

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 245**

51 Int. Cl.:

C07D 405/12 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.05.2009 E 09743783 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.07.2015 EP 2297115**

54 Título: **Derivados dialcoxiquinazolina como inhibidores de KDR**

30 Prioridad:

09.05.2008 US 118019

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

05.11.2015

73 Titular/es:

**HUTCHISON MEDIPHARMA ENTERPRISES
LIMITED (100.0%)
Offshore Group Chambers P.O. Box CB-12751
Nassau, BS**

72 Inventor/es:

**SU, WEI-GUO;
ZHANG, WEIHAN;
YAN, XIAOQIANG;
CUI, YUMIN;
REN, YONGXIN y
DUAN, JIFENG**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 550 245 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados dialcoxiquinazolina como inhibidores de VEGF

5 ANTECEDENTES

La angiogénesis es un proceso fisiológico de crecimiento de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes. Tiene lugar en un sujeto sano para curar heridas, es decir, restaurar el flujo sanguíneo a los tejidos después de una herida o lesión.

Una angiogénesis excesiva puede ser desencadenada por determinados estados patológicos como el cáncer, la degeneración macular relacionada con la edad y una enfermedad inflamatoria crónica. Como resultado, nuevos vasos sanguíneos alimentan los tejidos enfermos y destruyen los tejidos normales. En el cáncer, los nuevos vasos sanguíneos también permiten que las células tumorales escapen a la circulación y se alojan en otros órganos.

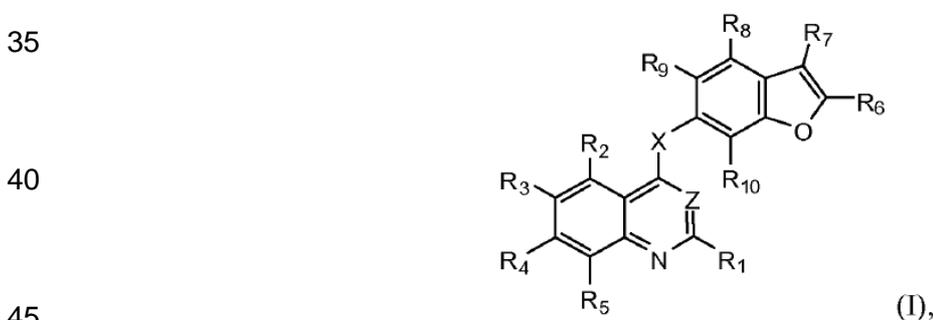
El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), una glicoproteína homodimérica, y sus receptores, por ejemplo, el receptor con dominio de inserción de quinasa (KDR), constituyen una importante vía angiogénica. Los estudios han demostrado que la inhibición de KDR daba como resultado la apoptosis de las células endoteliales y, por tanto, la supresión de la angiogénesis. Véase Rubin M. Tuder, Chest, 2000; 117: 281. Por lo tanto, los inhibidores de KDR son posibles candidatos para el tratamiento de un trastorno relacionado con la angiogénesis.

En el documento WO2005/063739 se describen análogos de quinolina que se dice son útiles en el tratamiento de enfermedades y afecciones que están asociadas con la actividad VEGF/KDR. En el documento WO2002/030924 se describen derivados quinazolina que se ha informado tienen actividad antitumoral.

25 RESUMEN

La presente invención se basa en el descubrimiento de que varios compuestos de quinazolina inhiben la actividad de KDR.

Un aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de quinazolina de la siguiente fórmula (I):



50 en los que cada uno de R_1 , R_2 , R_5 , R_8 , R_9 y R_{10} , independientemente, es H, halo, nitro, amino, ciano, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi, alquiltio, alquilcarbonilo, carboxi, alcoxycarbonilo, aminocarbonilo o aminosulfonilo; en los que cada uno de R_3 y R_4 es alcoxi; R_6 es alquilo; R_7 es $-C(O)NR_aR_b$, siendo cada uno de R_a y R_b , independientemente, H, alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo o heteroarilo, o R_a y R_b , junto con el átomo de nitrógeno al que están fijados, representan un anillo de 3-8 miembros que contiene 1-3 heteroátomos; X es O; y Z es N.

55 Los compuestos descritos anteriormente pueden tener una o más de las siguientes características: X es O; R_7 es $-C(O)NR_aR_b$, siendo cada uno de R_a y R_b , independientemente, H, alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo o heteroarilo, o R_a y R_b , junto con el átomo de nitrógeno, representan un anillo de 3-8 miembros que contiene 1-3 heteroátomos; R_6 es alquilo (por ejemplo, metilo); o cada uno de R_3 y R_4 es alcoxi (por ejemplo, metoxi). En un subconjunto de los compuestos anteriores de cada uno de R_a y R_b , independientemente, es H, alquilo (por ejemplo, metilo) o cicloalquilo (e, g, ciclopropilo).

