1 %, DTT 1 mM, ATP 1 mM, sustrato peptídico 3 μ M (Biotin- β -Ala-QTRRKSTGGKAPR-NH₂) y enzima Aurora B murina recombinante 20 nM. La mezcla de reacción enzimática, con o sin compuesto de ensayo, se incubó durante 3 horas a temperatura ambiente antes de terminación con 100 μ l de tampón de parada (BSA 1 %, Surfact-AMPS-20 0,05 % y EDTA 100 mM). Se transfirió un total de 100 μ l de la mezcla de reacción enzimática a pocillos de una placa de 96 pocillos revestida con Neutravidina (Pierce) y se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Los pocillos se lavaron con tampón de lavado (Tris 25 mM, cloruro sódico 150 mM y Tween 20 0,1 %) y se incubó durante 1 hora con 100 μ l de mezcla de reacción de anticuerpos que contenía BSA 1 %, Surfact-AMPS-20 0,05 %, anticuerpo policlonal de conejo anti-fosfo-PKA (1:2000, New England Biolabs), e IgG anticonejo marcado con europio (1:2000, Perkin Elmer). Los pocillos se lavaron y después el europio unido se liberó usando 100 μ l de Solución de Potenciación (Perkin Elmer). Se realizó cuantificación de Europio usando un EnVision Wallac™ (Perkin Elmer).

Ejemplo 6: Ensayo Celular

Ensayo de Autofosforilación de Aurora A de pT288.

20 Se cultivaron células tumorales humanas (HCT-116, obtenidas de ATCC) en placas de 96 pocillos en medio 5A de McCoy complementado con suero de ternero bovino 10 % y L-glutamina 200 nM. Después de incubación, el medio de crecimiento se reemplazó con 75 μ l de medio nuevo y se añadieron 25 μ l de compuesto de ensayo a las células en diluciones seriadas dos veces en dimetilsulfóxido (DMSO) para conseguir concentraciones finales que variaban de 5 a 0,010 μ M. Se añadió compuesto de ensayo a cada dilución como repeticiones en 4 filas en la placa y se añadió DMSO (20 nM) a cada pocillo de dos columnas para los controles no tratados. Las células se trataron con compuesto de ensayo o DMSO durante 60 minutos a 37 °C en una cámara de cultivo celular humidificada. Las células se fijaron después con paraformaldehído 4 % en solución salina tamponada con fosfato (PBS) durante 10 minutos, se permearon con Triton X-100 0,5 % en PBS durante 10 minutos y se lavaron dos veces en PBS.

30 Las células se tiñeron con anticuerpo de conejo Fosfo-Aura 2/AIK (T288) (1:60) y anticuerpo de ratón MPM2 Anti-fosfo-Ser/Thr-Pro (1:750) seguido de IgG anti-conejo de cabra conjugado con Alexa 488 (1:180) e IgG anti-ratón de pollo conjugado con Alexa 594 (1:180; Molecular Probes). Las células se tiñeron después con IgG anti-cabra de pollo conjugado con Alexa 488 (1:180, Molecular Probes) y Hoechst (1:50.000). Las células se visualizaron usando un Sistema de Captura de Imágenes de Alto Contenido Discovery-1. Se capturaron imágenes de nueve o dieciséis sitios por pocillo a aumento 200X. La inhibición de Aurora A se determinó midiendo la intensidad fluorescente de pT288 (Autofosforilación de Aurora A) dentro de células inmunopositivas para MPM2 (mitóticas) usando software Metamorph. Se generaron curvas de respuesta a concentración calculando la reducción de intensidad fluorescente de pT288 en muestras tratadas con compuesto de ensayo en relación con controles tratados con DMSO, y se determinaron los valores de inhibición del crecimiento (CI₅₀) a partir de esas curvas.

Todos los compuestos 1-28 mostraron valores de CI₅₀ menores de o iguales a 0,03 μ M en este ensayo. Los compuestos 1-8 mostraron valores de CI₅₀ menores de o iguales a 0,01 μ M en este ensayo.

Ensayo de Proliferación celular de BrdU

40 La proliferación celular de cada línea celular se midió usando el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) de proliferación celular, kit colorimétrico de 5-bromo-2'-desoxiuridina (BrdU) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. El ensayo mide la proliferación celular cuantificando la incorporación de BrdU en ácido desoxirribonucleico (ADN) en replicación. Brevemente, cada pocillo se incubó con 10 μ l de reactivo de marcaje de BrdU durante 2 horas a 37 °C en una cámara de cultivo celular humidificada. Después de aspiración del medio de marcaje, las células se fijaron y se desnaturalizaron añadiendo 200 μ l de etanol a cada pocillo y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. El etanol se aspiró y se añadieron 100 μ l de anticuerpo anti-BrdU conjugado con peroxidasa (anti-BrdU-POD; 1:100 en tampón de dilución de anticuerpos) a las células. Las células se incubaron con el anticuerpo durante 90 minutos a temperatura ambiente. Las células se lavaron después 3x con 250 μ l de tampón de lavado/pocillo y se añadieron 100 μ l de tetrametil-bencidina a cada pocillo. Las células se incubaron durante 15 a 30 minutos a temperatura ambiente antes de análisis espectrofotométrico.

