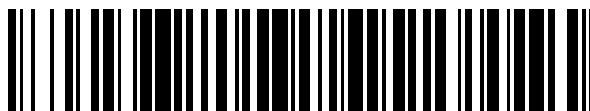


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 260**

51 Int. Cl.:

C07D 413/14 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.02.2013** **E 13702642 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.11.2015** **EP 2812328**

54 Título: **Moduladores de Aurora y FLT3 quinastas**

30 Prioridad:

06.02.2012 GB 201202027

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

18.02.2016

73 Titular/es:

SAREUM LIMITED (100.0%)
Unit 2A, Langford Arch London Road^o
Pampisford, Cambridge CB22 3FX, GB

72 Inventor/es:

READER, JOHN CHARLES

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 560 260 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

Moduladores de Aurora y FLT3 quinasas

5 Esta invención se relaciona con compuestos que inhiben o modulan la actividad de quinasas, y en particular Aurora quinasas y FLT3 quinasas, con los compuestos para su uso en el tratamiento o profilaxis de estados de enfermedad o afecciones mediadas por las quinasas. Se proporcionan, además, composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos, procesos para su preparación y nuevos intermedios químicos.

10 Antecedentes de la invención

10 Las proteínas quinasas constituyen una gran familia de enzimas estructuralmente relacionadas que son responsables del control de una amplia variedad de procesos de transducción de señales dentro de la célula (Hardie y Hanks (1995) *The Protein Kinase Facts Book. I and II*, Academic Press, San Diego, CA). Las quinasas se pueden clasificar en familias por los sustratos que éstas fosforilan (por ejemplo, proteína-tirosina, proteína-serina/treonina, lípidos, etc.). Se han
15 identificado motivos de secuencia que generalmente corresponden a cada una de estas familias quinasa (por ejemplo, Hanks y Hunter, *FASEB J.*, (1995) 9. 576-596; Knighton, y otros, *Science*, (1991) 253, 407-414; Hiles, y otros, *Cell*, (1992) 70, 419-429; Kunz, y otros, *Cell*, (1993) 73, 585-596; Garcia-Bustos, y otros, *EMBO J.*, (1994) 13, 2352-2361).

20 Las proteínas quinasas pueden caracterizarse por sus mecanismos de regulación. Estos mecanismos incluyen, por ejemplo, autofosforilación, transfosforilación por otras quinasas, interacciones proteína-proteína, interacciones lípido-proteína e interacciones proteína-polinucleótidos. Una proteína quinasa individual puede ser regulada por más de un mecanismo.

25 Las quinasas regulan muchos procesos celulares diferentes incluyendo, pero sin limitarse a, proliferación, diferenciación, apoptosis, motilidad, transcripción, traducción y otros procesos de señalización, añadiendo grupos fosfato a proteínas objetivo. Estos eventos de fosforilación actúan como interruptores de encendido/apagado molecular y pueden modular o regular la función biológica de la proteína diana. La fosforilación de proteínas objetivo ocurre en respuesta a una variedad de señales extracelulares (hormonas, neurotransmisores, factores de crecimiento y diferenciación, etc.), eventos del ciclo celular, tensiones ambientales y nutricionales, etc. Las funciones de la proteína
30 quinasa apropiadas en las vías de señalización para activar o inactivar (directa o indirectamente), por ejemplo, una enzima metabólica, proteína reguladora, receptor, proteína del citoesqueleto, canal de iones o bomba, o factor de transcripción. La señalización no controlada debido a un control defectuoso de la fosforilación de proteínas ha sido implicado en una serie de enfermedades, incluyendo, por ejemplo, inflamación, cáncer, alergia / asma, enfermedades y afecciones del sistema inmune, enfermedades y afecciones del sistema nervioso central, y angiogénesis.

35 Aurora quinasas

Hasta ahora, se han encontrado tres miembros de la familia de Aurora quinasa en los mamíferos (Nigg, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* (2001) 2, 21-32). La Aurora A quinasa (también mencionada en la literatura como Aurora 2) es una serina/treonina quinasa que está involucrada en las fases G2 y M del ciclo celular, y es un regulador importante de la mitosis. Se cree que la Aurora quinasa A juega una parte en el control del punto de control de la mitosis, dinámica de los cromosomas y citocinesis (Adams y otros, *Trends Cell Biol.*, (2001) 11, 49-54). Las quinasas están situadas en los centrosomas de las células en interfase, en los polos del husillo bipolar y en la mitad del cuerpo del aparato mitótico.

45 Las otras dos Aurora quinasas conocidas actualmente son Aurora B (también mencionada en la literatura como Aurora 1) y Aurora C (también mencionada en la literatura como Aurora 3). Las Aurora quinasas tienen dominios catalíticos muy homólogos pero difieren considerablemente en sus porciones N-terminal (Katayama y otros, *Cancer Metastasis Rev.* (2003) 22(4), 451-64).

50 Los sustratos de las Aurora quinasas A y B han sido identificados como que incluyen una proteína motor tipo cinesina, las proteínas aparato del husillo, la proteína histona H3, proteína cinetocoro y la proteína supresora de tumores p53.

Se considera que las Aurora A quinasas están involucradas en la formación del husillo y se localizan en el centrosoma durante la fase G2 temprana se fosforilan las proteínas asociadas al husillo (Prigent y otros, *Cell* (2003) 114, 531-535). Hirota y otros, (*Cell*, (2003) 114, 585-598) encontraron que las células agotadas de la proteína Aurora A quinasa no pudieron entrar en la mitosis. Además, se encontró (Adams, 2001) que la mutación o interrupción del gen de Aurora A en varias especies conduce a anomalías mitóticas, que incluyen separación del centrosoma y defectos de maduración, aberraciones del husillo y defectos de segregación del cromosoma.

60 La Aurora quinasa A se expresa generalmente a un bajo nivel en la mayoría de los tejidos normales, las excepciones son los tejidos con una alta proporción de células divisoras tales como el timo y los testículos. Sin embargo, los niveles elevados de quinasas Aurora se han encontrado en muchos cánceres humanos (Giet y otros, *J. Cell. Sci.* (1999) 112, 3591 y Katayama (2003)). Además, la Aurora A quinasa mapea para la región 20q13 del cromosoma que se ha encontrado frecuentemente que se amplifica en muchos cánceres humanos.

65 Por lo tanto, por ejemplo, la sobreexpresión significativa de Aurora A se ha detectado en cánceres humanos de mama,

ovario y pancreático (ver Zhou y otros, *Nat. Genet.* (1998) 20, 189-193; Tanaka y otros, *Cancer Res.* (1999) 59, 2041-2044 y Han y otros, *Cancer Res.* (2002) 62, 2890-2896).

Además, Isola (*American Journal of Pathology* (1995) 147, 905-911) reportó que la amplificación del locus Aurora A (20q13) correlaciona con malos pronósticos para los pacientes con cáncer de mama con ganglios negativos.

La amplificación y/o sobreexpresión de Aurora A se observa en los cánceres de vejiga humanos y la amplificación de Aurora A se asocia con la neuploidía y el comportamiento clínico agresivo (ver Sen y otros, *J. Natl. Cancer Inst.* (2002) 94, 1320-1329).

La expresión elevada de Aurora-A ha sido detectada en más de 50% de los cánceres colorrectales (ver Bischoff y otros, *EMBO J.* (1998) 17, 3052-3065 y Takahashi y otros, *Jpn. J. Cancer Res.* (2000) 91, 1007-1014), cánceres de ovario (ver Gritsko y otros, *Clin. Cancer Res.* (2003) 9, 1420-1426) y tumores gástricos (ver Sakakura y otros, *British Journal of Cancer* (2001) 84, 824-831).

Tanaka y otros, (*Cancer Research* (1999) 59, 2041-2044) encontraron evidencia de sobre-expresión de Aurora A en 94% adenocarcinomas ductales invasivos de mama.

Altos niveles de la quinasa Aurora A también se han encontrado en líneas celulares de tumores renales, cervicales, neuroblastoma, melanoma, linfoma, pancreáticos y de próstata (Bischoff y otros, (1998), *EMBO J.* (1998) 17, 3052-3065; Kimura y otros, *J. Biol. Chem.* (1999) 274, 7334-7340; Zhou y otros, *Nature Genetics*, 20: 189-193 (1998); Li y otros, *Clin Cancer Res.* 9 (3): 991-7 (2003).

Royce y otros (*Cancer.* (2004) 100(1), 12-19) reportan que la expresión del gen de Aurora 2 (conocido como STK15 o BTAK) se ha observado en aproximadamente un cuarto de los tumores de mama primarios.

Reichardt y otros (*Oncol Rep.* (2003) 10(5),1275-9) han informado de que el análisis cuantitativo de ADN mediante PCR para buscar la amplificación de Aurora en gliomas reveló que 5 de cada 16 tumores (31%) de diferentes grados WHO (1x grado II, 1x grado III, 3x grado IV) mostraron amplificación de ADN del gen de Aurora 2. Se planteó la hipótesis de que la amplificación del gen de Aurora 2 puede ser una alteración genética no aleatoria en los gliomas humanos que juega un papel en las vías genéticas de tumorigenesis.

Los resultados de Hamada y otros (*Br. J. Haematol.* (2003) 121(3), 439-47) sugiere además que Aurora 2 es un candidato eficaz para indicar no sólo la actividad de la enfermedad, sino también tumorigenesis del linfoma no Hodgkin. El retardo del crecimiento de las células tumorales que resultan de la restricción de estas funciones genéticas pudiera ser un enfoque terapéutico para el linfoma no Hodgkin.

En un estudio de Gritsko y otros (*Clin Cancer Res.* (2003) 9(4),1420-6), la actividad quinasa y los niveles de proteína de Aurora A se examinaron en 92 pacientes con tumores ováricos primarios. Los análisis de quinasa *in vitro* revelaron una actividad Aurora A quinasa elevada en 44 casos (48%). Los niveles aumentados de proteína Aurora A se detectaron en 52 (57%) espécimen. Altos niveles de proteína Aurora A se correlacionan bien con una actividad elevada de la quinasa.

Los resultados obtenidos por Li y otros (*Clin. Cancer Res.* 2003 Mar; 9(3):991-7) mostró que el gen de Aurora A se sobreexpresa en tumores pancreáticos y líneas celulares de carcinoma y sugiere que la sobreexpresión de Aurora A puede jugar un rol en la carcinogenesis pancreática.

Igualmente, se mostró que la amplificación del gen de Aurora A y la expresión aumentada asociada de la quinasa mitótica que esta codifica se asocian con aneuploidía y comportamiento clínico agresivo en cáncer de vejiga humano. (*J. Natl. Cancer Inst.* (2002) 94(17), 1320-9).