60 El término "alquilo" en el presente documento se refiere a un hidrocarburo lineal o ramificado, que contiene 1-10 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *i*-butilo y *t*-butilo. El término "alcoxi" se refiere a un -O-alquilo.

65

El término "alquenilo" en el presente documento se refiere a un hidrocarburo lineal o ramificado C₂₋₁₀, que contiene uno o más dobles enlaces C=C. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen, pero no se limitan a, vinilo, 2-propenilo y 2-butenilo.

5 El término "alquinilo" en el presente documento se refiere a un hidrocarburo lineal o ramificado C₂₋₁₀, que contiene uno o más triples enlaces C≡C. Los ejemplos de grupos alquinilo incluyen, pero no se limitan a, etinilo, 2-propinilo y 2-butinilo.

10 El término "arilo" se refiere a un sistema de anillo aromático monocíclico de 6 carbonos, bicíclico de 10 carbonos, tricíclico de 14 carbonos, en el que cada anillo puede tener de 1 a 4 sustituyentes. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo y antraceno.

15 El término "cicloalquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo cíclico saturado y parcialmente insaturado que tiene de 3 a 12 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo y ciclooctilo.

20 El término "heteroarilo" se refiere a un sistema de anillo aromático monocíclico de 5-8 miembros, bicíclico de 8-12 miembros o tricíclico de 11-14 miembros que tiene uno o más heteroátomos (tales como O, N o S). Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen piridilo, furilo, imidazolilo, bencimidazolilo, pirimidinilo, tienilo, quinolinilo, indolilo y tiazolilo. El término "heteroaralquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo heteroarilo.

25 El término "heterocicloalquilo" se refiere a un sistema de anillo no aromático monocíclico de 3-8 miembros, bicíclico de 8-12 miembros o tricíclico de 11-14 miembros que tiene uno o más heteroátomos (tales como O, N o S). Los ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, piperazinilo, pirrolidinilo, dioxanilo, morfolinilo y tetrahidrofurano. Un heterocicloalquilo puede ser un anillo sacarídico, por ejemplo, glucosilo.

30 Los grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo y alcoxi mencionados en el presente documento incluyen restos tanto sustituidos como no sustituidos, en los que los sustituyentes están seleccionados de entre halo, hidroxilo, amino, ciano, nitro, mercapto, alcoxicarbonilo, amido, carboxi, alcanosulfonilo, alquilcarbonilo, carbamido, carbamilo, carboxilo, tioureido, tiocianato, sulfonamido, alquilo, alquenilo, alquinilo, alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo.

35 Los compuestos de quinazolina descritos anteriormente incluyen sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables, si procede.

A continuación se muestran ejemplos de los compuestos de la presente invención:

40

45

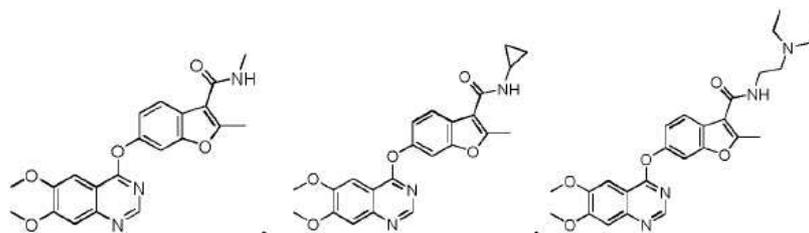
50

55

60

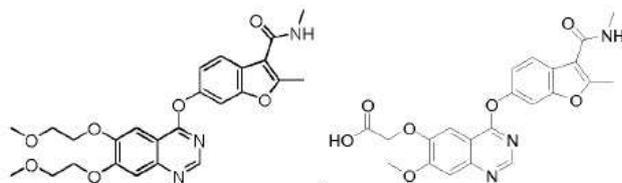
65

5



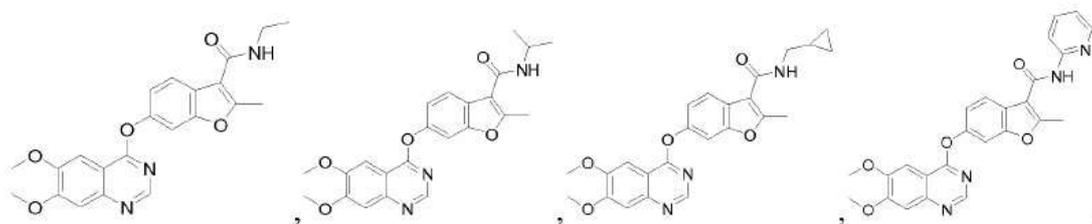
10

15



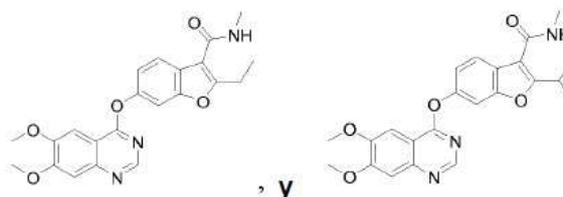
20

25



30

35



40

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto para su uso en un método de inhibición de la angiogénesis mediante la administración a un sujeto que lo necesita de una cantidad eficaz de un compuesto de quinazolina de fórmula (I) como se ha descrito anteriormente.

45

Todavía otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto para su uso en un método de tratamiento de un trastorno relacionado con la angiogénesis (por ejemplo, el cáncer, la degeneración macular relacionada con la edad o una enfermedad inflamatoria crónica). El método incluye administrar a un sujeto que tiene un trastorno relacionado con la angiogénesis una cantidad eficaz de uno o más de los compuestos de quinazolina de la presente invención. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero no se limitan a, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de ovarios, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer cerebral, cáncer de huesos y leucemia. Los ejemplos de trastornos inflamatorios crónicos incluyen, pero no se limitan a, una enfermedad inflamatoria intestinal (tal como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa), la artritis reumatoide, el lupus, la psoriasis y la diabetes mellitus.

55

También pertenece al alcance de la presente invención (1) una composición que contiene uno o más de los compuestos de quinazolina descritos anteriormente y un vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de un trastorno relacionado con la angiogénesis (por ejemplo, como el cáncer o la degeneración macular relacionada con la edad o una enfermedad inflamatoria crónica). También se describe en el presente documento (2) el uso de uno o más de los compuestos de quinazolina para la fabricación de un medicamento para tratar el trastorno.

60

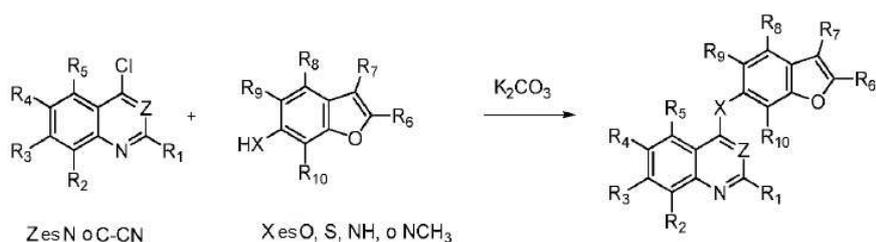
En la siguiente descripción se exponen los detalles de una o más formas de realización de la invención. Otras características, objetos y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la descripción y de las reivindicaciones.

65

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los compuestos de quinazolina de la presente invención pueden sintetizarse a partir de materiales de partida disponibles en el mercado mediante métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, como se muestra en el siguiente esquema 1, puede acoplarse un derivado 4-cloroquinazolina adecuado con un compuesto de benzofurano para obtener un compuesto de la presente invención

Esquema I



El compuesto así obtenido puede modificarse adicionalmente en sus posiciones periféricas para proporcionar otros compuestos de la presente invención.

Las transformaciones de química sintética útiles en la síntesis de compuestos de quinazolina deseables se describen, por ejemplo, en R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); T. W. Greene y P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª ed., John Wiley and Sons (1999); L. Fieser y M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); y L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995) y ediciones posteriores de los mismos.

Antes de su uso, los compuestos pueden purificarse mediante cromatografía en columna, cromatografía de líquidos de alto rendimiento, cristalización, u otros métodos adecuados.

Los compuestos de quinazolina de la presente invención, al entrar en contacto con KDR, inhiben la actividad de este receptor. Por lo tanto, puede utilizarse una cantidad eficaz de uno o más de estos compuestos para inhibir la angiogénesis y tratar a un sujeto que tiene un trastorno relacionado con la angiogénesis.