Se usó un lector de placas SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, Sunny Vale CA) para medir la absorbancia de cada pocillo a 370 nm. Se generaron curvas de respuesta a concentración calculando la reducción de densidad óptica en muestras tratadas con compuestos de ensayo en relación con los controles tratados con DMSO.

55 Todos los compuestos **1-18** mostraron valores de DL₅₀ menores de o iguales a 0,1 μ M en este ensayo en células HCT 116. Todos los compuestos **1-3, 5, 7-14, 17 y 18** mostraron valores de DL₅₀ menores de o iguales a 1,0 μ M en este ensayo en células SW480. Los compuestos **4 y 6** no se ensayaron.

Ejemplo 7: Ensayos *In vivo*Modelo de Eficacia Tumoral *In vivo*

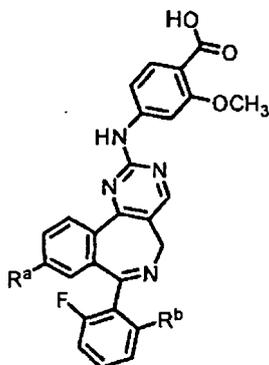
5 Se inyectaron de forma aséptica células HCT-116 (1×10^6) en medio de McCoy 5A en el espacio subcutáneo en el flanco dorsal derecho de ratones desnudos hembra CD-1 (8 semanas de edad, Charles River) usando una aguja de calibre 23. Se calcularon los volúmenes tumorales usando procedimientos convencionales ($0,5 \times (\text{longitud} \times \text{anchura}^2)$). Cuando los tumores alcanzaron un volumen de aproximadamente 200 mm^3 , se dosificó por vía oral a los ratones con compuesto **1** o compuesto **iii** a diversas dosis en un vehículo de HPbCD 10 % + NaHCO_3 1 %. Las dosis (0,1 ml) se administraron mediante aguja de sonda oral de calibre 22. Los animales de control recibieron solamente vehículo. Se dosificó a los animales una vez al día durante 21 días y hubo 10 animales en cada grupo. Se midieron el tamaño tumoral y el peso corporal dos veces por semana. Los compuestos **1** y **iii** se toleraron bien a todas las dosis en este estudio. A cada dosis, el compuesto **1** produjo retardo de crecimiento tumoral más largo [TGD = (tiempo para que los animales tratados alcancen el volumen tumoral medio de 1000 mm^3) - (tiempo para que los animales de control alcancen el volumen tumoral medio de 1000 mm^3)] y mayor inhibición del crecimiento tumoral [TGI = $(\text{volumen tumoral medio de los animales de control} - \text{volumen tumoral medio de los animales tratados}) * 100 / (\text{volumen tumoral medio de animales de control})$] que el compuesto **iii**.

10 Aunque la invención anterior se ha descrito en cierto detalle para los fines de claridad y entendimiento, estas realizaciones particulares deben considerarse como ilustrativas y no restrictivas. Se apreciará por un experto en la materia a partir de una lectura de la presente divulgación que pueden realizarse diversos cambios en forma y detalle sin apartarse del verdadero alcance de la invención, que se define por las reivindicaciones adjuntas en lugar de por las realizaciones específicas.

20

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- 5 R^a se selecciona entre el grupo que consiste en alifático C_{1-3} , fluoroalifático C_{1-3} , $-R^1$, $-T-R^1$, $-R^2$ y $-T-R^2$;
 T es una cadena alquileo C_{1-3} opcionalmente sustituida con flúor;
 R^1 es un anillo arilo, heteroarilo o heterociclilo de 5 ó 6 miembros opcionalmente sustituido con uno o dos
 sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halo, alifático C_{1-3} y
 fluoroalifático C_{1-3} ;
 10 R^2 se selecciona entre el grupo que consiste en halo, $-C\equiv C-R^3$, $-CH=CH-R^3$, $-N(R^4)_2$ y $-OR^5$;
 R^3 es hidrógeno, alifático C_{1-3} , fluoroalifático C_{1-3} o $-CH_2OCH_3$ o un grupo arilo, heteroarilo o heterociclilo;
 cada R^4 independientemente es hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo o heterociclilo; o dos R^4 en el
 mismo átomo de nitrógeno, tomados junto con el átomo de nitrógeno forman un anillo heteroarilo de 5 a 6
 miembros o heterociclilo de 4 a 8 miembros que tiene, además del átomo de nitrógeno, 0-2 heteroátomos en
 15 el anillo seleccionados entre N, O y S;
 R^5 es hidrógeno, alifático C_{1-3} , fluoroalifático C_{1-3} o un grupo arilo, heteroarilo o heterociclilo; y
 R^b se selecciona entre el grupo que consiste en flúor, cloro, $-CH_3$, $-CF_3$, $-OH$, $-OCH_3$, $-OCF_3$, $-OCH_2CH_3$ y $-OCH_2CF_3$;