La investigación por varios grupos (Dutertre and Prigent, *Mol. Interv.* (2003) 3(3), 127-30 y Anand y otros, *Cancer Cell.* (2003) 3(1), 51-62) sugiere que la sobreexpresión de la actividad de quinasa Aurora se asocia con la resistencia a algunas terapias actuales contra el cáncer. Por ejemplo, la sobreexpresión de Aurora A en fibroblastos de embrión de ratón pueden reducir la sensibilidad de estas células a los efectos citotóxicos de derivados de taxano. Por ello, los inhibidores de Aurora quinasa pueden encontrar un uso particular en pacientes que han desarrollado resistencia a las terapias existentes.

Sobre la base de los trabajos realizados hasta la fecha, se prevé que la inhibición de la quinasa Aurora A probará un medio eficaz para detener el desarrollo de tumores.

También se ha demostrado que hay un aumento en la expresión de Aurora B en células tumorales en comparación con las células normales (Adams y otros, *Chromasoma.* (2001) 110, 65-74). Un informe sugiere que sobreexpresión de Aurora B induce aneuploidía a través de aumento de la fosforilación de la histona H3 en serina 10, y que las células que sobreexpresan Aurora B forman tumores más agresivos y tienen una mayor tendencia a formar tumores metastásicos (Ota y otros, *Cancer Res.* (2002) 62, 5168-5177).

La Aurora B se requiere para la función de punto de regulación ciclo celular del husillo y alineación del cromosoma durante la metafase en células humanas (Adams y otros *J. Cell Biol.* (2001) 153, 865-880; Kallio y otros, *Curr. Biol.* (2002) 12, 900-905 y Murata-Hori and Wang *Curr. Biol.* (2002) 12, 894-899). Se ha demostrado que la supresión de la actividad de quinasa Aurora B compromete la alineación del cromosoma, la función de control del huso y la citocinesis (Ditchfield y otros, *J. Cell Biol.* (2003) 161, 267-280 y Hauf y otros, *J. Cell Biol.* (2003), 161, 281-294). En consecuencia, después de un breve retardo las células salen de la mitosis sin dividir y con un contenido de ADN 4N, con lo cual pierden rápidamente su potencial proliferativo.

Harrington y otros (*Nat Med.* (2004) 10(3), 262-7) han demostrado que un inhibidor de la Aurora quinasa suprime el crecimiento tumoral e induce la regresión del tumor *in vivo*. En el estudio, el inhibidor de Aurora quinasa bloqueó la proliferación de células de cáncer, y también desencadenó la muerte celular en una gama de líneas celulares de cáncer incluyendo las líneas celulares de leucémica, colorrectal y de mama. Además, se ha mostrado potencial para el tratamiento de leucemia mediante la inducción de apoptosis en células de leucemia. VX-680 VX-680 mató potentemente células primarias de leucemia mielógena aguda (AML) refractarias al tratamiento a partir de pacientes (Andrews, *Oncogene* (2005) 24, 5005-5015).

Manfredi y otros (*PNAS* (2007) 104, 4106-4111) han demostrado que un inhibidor de molécula pequeña de Aurora A suprime el crecimiento tumoral *in vivo*. En el estudio, se demostró la inhibición del crecimiento del tumor dependiente de la dosis en ratones que portan tumores HCT-116 y ratones que portan tumores PC-3 contra los ratones tratados con vehículo. Se observó la inhibición del crecimiento del tumor de hasta 84 % contra HCT-116 y 93 % contra xenoinjerto de células PC-3.

Mortlock y otros (*Clin Cancer Res.* (2007) 13(12), 3682-3688) han demostrado que un inhibidor de molécula pequeña de Aurora B suprime el crecimiento del tumor *in vivo*. Ratones inmunodeficientes que portan xenoinjertos de tumores SW620, HCT-116, Colo205, A549, Calu-6 o HL-60 establecidos se dosificaron durante 48h a través de infusión con mini-bombas sub-cutáneas con el inhibidor de molécula pequeña AZD1152. La inhibición del del crecimiento del tumor en todos los casos varió de 55 % a 100 % con regresión completa del tumor observada en 8 de 11 animales que portan el xenoinjerto HL-60.

Sobre la base de las pruebas obtenidas hasta la fecha, se considera probable que los inhibidores de Aurora quinasa deben ser particularmente útiles para detener el desarrollo de tumores y el tratamiento de cánceres tales como cáncer de mama, cámara, colorrectal, pancreático y de ovario, linfoma no Hodgkin, gliomas, carcinomas endometriales no endometrioides, Leucemia mielógena aguda (AML), Leucemia mielógena crónica (CML), Linfoma de células B (células del manto), y Leucemia linfoblástica aguda (ALL).

FLT3

La tirosina quinasa tipo FMS 3 (FLT3) es un receptor de tirosina quinasa involucrado en la proliferación, diferenciación y apoptosis de células hematopoyéticas y no hematopoyéticas (Scheijen and Griffin, *Oncogene* (2002) 21, 3314-3333 y Reilly, *British Journal of Haematology* (2002) 116, 744-757). Como resultado de la unión del ligando natural (FL), el receptor FLT3 se dimeriza lo que resulta en la activación de su dominio de tirosina quinasa, la autofosforilación del receptor y el reclutamiento de moléculas de señalización aguas abajo tal como la subunidad p85 de PI3K (fosfatidilinositol 3 quinasa), PLC-gamma (fosfolipasa-C gamma), STAT5a (transductor de señales y activador de la transcripción 5a), y tirosina quinasas de la familia SRC (Gilliland and Griffin, *Blood* (2002) 100(5), 1532-42; Drexler, *Leukemia* (1996) 10(4), 588-99 y Ravandi y otros, *Clin Cancer Res.* (2003) 9(2), 535-50).

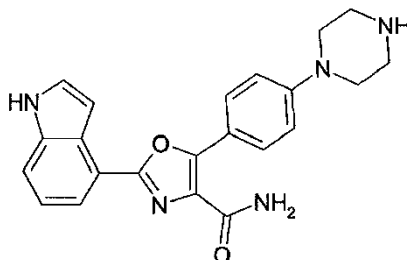
La activación de estas moléculas de señalización aguas abajo por fosforilación conduce a efectos proliferativos y pro-supervivencia de FLT3 (Gilliland and Griffin (2002) y Levis and Small, *Leukemia* (2003) 17(9), 1738-52).

Las mutaciones somáticas de FLT3 que involucran duplicaciones en tándem internas en la región de la juxtamembrana del receptor, o a través de mutación puntual de D835 en el bucle de activación se demostraron en aproximadamente 30% de los pacientes con leucemia mieloide aguda (AML), un cáncer de las células blancas de la sangre causado a través de la sobreproducción de células blancas de la sangre mieloides inmaduras (Nakao y otros, *Leukemia* (1996) 10(12), 1911-8; Thiede y otros, *Blood* (2002) 99(12), 4326-35; Yamamoto y otros, *Blood* (2001) 97(8), 2434-9; Abu-Duhier y otros, *Br. J. Haematol.* (2000) 111(1), 190-5 y Abu-Duhier y otros, *Br. J. Haematol.* (2001) 113(4), 983-8).

Otras mutaciones activantes independientes de ligandos de FLT3 se han descrito recientemente, lo que contribuye a la transformación leucémica en la LMA. La presencia de tales mutaciones al momento del diagnóstico se ha relacionado con un pronóstico inferior en algunos pacientes (Jiang y otros, *Blood* (2004) 104(6), 1855-8 y Kindler y otros, *Blood* (2005) 105(1), 335-40).

Nuestra solicitud de patente internacional anterior WO2008/139161 describe una clase de carboxamidas de oxazol sustituidas como inhibidores de varias quinasas y en particular Aurora quinasa, FLT3 quinasa y FLT4 quinasa.

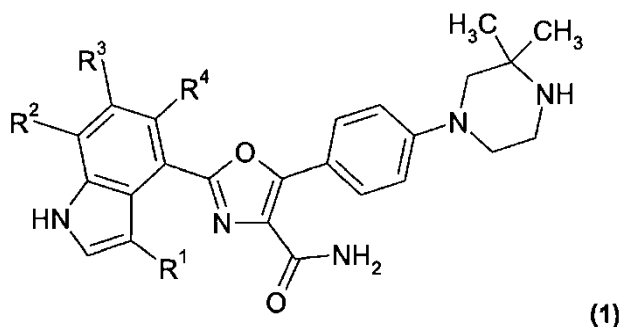
El ejemplo M-12 de la página 132 de WO2008/139161 describe la preparación del compuesto amida del ácido 2-(1H-Indol-4-il)-5-(4-piperazin-1-il-fenilo)-oxazol-4-carboxílico que tiene la fórmula estructural que se expone más abajo.



Resumen de la invención

Se ha encontrado ahora que los análogos del compuesto mostrado anteriormente, pero en donde la porción CH₂ en la posición 3 del anillo de piperazina se sustituye por una porción C(CH₃)₂, tienen una potencia sustancialmente mejorada contra uno o más quinasas seleccionadas de Aurora A y Aurora B quinasas y FLT3 quinasas y tienen carga de eflujo reducida comparado con el compuesto del Ejemplo M-12 de WO. También se ha encontrado que la potencia de los compuestos contra Aurora quinasas mejora sustancialmente más por la presencia de sustituyentes en el grupo indol.

En consecuencia, en una primera modalidad (Modalidad 1.1), la invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula (1):



y sales de estos; en donde:

R¹ es hidrógeno o C₁₋₂ alquilo; y

R², R³ y R⁴ son iguales o diferentes y cada uno se selecciona de hidrógeno, C₁₋₂ alquilo, flúor, cloro, C₁₋₂ alcoxi y trifluorometil, siempre y cuando no más de dos de R², R³ y R⁴ son distintos de hidrógeno.

Los compuestos particulares y preferidos de la invención son como se definen en las Modalidades 1.2 a 1.33 más abajo.

1.2 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.1 en donde R¹ es seleccionado de hidrógeno y metilo.

1.3 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.2 en donde R¹ es hidrógeno.

1.4 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.2 en donde R¹ es metilo.

1.5 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.4 en donde R² es seleccionado de hidrógeno, flúor, cloro, metilo, etil, trifluorometil y metoxi.

1.6 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.4 en donde R² es seleccionado de hidrógeno flúor, cloro, metilo, etilo y metoxi.