La expresión "una cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto de quinazolina necesaria para conferir el efecto deseado en el sujeto. Las cantidades eficaces pueden variar, como reconocen los expertos en la materia, dependiendo de la vía de administración, el uso de excipientes y la posibilidad del uso conjunto con otros agentes. El término "tratar" se refiere a la administración de uno o más de los compuestos de quinazolina descritos anteriormente a un sujeto que tiene un trastorno relacionado con la angiogénesis, o que tiene un síntoma del trastorno, o que tiene una predisposición al trastorno, con el fin de curar, sanar, aliviar, mitigar, modificar, remediar, mejorar o influir en el trastorno, los síntomas del trastorno o la predisposición al trastorno.

Para poner en práctica el presente método, puede administrarse una composición que tiene uno o más de los compuestos de quinazolina de la presente invención por vía oral, parenteral, mediante pulverización para inhalación, o mediante un depósito implantado. El término "parenteral" tal como se utiliza en el presente documento incluye técnicas de infusión o inyección subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intraarterial, intrasinoval, intraesternal, intratecal, intralesional e intracraneal.

Una composición oral puede ser cualquier forma de dosificación aceptable por vía oral incluida, pero no limitada a, comprimidos, cápsulas, emulsiones y suspensiones acuosas, dispersiones y soluciones. Los vehículos comúnmente utilizados para los comprimidos incluyen lactosa y almidón de maíz. Por lo general, también se añaden a los comprimidos agentes lubricantes, tal como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando las suspensiones o emulsiones acuosas se administran por vía oral, el principio activo puede suspenderse o disolverse en una fase oleosa combinado con emulsionantes o agentes de suspensión. Si se desea, pueden añadirse determinados edulcorantes, saporíferos o colorantes.

Puede formularse una composición inyectable estéril (por ejemplo, una suspensión acuosa u oleaginosa) según técnicas conocidas en la técnica utilizando dispersantes o humectantes adecuados (tales como, por ejemplo,

5 Tween 80) y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran el manitol, el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro sódico. Además, como disolvente o medio de suspensión se emplean convencionalmente aceites no volátiles estériles (por ejemplo, mono o diglicéridos sintéticos). Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados glicéridos son útiles en la preparación de inyectables, como lo son los aceites farmacéuticamente aceptables naturales, tales como el aceite de oliva o el aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Estas soluciones o suspensiones oleosas también pueden contener un diluyente o dispersante alcohólico de cadena larga, o carboximetilcelulosa o dispersantes similares.

10 Puede prepararse una composición para inhalación según técnicas conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica y pueden prepararse como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes, promotores de la absorción para mejorar la biodisponibilidad, fluorocarbonos, y/u otros solubilizantes o dispersantes adecuados conocidos en la técnica.

15 Puede formularse una composición tópica en forma de aceite, crema, loción, pomada y similares. Los vehículos adecuados para la composición incluyen aceites vegetales o minerales, vaselina blanca (parafina blanda blanca), grasas o aceites de cadena ramificada, grasas animales y alcoholes de alto peso molecular (superiores a C12). Los vehículos preferentes son aquellos en los que el principio activo es soluble. También pueden incluirse emulsionantes, estabilizantes, humectantes y antioxidantes, así como agentes que confieren color o fragancia, si se desea. Además, en estas formulaciones tópicas pueden emplearse potenciadores de la penetración transdérmica. Pueden encontrarse ejemplos de tales potenciadores en las patentes U.S. 3.989.816 y 4.444.762. Las cremas se formulan preferentemente a partir de una mezcla de aceite mineral, cera de abejas autoemulsionante y agua en cuya mezcla se mezcla el principio activo, disuelto en una pequeña cantidad de un aceite, tal como aceite de almendras. Un ejemplo de una crema de este tipo es una que incluye aproximadamente 40 partes de agua, aproximadamente 20 partes de cera de abeja, aproximadamente 40 partes de aceite mineral y aproximadamente 1 parte de aceite de almendras. Pueden formularse pomadas mezclando una solución del principio activo en un aceite vegetal, tal como aceite de almendras, con parafina blanda caliente y dejando que la mezcla se enfríe. Un ejemplo de una pomada de este tipo es una que incluye aproximadamente un 30% en peso de aceite de almendras y aproximadamente un 70% en peso de parafina blanda blanca.

20 Puede utilizarse una composición farmacéutica que sea "aceptable" en el sentido de que sea compatible con los principios activos de la formulación (y preferentemente, que pueda estabilizarla) y no perjudicial para el sujeto a tratar. Por ejemplo, pueden utilizarse solubilizantes, tales como ciclodextrinas (que forman complejos específicos más solubles con uno o más de los compuestos de quinazolina activos del extracto) como excipientes farmacéuticos para la administración de los principios activos. Los ejemplos de otros vehículos incluyen dióxido de silicio coloidal, estearato de magnesio, celulosa, lauril sulfato sódico, y D&C amarillo # 10.