para su uso en el tratamiento de un trastorno proliferativo.

- 20 2. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que R^a es halo, alifático C_{1-3} , fluoroalifático C_{1-3} , $-OH$, $-O$ (alifático C_{1-3}), $-O$ (fluoroalifático C_{1-3}) o $-C\equiv C-R^3$, $-CH=CH-R^3$, en el que R^3 es hidrógeno, alifático C_{1-3} , fluoroalifático C_{1-3} o $-CH_2-OCH_3$; o R^a es un anillo fenilo, furilo, pirrolidinilo o tienilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halo, alifático C_{1-3} y fluoroalifático C_{1-3} .
- 25 3. El compuesto para su uso según la reivindicación 2, en el que R^a se selecciona entre el grupo que consiste en cloro, flúor, alifático C_{1-3} , fluoroalifático C_{1-3} , $-OCH_3$, $-OCF_3$, $-C\equiv C-H$, $-C\equiv C-CH_3$, $-C\equiv C-CH_2OCH_3$, $-CH=CH_2$, $-CH=CHCH_3$, *N*-metilpirrolidinilo, tienilo, metiltienilo, furilo, metilfurilo, fenilo, fluorofenilo y tolilo.
4. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto es ácido 4-([9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino)-2-metoxibenzoato.
- 30 5. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto es ácido 4-([9-cloro-7-(2-fluoro-6-metoxifenil)-5H-pirimido[5,4-d][2]benzazepin-2-il]amino)-2-metoxibenzoato.
6. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el trastorno proliferativo es un trastorno proliferativo inflamatorio crónico, un trastorno ocular proliferativo o un trastorno proliferativo benigno.
- 35 7. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el trastorno proliferativo es psoriasis, artritis reumatoide, retinopatía diabética o hemangioma.
8. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el trastorno proliferativo es cáncer de vejiga; cáncer renal; cáncer hepatocelular; cáncer de pulmón; cáncer cervical; cáncer esofágico; cáncer de cabeza y cuello; melanoma; cáncer neuroendocrino; tumor cerebral; cáncer de hueso; o sarcoma de tejido blando.
9. El compuesto para su uso según la reivindicación 8, donde el trastorno proliferativo es cáncer de pulmón.

10. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el trastorno proliferativo es cáncer peritoneal primario o epitelial progresivo; cáncer de mama metastásico; o cáncer de próstata dependiente de andrógenos o independiente de andrógenos.
- 5 11. El compuesto para su uso según la reivindicación 10, donde el trastorno proliferativo es cáncer peritoneal primario o epitelial progresivo.
- 10 12. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el trastorno proliferativo es carcinoma de células renales metastásico; cáncer de pulmón de células no pequeñas; carcinoma bronquioloalveolar; adenocarcinoma del pulmón; carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello; tumor neuroendocrino metastásico; glioma; oligodendroglioma anaplásico; glioblastoma multiforme del adulto; o astrocitoma anaplásico del adulto.
13. Un compuesto tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para su uso en el tratamiento de un tumor maligno hematológico.
- 15 14. El compuesto para su uso según la reivindicación 13, donde el tumor maligno hematológico es leucemia mieloide aguda; leucemia mielógena crónica; leucemia linfoblástica aguda; leucemia linfocítica crónica; enfermedad de Hodgkin; linfoma no de Hodgkin; linfoma de linfocitos B; linfoma de linfocitos T; mieloma múltiple; macroglobulinemia de Waldenstrom; síndromes mielodisplásicos o un síndrome mieloproliferativo.
15. El compuesto para su uso según la reivindicación 14, donde el tumor maligno hematológico es linfoma de linfocitos T.
- 20 16. El compuesto para su uso según la reivindicación 14, donde la leucemia mielógena crónica es CML acelerada o fase de blasto de CML; el linfoma no de Hodgkin es linfoma folicular o linfoma de células de manto; los síndromes mielodisplásicos son anemia refractaria, anemia refractaria con sideroblastos anillados, anemia refractaria con exceso de blastos o RAEB en transformación.