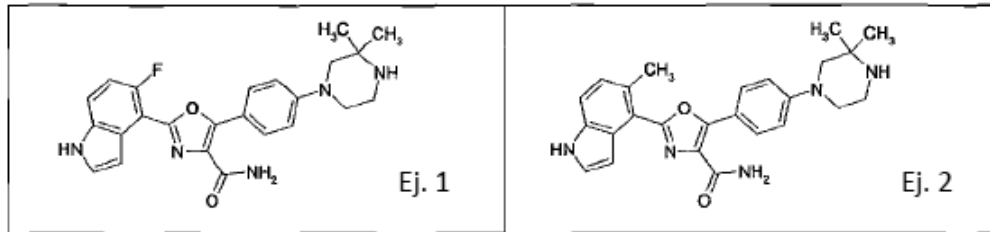
1.6A Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.6 en donde R² es seleccionado de hidrógeno flúor, cloro, metilo y metoxi

1.7 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.5 en donde R² es hidrógeno.

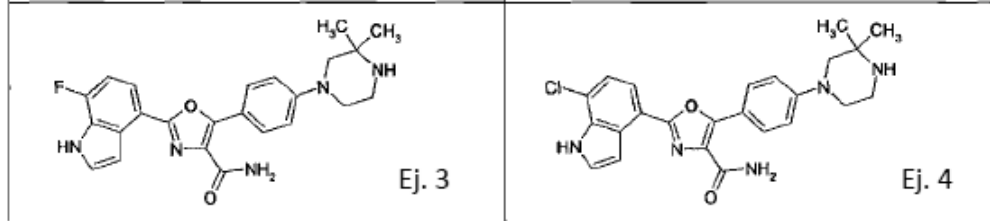
ES 2 560 260 T3

- 1.8 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.5 en donde R^2 es flúor.
- 1.9 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.5 en donde R^2 es cloro.
- 5 1.10 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.5 en donde R^2 es metilo.
- 1.11 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.5 en donde R^2 es etilo.
- 10 1.12 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.5 en donde R^2 es metoxi.
- 1.13 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.5 en donde R^2 es trifluorometilo.
- 1.14 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.13 en donde R^3 es seleccionado de hidrógeno y flúor.
- 15 1.15 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.14 en donde R^3 es hidrógeno.
- 1.16 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.15 en donde R^4 es seleccionado de hidrógeno, flúor, metilo y etilo.
- 20 1.17 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.16 en donde R^4 es hidrógeno.
- 1.18 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.16 en donde R^4 es seleccionado de flúor, metilo y etilo, y uno de R^2 y R^3 es hidrógeno.
- 25 1.19 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.18 en donde R^3 es hidrógeno.
- 1.20 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.18 o Modalidad 1.19 en donde R^4 es flúor.
- 30 1.21 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.18 o realización 1.19 en donde R^4 es metilo.
- 1.22 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.18 o Modalidad 1.19 en donde R^4 es etilo.
- 35 1.22 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.1 en donde R^1 es hidrógeno; R^2 es seleccionado de hidrógeno, metilo, etilo, fluoro, cloro y metoxi; R^3 es hidrógeno; y R^4 es seleccionado de hidrógeno, fluoro y metilo.
- 40 1.23 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.22A en donde (i) R^1 es hidrógeno; R^2 es seleccionado de metilo, etilo, fluoro, cloro y metoxi; R^3 es hidrógeno; y R^4 es hidrógeno; o (ii) R^1 es hidrógeno; R^2 es hidrógeno; R^3 es hidrógeno; y R^4 es metilo; o (iii) R^1 es hidrógeno; R^2 es fluoro; R^3 es hidrógeno; y R^4 es metilo.
- 45 1.24 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.1 que es seleccionado de los compuestos del Ej. 1 al Ej. 12 en la Tabla 1 más abajo y sales de estos.
- 50
- 55
- 60
- 65

5

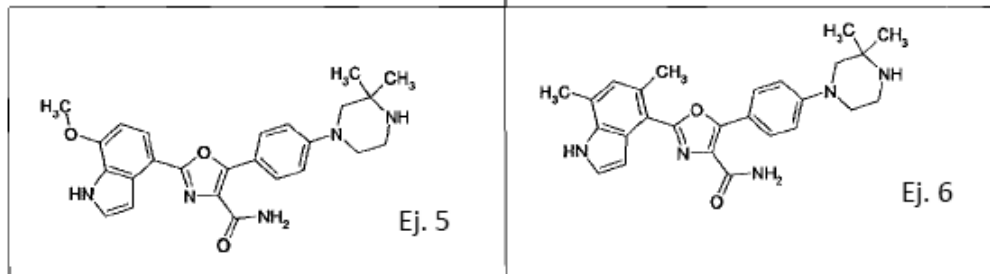


10



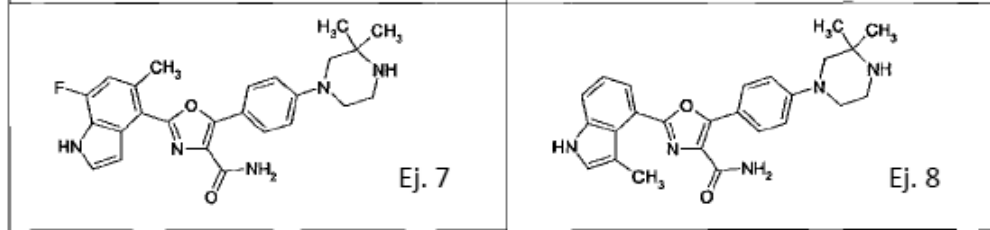
15

20



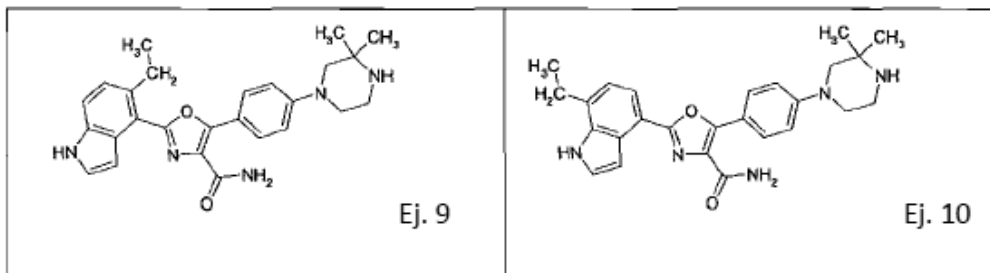
25

30



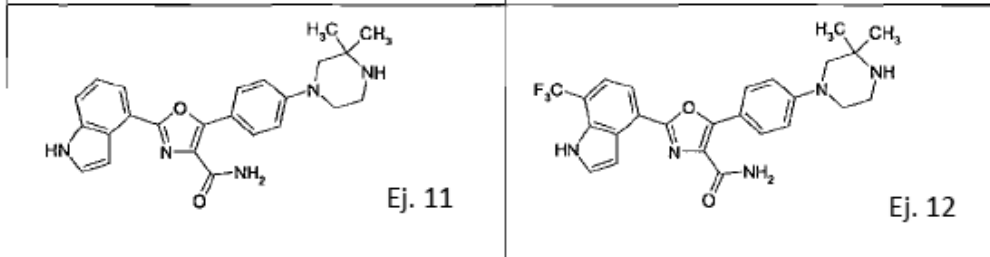
35

40



45

50



55

Tabla 1

60

1.25 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.24 que es seleccionado de los compuestos del Ej. 2, Ej. 3, Ej. 5 y Ej. 7 en la Tabla 1 más abajo y sales de estos.

65

1.26 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.25 que es el compuesto del Ej. 2 o una sal de este.

1.27 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.25 que es el compuesto del Ej. 3 o una sal de este.

1.28 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.25 que es el compuesto del Ej. 5 o una sal de este.

5 1.29 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.25 que es el compuesto del Ej. 7 o una sal de este.

1.30 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.29 que está en forma de una base libre.

10 1.31 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.29 que está en forma de una sal.

1.32 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.31 en donde la sal es una sal de adición ácida.

15 1.33 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.31 o Modalidad 1.32 en donde la sal es una sal farmacéuticamente aceptable.

Preferencias y Definiciones Generales

20 Las referencias a las quinasa en la presente descripción incluyen no solamente la forma que funciona normal de la quinasa en cuestión sino además las formas mutantes de estas.

25 Como se usa en la presente, el término "modulación" como se aplica a la actividad de la quinasa, pretende definir un cambio en el nivel de actividad biológica de la(s) quinasa(s). Así, la modulación abarca los cambios fisiológicos que producen un aumento o disminución en la actividad competente de la quinasa. En el último caso, la modulación se puede describir como "inhibición".

30 El término "sobre regulación" como se usa en la presente en relación con una quinasa incluyen una expresión o sobreexpresión elevada de la quinasa, que incluye amplificación génica (es decir, copias de genes múltiples) y aumento de la expresión por un efecto transcripcional, e hiperactividad y activación de la quinasa, que incluyen activación por mutaciones.

35 Las referencias en la presente descripción a un estado de enfermedad o afección que son "mediadas" por una quinasa particular tienen la intención de operar de manera limitada para que los diversos estados de enfermedad o condiciones a las que se aplica el término sean aquellas en las que la quinasa (o una forma mutada de esta) en cuestión juega un papel biológico. El papel biológico desempeñado por la quinasa puede ser directo o indirecto y puede ser necesario y/o suficiente para la manifestación de los síntomas de la enfermedad, estado o afección (o su etiología o progresión).

Sales

40 Los compuestos de la invención pueden presentarse en forma de sales.

Las sales (como se define en las Modalidades 1.31 a 1.33) son típicamente sales de adición ácidas.

45 Las sales pueden ser sintetizadas como parte del compuesto original por métodos químicos convencionales tales como los métodos descritos en *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 páginas, agosto del 2002. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de base libre del compuesto con el ácido en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente se usa un medio no acuoso tal como éter, etil acetato, etanol, isopropanol, o acetonitrilo.

50 Las sales de adición ácidas (como se define en la Modalidad 1.32) pueden formarse con una amplia variedad de ácidos, tanto inorgánicos como orgánicos. Los ejemplos de sales de adición ácida incluyen sales formadas con un ácido seleccionados del grupo que consiste de ácido acético, 2,2-dicloroacético, adípico, algínico, ascórbico (por ejemplo L-ascórbico), L-aspártico, bencenosulfónico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+) canfórico, alcanfor-sulfónico, (+)-(1S)-alcanfor-10-sulfónico, cáprico, caproico, caprílico, cinámico, cítrico, ciclámico, dodecilsulfúrico, etano-1,2-disulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxi-etanosulfónico, fórmico, fumárico, galactárico, gentísico, glucoheptónico, D-glucónico, glucurónico (por ejemplo, D-glucurónico), glutámico (por ejemplo L-glutámico), α -oxoglutarico, glicólico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, yodhídrico, isetiónico, (+)-L-láctico, (\pm)-DL-láctico, lactobionico, maleico, málico, (-)-L-málico, malónico, (\pm)-DL-mandélico, metanosulfónico, naftaleno-2-sulfónico, naftaleno-1,5-disulfónico, 1-hidrox-2-naftoico, nicotínico, nítrico, oleico, orótico, oxálico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiónico, L-piroglutámico, salicílico, 4-amino-salicílico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tánico, (+)-L-tartárico, tiocianico, p-toluenosulfónico, undecilénico y valérico, así como aminoácidos acilados y resinas de intercambio de cationes.