25 Pueden utilizarse ensayos *in vitro* adecuados para evaluar de manera preliminar la eficacia de los compuestos de quinazolina descritos anteriormente en la inhibición de la actividad de KDR o en la inhibición de la actividad de VEGF. Los compuestos pueden examinarse adicionalmente para su eficacia en el tratamiento de un trastorno relacionado con la angiogénesis mediante ensayos *in vivo*. Por ejemplo, los compuestos pueden administrarse a un animal (por ejemplo, un modelo en ratones) con cáncer y, a continuación, acceder a sus efectos terapéuticos. En base a los resultados, también puede determinarse un intervalo de dosificación y una vía de administración apropiados.

30 Sin entrar en más detalles, se cree que la descripción anterior ha posibilitado de manera adecuada la presente invención. Por lo tanto, los siguientes ejemplos específicos deben interpretarse como meramente ilustrativos, y no limitativos en modo alguno del resto de la descripción.

35 Ejemplo 1: Síntesis de 6-(6,7-dimetoxiquinazolin-4-iloxi)-N,2-dimetilbenzofuran-3-carboxamida:

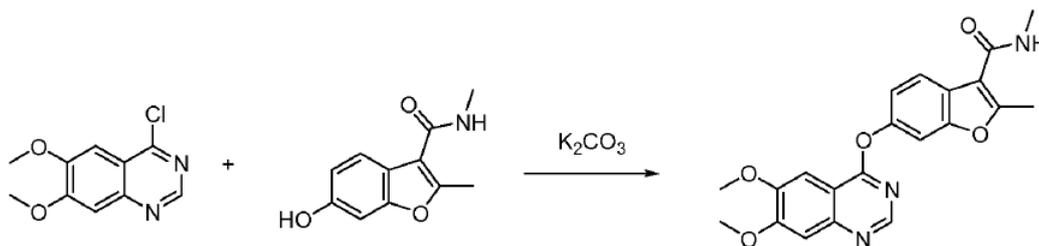
55

60

65

5

10



15

A una solución de 4-cloro-6,7-dimetoxiquinazolina (1 equiv.) en 2 ml de CH₃CN se añadieron 6-hidroxi-N,2-3-dimetilbenzofuran-carboxamida (1 equiv.) y K₂CO₃ (1,5 equiv.). La mezcla se calentó a reflujo con agitación durante 10 horas. Una vez evaporado el disolvente, el residuo se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄, se filtró, se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna para dar el compuesto del título con un rendimiento del 85%.

20

¹H RMN (DMSO-d₆, 400MHz) δ: 2,49 (s, 3H), 2,81 (d, J=8,4 Hz, 3H,10), 3,97 (s, 3H), 3,98 (s, 3H), 7,24 (dd, J=2,0, 8,4 Hz, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,61 (d, J=2,0 Hz, 1H), 7,79 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,96 (m, 1H), 8,52 (s, 1H), MS(m/e): 394,1 (M+1).

Ejemplo 2: Síntesis de 6-(6,7-dimetoxiquinazolin-4-ilamino)-N,2-dimetilbenzofuran-3-carboxamida

25

Este compuesto se preparó de manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

¹H RMN (DMSO-d₆, 400MHz) δppm: 2,74 (s, 3H), 2,83 (d, J=8,4 Hz, 3H), 3,95 (s, 3H), 3,98 (s,3H), 7,20 (s, 1H), 7,60 (dd, J=8,4, 2,0 HZ, 1H), 7,75 (d, J=8,4 HZ,1H), 7,89 (s, 2H), 8,22 (d, J=2 Hz, 1H), 8,50 (s, 1H), 9,65 (s, 1H). MS(m/e): 393,15 (M+1).