65 Las formas de sal de los compuestos de la invención son típicamente sales farmacéuticamente aceptables, y los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se discuten en Berge y otros, 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts," J. Pharm. Sci., Vol. 66, págs. 1-19. Sin embargo, las sales que no son farmacéuticamente aceptables pueden prepararse además como formas intermedias que pueden convertirse después en sales farmacéuticamente aceptables.

Tales formas de sales no farmacéuticamente aceptables, que pueden ser útiles, por ejemplo, en la purificación o separación de los compuestos de la invención, forman parte también de la invención.

Isótopos

5 Los compuestos de la invención como se definen en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.33 pueden contener una o más sustituciones isotópicas, y una referencia a un elemento en particular dentro de su alcance incluye todos los isótopos del elemento. Por ejemplo, una referencia al hidrógeno incluye dentro de su alcance ^1H , ^2H (D), y ^3H (T).
10 Similarmente, las referencias al carbono y oxígeno incluyen dentro de su alcance respectivamente ^{12}C , ^{13}C y ^{14}C y ^{16}O y ^{18}O .

De una manera análoga, una referencia a un grupo funcional particular también incluye dentro de su alcance las variaciones isotópicas, a menos que el contexto indique otra cosa.

15 Por ejemplo, una referencia a un grupo alquilo tal como un grupo etilo cubre además variaciones en las cuales uno o más átomos de hidrógeno en el grupo están en forma de un isótopo de deuterio o tritio, por ejemplo, como en un grupo etilo en el cual los cinco átomos de hidrógeno están en la forma isotópica de deuterio (un grupo perdeuterioetilo).

20 Los isótopos pueden ser radioactivos o no radioactivos. En una modalidad de la invención (Modalidad 1.34), el compuesto de cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.33 no contiene isótopos radioactivos. Tales compuestos se prefieren para el uso terapéutico. En otra Modalidad (Modalidad 1.35), sin embargo, el compuesto de cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.33 puede contener uno o más radioisótopos. Los compuestos que contienen tales radioisótopos pueden ser útiles en un contexto diagnóstico.

25 Solvatos

Los compuestos de la Fórmula (1) como se definen en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.35 pueden formar solvatos.

30 Los solvatos preferidos son solvatos formados por la incorporación en la estructura de estado sólido (por ejemplo, la estructura cristalina) de los compuestos de la invención de las moléculas de un disolvente farmacéuticamente aceptable no tóxico (mencionado más abajo como el disolvente de solvatación). Ejemplos de tales disolventes incluyen agua, alcoholes (tales como etanol, isopropanol y butanol) y dimetilsulfóxido. Los solvatos pueden ser preparados mediante
35 recristalización de los compuestos de la invención con un disolvente o mezcla de disolventes que contiene el disolvente de solvatación. Si un solvato se forma o no en cualquier caso dado puede determinarse sometiendo cristales del compuesto para análisis usando técnicas bien conocidas y estándares tales como el análisis termogravimétrico (TGE), calorimetría de barrido diferencial (DSC) y cristalografía de rayos X.

Los solvatos pueden ser solvatos estequiométricos o no estequiométricos.

40 Particularmente, los solvatos preferidos son los hidratos, y los ejemplos de hidratos incluyen hemihidratos, monohidratos y dihidratos.

En consecuencia, en Modalidades adicionales 1.36 y 1.37, la invención proporciona:

45 1.36 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.35 en forma de una solvato.

1.37 Un compuesto de acuerdo con la Modalidad 1.36 en donde el solvato es un hidrato.

50 Para una discusión más detallada de los solvatos y los métodos usados para fabricarlos y caracterizarlos, ver Bryn y otros, *Solid-State Chemistry of Drugs*, Second Edition, published by SSCI, Inc of West Lafayette, IN, USA, 1999, ISBN 0-967-06710-3.

55 Alternativamente, en lugar de existir como un hidrato, el compuesto de la invención puede ser anhidro. Por ello, en otra Modalidad (Modalidad 1.38), la invención proporciona un compuesto como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.35 en una forma anhidra.

Formas cristalinas y amorfas

60 Los compuestos de cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.38 pueden existir en un estado cristalino o no cristalino (por ejemplo, amorfo).

Si un compuesto existe o no en un estado cristalino puede determinarse fácilmente por técnicas estándar como difracción de polvo de rayos X (XRPD).

65 Los cristales y sus estructuras cristalinas se puede caracterizar usando una serie de técnicas, que incluyen cristalografía

de rayos X de un cristal sencillo, difracción de polvo de rayos X (XRPD), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y espectroscopía de infrarrojos, por ejemplo, espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR). El comportamiento de los cristales en las condiciones de humedad variable se puede analizar por los estudios de sorción gravimétrica de vapor y además por XRPD.

5

La determinación de la estructura cristalina de un compuesto puede realizarse por cristalografía de rayos X la que puede llevarse a cabo de acuerdo con métodos convencionales tales como los as descritos en la presente descripción y en *Fundamentals of Crystallography*, C. Giacovazzo, H. L. Monaco, D. Viterbo, F. Scordari, G. Gilli, G. Zanotti y M. Catti, (International Union of Crystallography/Oxford University Press, 1992 ISBN 0-19-855578-4 (p/b), 0-19-85579-2 (h/b)). Esta técnica involucra el análisis e interpretación de la difracción de rayos X de un cristal sencillo.

10

En un sólido amorfo, no existe la estructura tri-dimensional que existe normalmente en una forma cristalina y las posiciones de las moléculas son esencialmente aleatorias con relación a la otra en forma amorfa, ver por ejemplo Hancock y otros *J. Pharm. Sci.* (1997), 86, 1).

15

En consecuencia, en otras modalidades, la invención proporciona:

1.39 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.38 en una forma cristalina.

20

1.40 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.38 que es:

(a) de 50% a 100% cristalino, y más particularmente es al menos 50% cristalino, o al menos 60% cristalina, o al menos 70% cristalina, o al menos 80% cristalina, o al menos 90% cristalina, o al menos 95% cristalina, o al menos 98% cristalina, o al menos 99% cristalina, o al menos 99.5% cristalina, o al menos 99.9% cristalina, por ejemplo 100% cristalina.

25

1.41 Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.38 que está en una forma amorfa.

Profármacos

30

Los compuestos de la Fórmula (1) como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.41 pueden presentarse en forma de un profármaco. Por "profármacos" se entiende, por ejemplo, cualquier compuesto que se convierte *in vivo* en un compuesto biológicamente activo de la Fórmula (1), como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.41.

35

Por ejemplo, algunos profármacos son ésteres del compuesto activo (por ejemplo, un éster metabólicamente lábil fisiológicamente aceptable). Durante el metabolismo, el grupo éster (-C(=O)OR) se escinde para rendir el fármaco activo. Tales ésteres pueden formarse por la esterificación, por ejemplo, de cualquiera de los grupos hidroxilo presentes en el compuesto original con, donde sea adecuada, protección anterior de cualquiera de los grupos reactivos presentes en el compuesto original, seguido por la desprotección si se requiere.

40

Además, algunos profármacos se activan enzimáticamente para rendir el compuesto activo, o un compuesto que, después de la reacción química adicional, rinde el compuesto activo (por ejemplo, como en ADEPT, GDEPT, LIDEPT, etc.). Por ejemplo, el profármaco puede ser un derivado de azúcar u otro conjugado de glicósido, o puede ser un derivado de éster de aminoácido.

45

En consecuencia, en otra modalidad (Modalidad 1.42), la descripción proporciona un profármaco de un compuesto como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.41 en donde el compuesto contiene un grupo funcional que se convierte bajo condiciones fisiológicas para formar un grupo hidroxilo o grupo amino.

50

Complejos y clatratos

También representado por la fórmula (1) en las Modalidades 1.1 a 1.42 están los complejos (por ejemplo, complejos de inclusión o clatratos con compuestos tales como ciclodextrinas, o complejos con metales) de los compuestos de las Modalidades 1.1 a 1.42.

55

En consecuencia, en otra modalidad (Modalidad 1.43), la invención proporciona un compuesto de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.42 en forma de un complejo o clatrato

Actividad biológica

60

Los compuestos de la invención tienen varios usos terapéuticos.

En consecuencia, en otra modalidad (Modalidad 2.1), la invención proporciona un compuesto de la Fórmula (1) como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 para usar en medicina.

Más particularmente, los compuestos de la invención son inhibidores de quinasa, por ejemplo, FLT3 quinasa y Aurora quinasa como Aurora quinasa A y Aurora quinasa B.

5 Por ello, en Modalidades adicionales (2.2 a 2.14), la descripción proporciona:

2.2 Un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 para su uso en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediada por la FLT3 quinasa o una Aurora quinasa (como Aurora quinasa A o Aurora quinasa B).

10

2.3 Un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 para su uso en la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección caracterizado por expresión anormal (por ejemplo, sobreexpresión) de una FLT3 quinasa o una Aurora quinasa (como Aurora quinasa A o Aurora quinasa B).

15

2.4 El uso de un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediado por una FLT3 quinasa o una Aurora quinasa (como Aurora quinasa A o Aurora quinasa B).

20

2.5 El uso de un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 para la fabricación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección caracterizado por expresión anormal (por ejemplo, sobreexpresión) de una FLT3 quinasa o una Aurora quinasa (como Aurora quinasa A o Aurora quinasa B).

25

2.6 Un método para la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediada por una FLT3 quinasa o una Aurora quinasa (como Aurora quinasa A o Aurora quinasa B), el método comprende administrar a un sujeto que lo necesita un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43.

30

2.7 Un método para la profilaxis o tratamiento de un estado de enfermedad o afección caracterizado por expresión anormal (por ejemplo, sobreexpresión) de una FLT3 quinasa o una Aurora quinasa (como Aurora quinasa A o Aurora quinasa B), el método comprende administrar a un sujeto que lo necesita un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43.

35

2.8 Un método para aliviar o reducir la incidencia de un estado de enfermedad o afección mediada por una FLT3 quinasa o una Aurora quinasa (como Aurora quinasa A o Aurora quinasa B), el método comprende administrar a un sujeto que lo necesita un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43.

40

2.9 Un compuesto para usar, uso o método de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 2.1 a 2.8 en donde el estado de enfermedad o afección es uno mediado por la FLT3 quinasa o es caracterizado por expresión anormal (por ejemplo, sobreexpresión) de una FLT3 quinasa.

45

2.10 Un compuesto para usar, uso o método de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 2.1 a 2.8 en donde el estado de enfermedad o afección es uno mediado por una Aurora quinasa (por ejemplo, Aurora A o Aurora B quinasa) o es caracterizado por expresión anormal (por ejemplo, sobreexpresión) de una Aurora quinasa (por ejemplo, Aurora A o Aurora B quinasa).

50

2.11 Un método para inhibir una FLT3 quinasa, el método comprende poner en contacto la quinasa con un compuesto inhibidor de quinasa de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43.

55

2.12 Un método para inhibir una Aurora quinasa (como Aurora quinasa A o Aurora quinasa B), el método comprende poner en contacto la quinasa con un compuesto inhibidor de quinasa de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43.

60

2.13 Un método para modular un proceso celular (por ejemplo, división celular) mediante la inhibición de la actividad de una FLT3 quinasa usando un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43.

65

2.14 Un método para modular un proceso celular (por ejemplo, división celular) mediante la inhibición de la actividad de una Aurora quinasa (como Aurora quinasa A o Aurora quinasa B) usando un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43.

Como consecuencia de su actividad en la modulación y, en particular, la inhibición de las FLT3 y Aurora quinasa, se espera que sean útiles en el tratamiento o prevención de trastornos proliferativos tales como los cánceres.

En consecuencia, en modalidades adicionales (Modalidades 2.15 a 2.28), la descripción proporciona además:

- 5 2.15 Un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 para su uso en la profilaxis o tratamiento de una enfermedad proliferativa tal como un cáncer.
- 10 2.16 El uso de un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 para la fabricación de un medicamento para su uso en la profilaxis o tratamiento de una enfermedad proliferativa tal como un cáncer.
- 15 2.17 Un método para tratar una enfermedad proliferativa tal como cáncer en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto (por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano) un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43.
- 20 2.18 Un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 para su uso en la profilaxis o tratamiento de una enfermedad o afección que comprende o surge a partir del crecimiento anormal de las células.
- 25 2.19 El uso de un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 para la fabricación de un medicamento para su uso en la profilaxis o tratamiento de una enfermedad o afección que comprende o surge a partir del crecimiento anormal de las células.
- 30 2.20 Un método para tratar una enfermedad o afección que comprende o surge a partir del crecimiento anormal de las células en un mamífero, el método comprende administrar al mamífero un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 en una cantidad eficaz para inhibir el crecimiento anormal de las células.
- 35 2.21 Un método para aliviar o reducir la incidencia de una enfermedad o afección que comprende o surge a partir del crecimiento anormal de las células en un mamífero, el método comprende administrar al mamífero un compuesto de la Fórmula (1) o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 en una cantidad eficaz para inhibir el crecimiento anormal de las células.
- 40 2.22 Un compuesto para usar, uso o método como se define en una cualquiera de las Modalidades 2.15 a 2.17 en donde la enfermedad proliferativa es un cáncer seleccionado de un carcinoma, por ejemplo, un carcinoma de vejiga, mama, colon (por ejemplo, carcinomas colorectales tales como adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), riñón, epidermis, hígado, pulmón, por ejemplo, adenocarcinoma, cáncer de células pequeñas de pulmón y carcinomas de células no-pequeñas de pulmón, esófago, vesícula biliar, ovario, páncreas, por ejemplo, carcinoma pancreático exocrino, estómago, útero, tiroide, prostata, o piel, por ejemplo, carcinoma de células escamosas; un tumor hematopoyético de linaje linfóide, por ejemplo leucemia, leucemia linfocítica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma de no-Hodgkin, linfoma de células pilosas, o linfoma de Burkett; un tumor hematopoyético de linaje mielóide, por ejemplo, leucemias mielógenas crónicas y agudas, síndrome mielodisplásico, o leucemia promielocítica; cáncer folicular de tiroides; un tumor de origen mesenquimal, por ejemplo fibrosarcoma o haddomiosarcoma; un tumor del sistema nervioso central o periférico, por ejemplo astrocitoma, neuroblastoma, glioma o schwannoma; melanoma; seminoma; teratocarcinoma; osteosarcoma; xeroderma pigmentoso; queratoacantoma; cáncer folicular de tiroide; o sarcoma de Kaposi.
- 45 2.23 Un compuesto para usar, uso o método como se define en la Modalidad 2.22 en donde el cáncer es uno que es susceptible a la inhibición de Aurora A quinasa y es seleccionado de cáncer de mama, vejiga, colon, páncreas y ovario, linfoma no Hodgkin, gliomas, carcinomas endometriales no endometrioides, Leucemia mielógena aguda (AML), Leucemia mielógena crónica (CML), Linfoma de células B (célula del manto), y leucemia linfoblástica aguda (ALL).
- 50 2.24 Un compuesto para usar, uso o método como se define en la Modalidad 2.22 en donde el cáncer es uno que es susceptible a la inhibición de Aurora B quinasa y es seleccionado de colorectal, pulmón, Leucemia mielóide aguda, Leucemia linfoblástica aguda, y Leucemia eosinofílica aguda.
- 55 2.25 Un compuesto para usar, uso o método como se define en la Modalidad 2.22 en donde el cáncer es uno que es susceptible a la inhibición de FLT3 quinasa y es Leucemia mielóide aguda (AML).
- 60 2.26 Un compuesto para usar, uso o método como se define en la Modalidad 2.25 en el que la AML se asocia en un paciente con una mutación somática o puntual de FLT3.
- 65 2.27 Un compuesto para usar, uso o método como se define en la Modalidad 2.26 en el que la AML se asocia en un paciente con una mutación somática de FLT3 que involucra duplicaciones en tándem internas en una región de yuxtamembrana del receptor FLT3.

2.28 Un compuesto para usar, uso o método como se define en la Modalidad 2.26 en el que la AML se asocia en un paciente con una mutación puntual de D835 en un bucle de activación de FLT3.

5 2.29 Un compuesto para usar, uso o método como se define en la Modalidad 2.22 en donde la enfermedad proliferativa es un tumor hematopoyético.

10 2.30 Un compuesto para usar, uso o método como se define en la Modalidad 2.29 en donde el tumor hematopoyético es seleccionado de leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mieloide crónica (CML), linfoma de Hodgkin (HL), no linfoma de Hodgkin (NHL) y mieloma múltiple (MM).

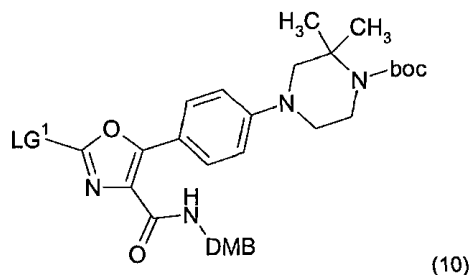
Si se trata de un cáncer particular que es sensible a la inhibición por una Aurora quinasa o FLT3 quinasa o no puede determinarse por medio de un ensayo de crecimiento celular, por ejemplo un ensayo como se describe en el ejemplo más abajo o por un método como se expone en la sección encabezada "Métodos Diagnósticos".

15 La actividad de los compuestos de la invención como inhibidores de quinastas puede medirse con el uso de los ensayos que se exponen en los ejemplos más abajo y el nivel de actividad exhibida por un un compuesto dado se puede definir en términos del valor IC₅₀. Los compuestos preferidos de la presente invención son compuestos que tienen un valor IC₅₀ de menos que 0.01 μM, con mayor preferencia menos que 0.005 μM.

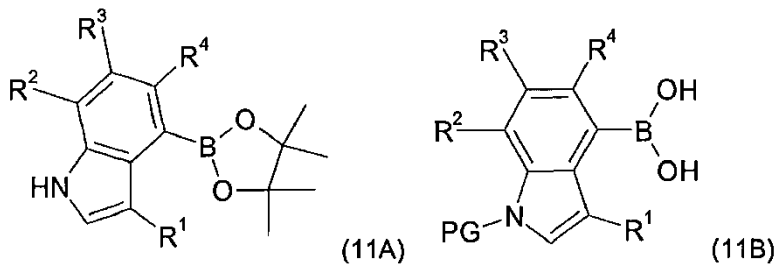
20 Métodos para la preparación de los compuestos de la invención

En otro aspecto (Modalidad 3.1), la invención proporciona un proceso para la preparación de un compuesto como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.35, el proceso comprende:

(i) la reacción de un compuesto de la Fórmula (10):



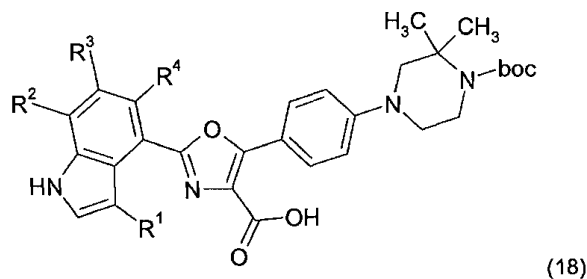
40 en donde LG¹ es yodo o bromo (más típicamente yodo), DMB es un grupo protector 2,4-dimetoxibencilo y boc es un grupo protector de *ter*-butiloxicarbonilo; con un compuesto de la Fórmula (11A) o (11 B) o el diéster boronato correspondiente:



55 donde PG es un grupo protector tal como un grupo *terc*-butildimetilsililo bajo las condiciones de reacción de acoplamiento de Suzuki, y después de eso eliminar los grupos protectores DMB y boc; o

60 (ii) la reacción de un compuesto de la Fórmula (18):

65



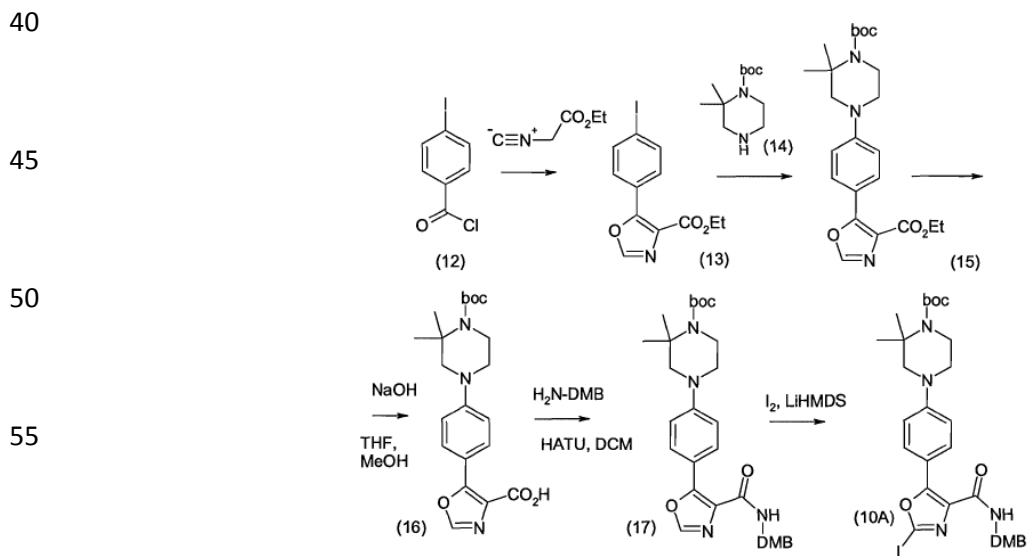
15 en donde boc es *tert*-butiloxicarbonilo, con amoniaco bajo las condiciones de formacion de amida, y después de eso eliminar el grupo boc.