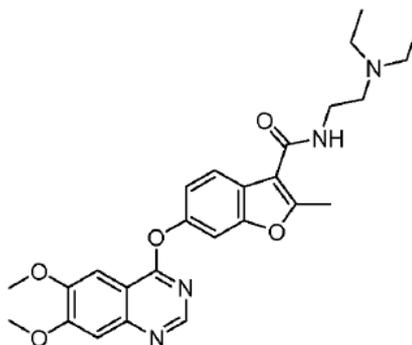
30

Ejemplo 3: Síntesis de N-(2-(dietilamino)etil)-6-(6,7-dimetoxiquinazolin-4-iloxi)-2-metilbenzofuran-3-carboxamida

35

40

45



Este compuesto se preparó de manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

50

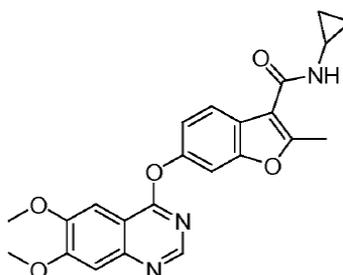
¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz): 8,54 (s, 1H), 7,85 (bs, 1H), 7,84-7,83 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,29-7,27 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,00 (d, J= 2,8 Hz, 6H), 2,67 (s, 3H), 2,64-2,51 (m, 8H), 1,02 (bs, 6H). MS (m/e): 479,5 (M+1).

Ejemplo 4: Síntesis de N-ciclopropil-6-(6,7-dimetoxiquinazolin-4-iloxi)-2-metilbenzofuran-3-carboxamida

55

60

65

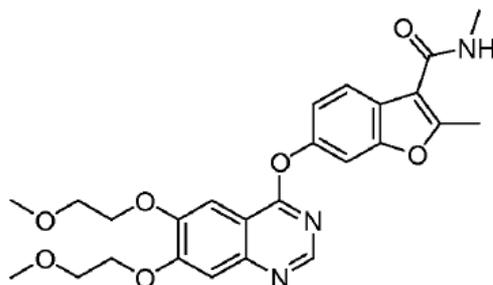


Este compuesto se preparó de manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz): 8,53 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,72-7,70 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,63-7,61 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,26-7,24 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,00 (d, J = 2,8 Hz, 6H), 2,88 (bs, 1H), 2,61 (s, 3H), 0,74-0,73 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 0,63 (bs, 2H).

MS (m/e): 420,4 (M+1).

Ejemplo 5: Síntesis de 6-(6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-iloxi)-N,2-dimetilbenzofuran-3-carboxamida



Este compuesto se preparó siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1.

MS (m/e): 482,2 (M+1).

Ejemplo 6: Inhibición de la actividad quinasa de KDR

Se evaluó la inhibición de la actividad quinasa de KDR por los compuestos de ensayo utilizando un kit ensayo de péptido Z'-LYTE™ Tyr1 (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU., cat. PV3190). El ensayo se realizó según los procedimientos recomendados por el fabricante.

En resumen, cada compuesto de ensayo en DMSO (10 mM) se diluyó a 1:4 con agua destilada que contenía DMSO al 8%. La solución se colocó en un pocillo de ensayo y tres pocillos de control (C1, C2 y C3) a 2,5 µl/pocillo en una placa de color negro de 384 pocillos (Thermo Labsystems, Cambridge, Reino Unido, cat. 7805). El péptido Z'-LYTE™ Tyr1, un sustrato peptídico doblemente marcado con fluoresceína-cumarina, se mezcló con un dominio catalítico de KDR (Invitrogen, cat. PV3660). Se añadieron 5 µl de la mezcla de quinasa/péptido a cada uno de los pocillos de ensayo, C1 y C2, pero no a C3 (concentración final: 0,3 µg/ml de quinasa, 2 µM de péptido). Se añadieron 5 µl de fósforo-péptido Tyr1 al pocillo C3. Se añadieron 2,5 µl de ATP 40 µM a los pocillos de ensayo y C2, y se añadieron a los pocillos C1 y C3 2,5 µl de 1,33 x tampón quinasa (1 x tampón: HEPES 50 mM, pH 7,5, Brij-35 al 0,01%, MgCl₂ 5 mM, MnCl₂ 5 mM, y EGTA 1 mM). La placa se centrifugó brevemente a 1.000 rpm para permitir que las soluciones se mezclaran bien en el fondo de los pocillos y, a continuación, se selló y se agitó a 250 rpm y 25°C durante 1 hora.

Se diluyó un reactivo de desarrollo a 1:128 siguiendo las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Se añadieron a cada pocillo 5 µl del reactivo de desarrollo diluido. La placa se centrifugó a 1.000 rpm para permitir que las soluciones se mezclaran bien en el fondo de los pocillos, y, a continuación, se selló y se agitó a 250 rpm y 25°C durante 1 hora.