20 En una variante (i) del proceso, las condiciones de reacción de acoplamiento de Suzuki involucran típicamente la presencia de un catalizador de paladio tal como tetrakis(trifenilfosfina)paladio o dicloruro de *bis* (1,1'-*bis*(difenil-fosfino)-ferroceno) paladio (Pd(dppf)₂Cl₂) y una base (por ejemplo, un carbonato tal como carbonato potásico). La reacción puede llevarse a cabo en un disolvente polar, por ejemplo, acetonitrilo o dioxano y mezclas de estos o en disolvente acuoso tal como etanol acuoso, o un éter como dimetoxietano, y la mezcla de reacción típicamente se somete a calentamiento, por ejemplo, a una temperatura de 80 °C o más, por ejemplo, a una temperatura en el intervalo 80 °C a 100 °C.

25 Después que la reacción de acoplamiento entre el compuesto (10) y el compuesto (11A) o el compuesto (11 B) tiene lugar, los grupos protectores pueden eliminarse convenientemente usando un ácido tal como ácido trifluorometanosulfónico en un disolvente tal como diclorometano, típicamente a temperatura ambiente o por ahí.

30 El compuesto de la Fórmula (10) en el cual LG¹ es un átomo de yodo puede prepararse por una serie de reacciones mostradas en el Esquema 1 más abajo.

35 En el Esquema 1, el cloruro de yodobenzoilo reacciona con etil 2-isocianoacetato en un disolvente aprótico polar tal como tetrahidrofurano, por ejemplo, a temperatura ambiente, para dar el éster de yodofeniloxazol (13). El éster (13) reacciona después con la piperazina protegida (14) en presencia de un compuesto de paladio tal como acetato de paladio y un ligando de fosfina como bifenil-2-ildiciclohexilfosfina para dar el éster de piperazinilfenil-oxazol sustituido (15). La reacción se lleva a cabo típicamente en un disolvente aprótico tal como tolueno en presencia de una base tal como carbonato de cesio, usualmente con calentamiento leve, por ejemplo, a una temperatura de aproximadamente 70-90 °C.



Esquema 1

El éster (15) se hidroliza usando un hidróxido de metales alcalinos como hidróxido sódico en un disolvente polar tal como metanol y/o THF para dar el ácido carboxílico (16) que se convierte después a dimetoxibencilamida (17) por reacción con dimetoxibencilamina bajo condiciones de formación de amida, por ejemplo, en presencia de un reactivo del tipo usado comúnmente en la formación de enlaces amida. Los ejemplos de tales reactivos incluyen agentes de acoplamiento basados en carbodiimida tal como 1,3-diciclohexilcarbo-diimida (DCC) (Sheehan y otros, *J. Amer. Chem. Soc.* 1955, 77, 1067) y 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropilo)-carbodiimida (mencionados en la presente como EDC o EDCI) (Sheehan y otros, *J. Org. Chem.*, 1961, 26, 2525), que se usan típicamente en combinación con 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt) (L. A. Carpino, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1993, 115, 4397) o 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) (Konig y otros, *Chem. Ber.*, 103, 708, 2024-2034). Otros ejemplos de tales reactivos son agentes de acoplamiento basados en uronio tales como O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HATU). Un agente de acoplamiento amida preferido es HATU.

La reacción de acoplamiento se lleva a cabo típicamente en un disolvente no acuoso, no prótico tal como dimetilformamida a temperatura ambiente en presencia de una base no interferente, por ejemplo una amina terciaria tal como trietilamina o *N,N*-diisopropiletilamina.

La litiación de la dimetoxibencilamida (17) usando hexametildisilazida de litio (LiHMDS) en THF a una temperatura reducida seguido por la reacción con yodo da 2-yodo-oxazol (10). El compuesto (10) puede convertirse después en un compuesto de la Fórmula (1) por los métodos descritos anteriormente.

En una variante (ii) del proceso, el ácido carboxílico de la Fórmula (18) reacciona con amoníaco (o un precursor del grupo amino tal como dimetoxibencilamina) bajo condiciones de formación de amida del tipo descrito anteriormente, por ejemplo, usando EDC en combinación con HOBt.

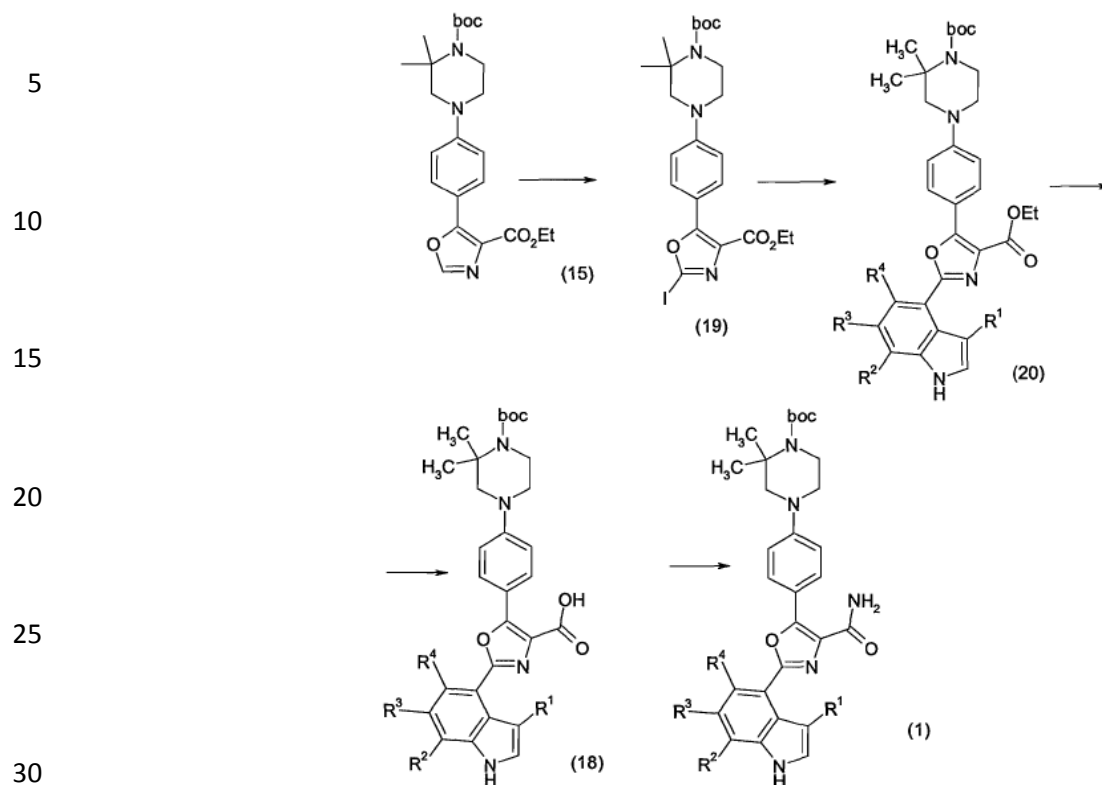
El compuesto de la Fórmula (18) se puede preparar por la secuencia de reacciones mostrada en el Esquema 2 más abajo.

En el Esquema 2, el éster (15) (ver Esquema 1 anteriormente), se yoda por reacción con hexametildisilazida de litio (LiHMDS) en THF a una temperatura reducida seguido por la reacción con yodo para dar el compuesto de yodo (19). El compuesto de yodo (19) reacciona después bajo condiciones de acoplamiento de Suzuki (ver anteriormente) con un compuesto de éster de boronato de la Fórmula (11) para dar el intermedio (20) que se hidroliza usando hidróxido sódico para dar el ácido carboxílico de la Fórmula (18).

Una vez formado, muchos compuestos de la Fórmula (1) pueden convertirse en otros compuestos de la Fórmula (1) usado interconversiones del grupo funcional estándar.

Los ejemplos de interconversiones del grupo funcional y reactivos y condiciones para llevar a cabo tales conversiones pueden encontrarse en, por ejemplo, *Advanced Organic Chemistry*, de Jerry March, 4ta edición, 119, Wiley Interscience, Nueva York, *Fiesers' Reagents for Organic Synthesis*, volúmenes 1-17, John Wiley, editado por Mary Fieser (ISBN: 0-471-58283-2), y *Organic Syntheses*, volúmenes 1-8, John Wiley, editado por Jeremiah P. Freeman (ISBN: 0-471-31192-8).

En muchas de las reacciones descritas anteriormente, puede ser necesario proteger uno o más grupos para evitar la reacción a de tomar lugar en una ubicación no deseada en la molécula. Los ejemplos de grupos protectores, y métodos para proteger y desproteger grupos funcionales, pueden encontrarse en *Protective Groups in Organic Synthesis* (T. Green and P. Wuts; 3ra edición; John Wiley and Sons, 1999).



Esquema 2

35 Los compuestos de la invención pueden aislarse y purificarse de conformidad con técnicas estándar bien conocidas por las personas experimentadas en la técnica. Una técnica de especial utilidad en la purificación de los compuestos es la cromatografía líquida preparativa usando espectrometría de masas como un medio de detección de los compuestos purificados que salen de la columna de cromatografía.