Se añadieron a cada pocillo 5 µl de un reactivo de parada. La placa se centrifugó a 1.000 rpm y, a continuación, se selló y se agitó a 250 rpm y 25°C durante 2 minutos. Se midió la emisión de fluoresceína de la solución en cada pocillo con un lector de microplacas Victor™3 a una excitación de 400 nm/emisión 445 nm y 520 nm. La relación de emisión y el porcentaje de fosforilación ("Phos.") se calcularon mediante las siguientes ecuaciones:

5

$$\text{Relación de emisión} = \frac{\text{Emisión de cumarina (445 nm)}}{\text{Emisión de fluoresceína (520 nm)}}$$

10

15

$$\% \text{ de fosforilación} = 1 - \frac{(\text{Relación de emisión} \times F_{100\%}) - C_{100\%}}{(C_{0\%} - C_{100\%}) + [\text{Relación de emisión} \times (F_{100\%} - F_{0\%})]}$$

20

en la que

25

$C_{100\%}$ = señal de emisión media de cumarina del 100% de control de Phos.

$C_{0\%}$ = señal de emisión media de cumarina del 0% de control de Phos.

$F_{100\%}$ = señal de emisión media de fluoresceína del 100% de control de Phos.

$F_{0\%}$ = señal de emisión media de fluoresceína del 0% de control de Phos.

La relación de inhibición se calculó de la siguiente manera:

30

$$\% \text{ de inhibición} = (\text{Phos. en el pocillo C2} - \text{Phos. en el pocillo de ensayo}) / (\text{Phos. en el pocillo C2}) \times 100\%$$

35

Los valores de CI_{50} (concentración necesaria para inhibir la actividad quinasa de KDR en un 50%) se calcularon en base a las relaciones de inhibición así obtenidas.

El resultado mostró que los compuestos 1 - 5 inhibían la actividad de KDR. Los compuestos ensayados tenían valores de CI_{50} que iban de 0,001 μM a 10 μM .

40

OTRAS FORMAS DE REALIZACIÓN

45

Todas las características descritas en la presente memoria descriptiva pueden combinarse en cualquier combinación. Cada característica descrita en la presente memoria descriptiva puede sustituirse por una característica alternativa dentro del alcance de las reivindicaciones que desempeñe el mismo, equivalente o similar fin. Por lo tanto, a menos que se indique expresamente de otro modo, cada característica descrita sólo es un ejemplo de una serie genérica de características equivalentes o similares.

50

A partir de la anterior descripción, un experto en la materia puede determinar fácilmente las características esenciales de la presente invención, y sin alejarse del espíritu y el alcance de la misma, puede realizar diversos cambios y modificaciones de la invención dentro del alcance de las reivindicaciones para adaptarla a diversos usos y afecciones. Por ejemplo, pueden prepararse y utilizarse compuestos estructuralmente análogos a los compuestos de la presente invención dentro del alcance de las reivindicaciones para poner en práctica la presente invención. Por lo tanto, también quedan incluidas en las reivindicaciones otras formas de realización.

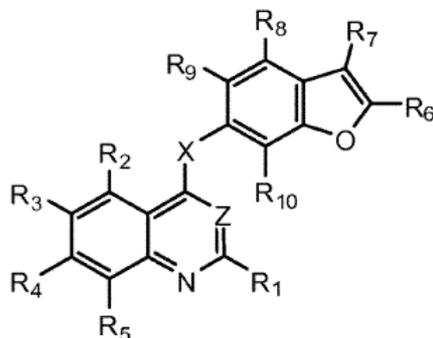
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de la siguiente fórmula:



en el que cada uno de R₁, R₂, R₅, R₈, R₉ y R₁₀, independientemente, es H, halo, nitro, amino, ciano, hidroxilo, alquilo que contiene 1-10 átomos de carbono, alquenilo que contiene 2-10 átomos de carbono, alquinilo que contiene 2-10 átomos de carbono, arilo monocíclico de 6 carbonos, bicíclico de 10 carbonos o tricíclico de 14 carbonos, cicloalquilo que contiene 3-12 átomos de carbono, heterocicloalquilo monocíclico de 3-8 miembros, bicíclico de 8-12 miembros o tricíclico de 11-14 miembros, heteroarilo monocíclico de 5-8 miembros, bicíclico de 8-12 miembros o tricíclico de 11-14 miembros, alcoxi, alquiltio, alquilcarbonilo, carboxi, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo o aminosulfonilo; en el que cada uno de R₃ y R₄ es alcoxi;

R₆ es alquilo;

R₇ es -C(O)NR_aR_b, siendo cada uno de R_a y R_b, independientemente, H, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo o heteroarilo, o R_a y R_b, junto con el átomo de nitrógeno al que están fijados, representan un anillo de 3-8 miembros que contiene 1-3 heteroátomos;

X es O; y

Z es N;

en el que cada uno del alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo y alcoxi incluye restos tanto sustituidos como no sustituidos, en el que los sustituyentes están seleccionados de entre halo, hidroxilo, amino, ciano, nitro, mercapto, alcoxicarbonilo, amido, carboxi, alcanosulfonilo, alquilcarbonilo, carbamido, carbamilo, carboxilo, tioureido, tiocianato, sulfonamido, alquilo, alquenilo, alquinilo, alquiloxi, arilo, heteroarilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo.

2. Compuesto según la reivindicación 1 en el que cada uno del alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo y alcoxi no está sustituido.

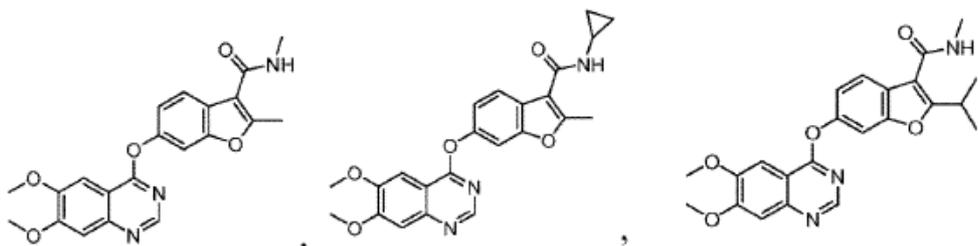
3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R₆ es metilo.

4. Compuesto según la reivindicación 1, en el que cada uno de R_a y R_b, independientemente, es H, alquilo o cicloalquilo.

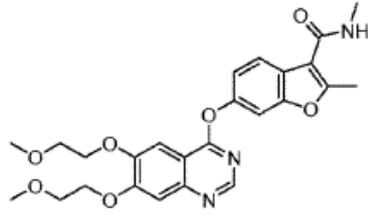
5. Compuesto según la reivindicación 4, en el que R_a es H y R_b es metilo.

6. Compuesto según la reivindicación 4, en el que cada uno de R₃ y R₄ es metoxi.

7. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto es:

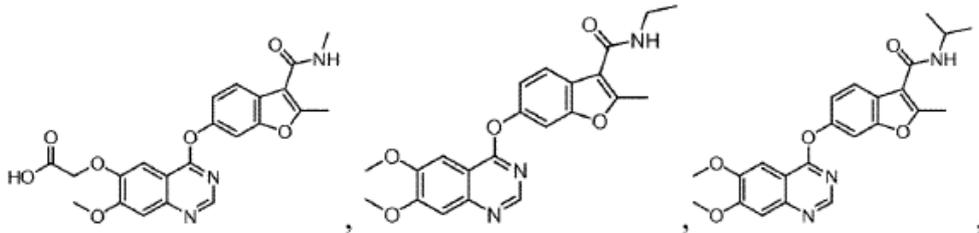


5



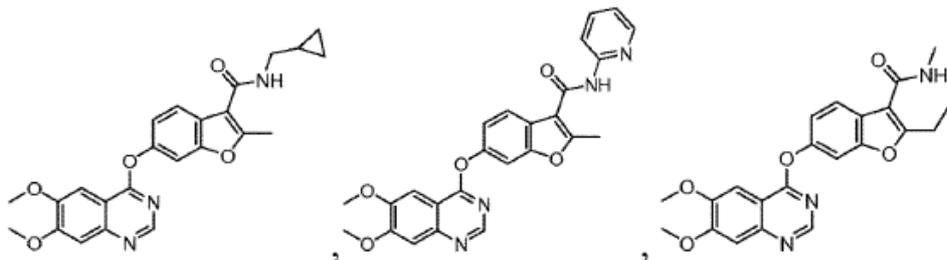
10

15



20

25



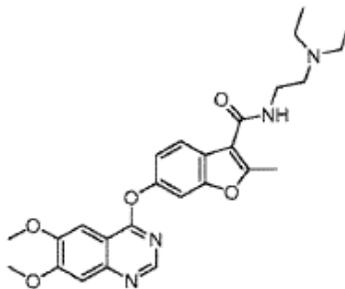
30

35

8. Compuesto

40

45



50

55

9. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

60

10. Compuesto según la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de un trastorno relacionado con la angiogénesis.

65

11. Compuesto según la reivindicación 10, en el que el trastorno relacionado con la angiogénesis es el cáncer, la degeneración macular relacionada con la edad o una enfermedad inflamatoria crónica.

65