40 La LC-MS preparativa es un método estándar y efectivo usado para la purificación de pequeñas moléculas orgánicas tales como los compuestos descritos en la presente. Los métodos para la cromatografía líquida (LC) y espectrometría de masas (MS) pueden variarse para proporcionar mejor separación de los materiales en bruto y detección mejorada de las muestras por MS. La optimización del método de gradiente LC preparativo implicará variar columnas, eluyentes y modificadores volátiles, y gradientes. Los métodos son bien conocidos en la materia para la optimización de métodos LC-MS preparativos y se usan después para purificar los compuestos. Tales métodos se describen en Rosentreter U, Huber U.; Optimal fraction collecting in preparative LC/MS; *J Comb Chem.*; 2004; 6(2), 159-64 y Leister W, Strauss K, Wisnoski D, Zhao Z, Lindsley C., Development of a custom high-throughput preparative liquid chromatography/mass spectrometer platform for the preparative purification and analytical analysis of compuesto libraries; *J Comb Chem.*; 2003; 5(3); 322-9.

50 Los compuestos intermedios (10), (10A) y (15) a (20) forman parte además de la presente invención. En consecuencia, en una modalidad adicional (Modalidad 3.2), la invención proporciona un compuesto seleccionado de los compuestos intermedios de las fórmulas (10), (10A), (15), (16), (17), (18), (19) y (20) como se describió anteriormente.

55 Formulaciones farmacéuticas

Aunque es posible que el compuesto activo se administre solo, es preferible presentarlo como una composición farmacéutica (por ejemplo formulación) que comprende al menos un compuesto activo de la invención junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, adyuvantes, excipientes, diluyentes, rellenos, tampones, estabilizantes, conservantes, lubricantes, u otros materiales bien conocidos por aquellos con experiencia en la materia y opcionalmente otros agentes terapéuticos o profilácticos.

60 En consecuencia, en otro aspecto (Modalidad 4.1), la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 y un portador farmacéuticamente aceptable.

65 El término "farmacéuticamente aceptable" como se usa en la presente refiere a los compuestos, materiales,

- composiciones, y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico razonable, adecuados para usar en contacto con los tejidos de un sujeto (por ejemplo, ser humano) sin excesiva toxicidad, irritación, reacción alérgica, u otros problemas o complicación, de acuerdo con una relación razonable de beneficio/riesgo. Cada portador, excipiente, etc. debe ser además "aceptable" en el sentido de ser compatible con otros ingredientes de la Fórmulación.
- 5 Las composiciones farmacéuticas pueden estar en cualquier forma adecuada para la administración oral, parenteral, tópica, intranasal, oftálmica, ótica, rectal, intravaginal o transdérmica. Cuando las composiciones son pretendidas para administración parenteral, se pueden formular para la administración intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea o para el suministro directo en un órgano o tejido diana mediante inyección, infusión u otros medios de suministro.
- 10 En una modalidad (Modalidad 4.2), la composición farmacéutica está en una forma adecuada para la administración por vía intravenosa, por ejemplo por inyección o infusión.
- 15 En otra modalidad (Modalidad 4.3), la composición farmacéutica está en una forma adecuada para la administración subcutánea (s.c.).
- En una modalidad adicional (Modalidad 4.4), la composición farmacéutica está en una forma adecuada para administración oral.
- 20 Las formas farmacéuticas de dosificación adecuadas para la administración oral incluyen tabletas, cápsulas, comprimidos, píldoras, pastillas, jarabes, soluciones, polvos, gránulos, elixires y suspensiones, tabletas sublinguales, obleas o parches y parches bucales.
- 25 Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la Fórmula (1) pueden formularse de acuerdo con técnicas conocidas, ver por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, Estados Unidos.
- 30 Así, las composiciones de las tabletas pueden contener una dosificación unitaria del compuesto activo junto con un diluyente o portador inerte tal como un azúcar o alcohol de azúcar, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol o manitol, y/o un diluyente no derivado de azúcar tal como carbonato de sodio, fosfato de calcio, carbonato de calcio, o una celulosa o derivado de esta tal como metil celulosa, etil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, y almidones tales como almidón de maíz. Las tabletas puede contener además tales ingredientes estándares como agentes aglutinantes y de granulación tales como polivinilpirrolidona, desintegrantes (por ejemplo polímeros reticulados hinchables tales como carboximetilcelulosa reticulada), agentes lubricantes (por ejemplo estearatos), conservantes (por ejemplo parabenos), antioxidantes (por ejemplo BHT), agentes tampón (por ejemplo tampones fosfato o citrato) y agentes efervescentes tales como mezclas citrato/bicarbonato. Tales excipientes son bien conocidos y no es necesario discutirlos aquí en detalle.
- 35 Las formulaciones en cápsulas pueden ser de la variedad de gelatina dura o de gelatina blanda y pueden contener el componente activo en forma sólida, semisólida o líquida. Las cápsulas de gelatina pueden formarse a partir de gelatina animal o sintética o equivalentes derivados de planta de las mismas.
- 40 Las formas de dosificación sólidas (por ejemplo, tabletas, cápsulas etc.) pueden ser recubiertas o no recubiertas, pero típicamente tienen un recubrimiento, por ejemplo un recubrimiento de película protectora (por ejemplo una cera o barniz) o un recubrimiento de control de la liberación. El recubrimiento (por ejemplo un polímero tipo Eudragit™) puede ser diseñado para liberar el componente activo en un lugar deseado dentro del tracto gastrointestinal. Así, el recubrimiento puede ser seleccionado para degradarse bajo ciertas condiciones de pH dentro del tracto gastrointestinal, y de ese modo liberar el compuesto selectivamente en el estómago o en el íleon o duodeno.
- 45 En lugar de, o adicionalmente a, un recubrimiento, el fármaco puede presentarse en una matriz sólida que comprende un agente de control de la liberación, por ejemplo un agente que retrasa la liberación que puede adaptarse para liberar selectivamente el compuesto bajo condiciones diversas de acidez o alcalinidad en el tracto gastrointestinal. Como alternativa, el material de la matriz o recubrimiento que retarda la liberación puede tomar la forma de un polímero erosionable (por ejemplo, polímero anhídrido maleico) que se erosiona sustancialmente continuamente según la forma de dosificación pasa a través del tracto gastrointestinal. Como una alternativa adicional, el compuesto activo puede formularse en un sistema de suministro que proporcione el control osmótico de la liberación del compuesto. La liberación osmótica y otras formulaciones de liberación retardada o de liberación sostenida pueden ser preparadas de acuerdo con métodos bien conocidos por aquellos con experiencia en la materia.
- 50 Las composiciones para uso tópico incluyen ungüentos, cremas, atomizadores, parches, geles, gotas líquidas e insertos (por ejemplo insertos intraoculares). Tales composiciones pueden formularse de acuerdo con métodos conocidos.
- 55 Las composiciones para la administración parenteral se presentan típicamente como soluciones acuosas o aceitosas estériles o suspensiones finas, o pueden proporcionarse en forma de polvo estéril finamente dividido para el maquiillaje extemporáneamente con agua estéril para inyección.
- 60
- 65

Las composiciones para administración parenteral pueden formularse para administración como unidades de dosificación discretas o pueden formularse para la administración por infusión.

5 Los ejemplos de formulaciones para la administración rectal o intravaginal incluyen pesarios y supositorios que pueden, por ejemplo, formarse a partir de un material en forma moldeable o ceroso que contiene el compuesto activo.

10 Las composiciones para la administración por inhalación pueden tomar la forma de composiciones en polvo inhalables o atomizadores líquidos o en polvo, y pueden administrarse en forma estándar usando dispositivos inhaladores de polvo o dispositivos dispensadores de aerosol. Tales dispositivos son bien conocidos. Para la administración por inhalación, las formulaciones en polvo comprenden típicamente el compuesto activo junto con un diluyente en polvo inerte sólido tal como lactosa.

15 Los compuestos de la invención se presentarán generalmente en forma de dosificación unitaria y, como tal, contendrán típicamente suficiente compuesto para proporcionar un nivel deseado de actividad biológica. Por ejemplo, una formulación destinada para la administración oral puede contener de 0.1 miligramos a 2 gramos de ingrediente activo, más usualmente de 10 miligramos a 1 gramo, por ejemplo, 50 miligramos a 500 miligramos.

20 El compuesto activo se administrará a un paciente que lo necesite (por ejemplo, un paciente humano o animal) en una cantidad suficiente para lograr el efecto terapéutico deseado.

Métodos de tratamiento

25 Se prevé que los compuestos de la Fórmula (1) y subgrupos de estos como se define en la presente serán útiles en la profilaxis o tratamiento de una variedad de afecciones o estados de enfermedad mediados por una Aurora quinasa (por ejemplo, Aurora A quinasa o Aurora B quinasa). Los ejemplos de tales afecciones o estados de enfermedad se exponen anteriormente.

30 En particular, se prevé que los compuestos de la Fórmula (1) serán útiles en la profilaxis y tratamiento de enfermedades proliferativas (como cánceres) y trastornos mieloproliferativos.

Los compuestos se administran generalmente a un sujeto que necesita de tal administración, por ejemplo un paciente humano o animal, preferentemente un ser humano.

35 Los compuestos se administrarán típicamente en cantidades que son terapéuticamente o profilácticamente útiles y que generalmente no son tóxicas. Sin embargo, en ciertas situaciones (por ejemplo, en el caso de enfermedades que amenazan la vida), los beneficios de administrar un compuesto de la Fórmula (1) pueden superar las desventajas de cualquiera de los efectos tóxicos o efectos secundarios, en cuyo caso puede considerarse deseable administrar los compuestos en cantidades que están asociadas con un grado de toxicidad.

40 Los compuestos pueden administrarse durante un prolongado plazo para mantener los efectos terapéuticos beneficiosos o pueden administrarse durante un período de tiempo corto. Como alternativa pueden administrarse en una manera pulsátil o continua.

45 Una dosis diaria típica del compuesto puede estar en el intervalo de 100 picogramos a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal, más típicamente 5 nanogramos a 25 miligramos por kilogramo de peso corporal, y más usualmente 10 nanogramos a 15 miligramos por kilogramo (por ejemplo, 10 nanogramos a 10 miligramos) por kilogramo de peso corporal aunque pueden administrarse dosis mayores o menores cuando sea necesario. Al final, la cantidad del compuesto administrado y el tipo de composición usada estará de acuerdo con la naturaleza de la afección fisiológica o enfermedad que se trata y será a la discreción del médico.

50 Los compuestos de la Fórmula (1) pueden administrarse como un solo agente terapéutico o pueden administrarse en terapia de combinación con uno o más de otros compuestos para el tratamiento de un estado de la enfermedad particular, por ejemplo una enfermedad neoplásica tal como un cáncer como se definió anteriormente. Ejemplos de otros agentes terapéuticos que se pueden administrar juntos (ya sea al mismo tiempo o en diferentes intervalos de tiempo), con los compuestos de la Fórmula (1) incluyen pero sin limitarse a inhibidores de la topoisomerasa, agentes alquilantes, antimetabolitos, aglutinantes de ADN e inhibidores de los microtúbulos (agentes de direccionamiento de tubulina), tales como cisplatino, ciclofosfamida, doxorubicina, irinotecan, fludarabine, 5FU, taxanos, mitomicina C, o radioterapia. Alternativamente, los compuestos de la Fórmula (1) puede administrarse en una terapia de combinación con anticuerpos monoclonales o inhibidores de transducción de señales.

55 Cuando el compuesto de la Fórmula (1) se administra en terapia de combinación con uno, dos, tres, cuatro o más de otros agentes terapéuticos (preferentemente uno o dos, con mayor preferencia uno), los compuestos pueden administrarse simultáneamente o secuencialmente. Cuando se administran secuencialmente, pueden ser administrados a intervalos estrechamente espaciados (por ejemplo durante un periodo de 5-10 minutos) o a intervalos más largos (por

ejemplo 1, 2, 3, 4 o más horas de separación, o aun períodos más largos cuando sea necesario), siendo el régimen preciso de dosificación acorde con las propiedades del agente (s) terapéutico (s).

5 Los compuestos de la invención pueden administrarse junto con tratamientos no quimioterapéuticos tales como radioterapia, terapia fotodinámica, terapia génica; cirugía y dietas controladas.

10 Para el uso en terapia de combinación con otro agente quimioterapéutico, el compuesto de la Fórmula (1) y uno, dos, tres, cuatro o más de otros agentes terapéuticos pueden ser, por ejemplo, formulados juntos en una forma de dosificación que contienen dos, tres, cuatro o más agentes terapéuticos. En una alternativa, los agentes terapéuticos individuales, pueden formularse por separado y presentarse juntos en la forma de un estuche, opcionalmente con instrucciones para su uso.

Métodos de Diagnóstico

15 Antes de la administración de un compuesto de la fórmula (1), un paciente puede ser examinados para determinar si una enfermedad o afección de la que el paciente padece o puede padecer es una que pudiera ser susceptible de tratamiento con un compuesto que tiene actividad contra a FLT3 quinasa o una Aurora quinasa (por ejemplo Aurora A quinasa o Aurora B quinasa).

20 En consecuencia, en otras modalidades (5.1 a 5.6), la invención proporciona:

25 5.1: Un compuesto como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 en la presente descripción o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en la presente para su uso en el tratamiento o profilaxis de un estado de enfermedad o afección en un paciente que se ha seleccionado y se determina que padece de, o tiene el riesgo de padecer de, una enfermedad o afección que pudiera ser susceptible de tratamiento con un compuesto que tiene actividad contra la Aurora quinasa (por ejemplo, Aurora A quinasa o Aurora B quinasa).

30 5.2 El uso de un compuesto como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 en la presente descripción o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en la presente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de un estado de enfermedad o afección en un paciente que se ha seleccionado y se determina que padece de, o tiene el riesgo de padecer de, una enfermedad o afección que pudiera ser susceptible de tratamiento con un compuesto que tiene actividad contra la Aurora quinasa (por ejemplo, Aurora A quinasa o Aurora B quinasa).

35 5.3 Un método para el diagnóstico y tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediado por una Aurora quinasa (por ejemplo, Aurora A quinasa o Aurora B quinasa), el método comprende (i) seleccionar a un paciente para determinar si una enfermedad o afección de la que el paciente padece o puede padecer es una que pudiera ser susceptible de tratamiento con un compuesto que tiene actividad contra la quinasa; y (ii) donde se indica que la enfermedad o condición de la que el paciente es por lo tanto susceptible, después de eso administrar al paciente un compuesto como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 en la presente descripción o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en la presente.

40 5.4 Un compuesto como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 en la presente descripción o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en la presente para su uso en el tratamiento o profilaxis de un estado de enfermedad o afección en un paciente que se ha seleccionado y se determina que padece de, o tiene el riesgo de padecer de, una enfermedad o afección que pudiera ser susceptible de tratamiento con un compuesto que tiene actividad contra FLT3 quinasa.

45 5.5 El uso de un compuesto como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 en la presente descripción o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en la presente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de un estado de enfermedad o afección en un paciente que se ha seleccionado y se determina que padece de, o tiene el riesgo de padecer de, una enfermedad o afección que pudiera ser susceptible de tratamiento con un compuesto que tiene actividad contra FLT3 quinasa.

50 5.6 Un método para el diagnóstico y tratamiento de un estado de enfermedad o afección mediada por la FLT3 quinasa, el método comprende (i) seleccionar a un paciente para determinar si una enfermedad o afección de la que el paciente padece o puede padecer es una que pudiera ser susceptible de tratamiento con un compuesto que tiene actividad contra la quinasa; y (ii) donde se indica que la enfermedad o condición de la que el paciente es por lo tanto susceptible, después de eso administrar al paciente un compuesto como se define en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.43 en la presente descripción o cualquier subgrupo o ejemplos de este como se define en la presente.

55 60 Una muestra biológica tomada de un paciente puede someterse a pruebas diagnósticas para determinar si una enfermedad o afección, tal como cáncer, que el paciente es o puede padecer de es uno que se caracteriza por una anomalía genética (por ejemplo, una quinasa mutada) o expresión anormal de proteína tal como sobreexpresión o sobre regulación de una Aurora quinasa o una FLT3 quinasa. El paciente puede someterse a una prueba diagnóstica para detectar un marcador característico de sobre regulación de la Aurora quinasa o FLT3 quinasa o la presencia de una Aurora quinasa o FLT3 quinasa mutadas. Los tumores con sobre regulación de una Aurora quinasa o FLT3 quinasa

5 puede ser particularmente sensible a los inhibidores de la quinasa. Por ello, los tumores pueden seleccionarse preferentemente para la sobre regulación de una Aurora quinasa o FLT3 quinasa. Las pruebas diagnósticas se conducen típicamente sobre una muestra biológica seleccionada de muestras de biopsia de tumor, muestras de sangre (aislamiento y enriquecimiento de células tumorales caladas), biopsias de heces, esputo, análisis cromosómico, fluido pleural, fluido peritoneal, u orina.

10 La identificación de individuos que portan una mutación en una Aurora quinasa o FLT3 quinasa puede significar que el paciente sería particularmente adecuado para el tratamiento con un inhibidor de la quinasa. Los tumores pueden seleccionarse preferentemente para la presencia de una variante antes del tratamiento. Los proceso de selección involucrarán típicamente secuenciación directa, análisis de microarreglo de oligonucleótido, o un anticuerpo específico mutante.

15 Los métodos de identificación y análisis de mutaciones y sobre regulación de proteínas son bien conocidos por una persona con experiencia en la técnica. Los métodos de selección pueden incluir, pero sin limitarse a, métodos estándares tales como reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) o hibridación *in-situ*.

20 En la selección por RT-PCR, el nivel de ARNm en el tumor se evalúa creando una copia de ADNc del ARNm seguido por la amplificación del ADNc por PCR. Los métodos de amplificación por PCR, la selección de cebadores y condiciones para la amplificación, se conocen por una persona con experiencia en la materia. Las manipulaciones del ácido nucleico y PCR se llevan a cabo por métodos estándares, como se describe, por ejemplo, en Ausubel y otros, eds. Current Protocols in Molecular Biology (2004) John Wiley & Sons Inc., o Innis, M.A. y otros, eds. PCR Protocols: a guide to methods and applications (1990) Academic Press, San Diego. Las reacciones y manipulaciones que involucran ácidos nucleicos y técnicas se describen Sambrook y otros, 3ra Edición, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press. Como alternativa un estuche comercialmente disponible para RT-PCR (por ejemplo, Roche Molecular Biochemicals,) puede ser usado, o la metodología como se expone en las patentes de Estados Unidos 4,666,828; 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659, 5,272,057, 5,882,864, y 6,218,529 y se incorporan en la presente como referencia.

30 Un ejemplo de una técnica de hibridación *in-situ* para evaluar la expresión de ARNm podría ser la hibridación *in-situ* con fluorescencia (FISH) (ver Angerer, 1987 Meth. Enzymol., 152: 649).

35 Generalmente, la hibridación *in-situ* comprende las siguientes etapas principales: (1) fijación del tejido que se analiza, (2) tratamiento de prehibridación de la muestra para aumentar la accesibilidad del ácido nucleico objetivo, y para reducir la unión no específica, (3) hibridación de la mezcla de ácidos nucleicos a los ácidos nucleicos en el tejido o estructura biológica, (4) lavados post-hibridación para eliminar los fragmentos de ácido nucleico no unido en la hibridación, y (5) detección de los fragmentos de ácido nucleico hibridados. Las sondas usadas en tales aplicaciones se marcan típicamente, por ejemplo, con radioisótopos o indicadores fluorescentes. Las sondas preferidas son suficientemente largas, por ejemplo, de aproximadamente 50, 100, o 200 nucleótidos a aproximadamente 1000 o más nucleótidos, para permitir la hibridación específica con los ácido(s) nucleico(s) objetivo(s) en condiciones rigurosas. Los métodos estándares para llevar a cabo la FISH se describen en Ausubel y otros, eds. Current Protocols in Molecular Biology (2004) John Wiley & Sons Inc y Fluorescence *In Situ Hybridization: Technical Overview* by John M. S. Bartlett in Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols, 2da edición; ISBN: 1-59259-760-2; (2004) pps. 077-088; Series: Methods in Molecular Medicine.

45 Alternativamente, los productos proteicos expresados a partir de los ARNm pueden ensayarse por inmunohistoquímica de muestras tumorales, inmunoensayo en fase sólida con placas de microtitulación, transferencia de Western, electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS de 2-dimensiones, ELISA, citometría de flujo y otros métodos conocidos en la materia para la detección de proteínas específicas. Los métodos de detección podrían incluir el uso de anticuerpos específicos al sitio.

50 Breve descripción de las figuras

55 La Figura 1 muestra el efecto antitumoral de los compuestos de los Ejemplos 2 y 7 en comparación con citarabina en el modelo de ratón de xenoinjerto MV4-11 descrito en el Ejemplo 17.

La Figura 2 muestra el efecto antitumoral del compuesto del Ejemplo 2 en comparación con citarabina en el modelo de ratón de xenoinjerto MV4-11.

60 La Figura 3 muestra el efecto antitumoral del compuesto del Ejemplo 7 en comparación con citarabina en el modelo de ratón de xenoinjerto MV4-11.

La Figura 4 muestra los pesos del tumor de ratón desnudo que porta xenoinjerto de MV4-11 el día 29 (punto final) después de la administración del vehículo, los compuestos de los Ejemplos 2 y 7 y citarabina.

La Figura 5 muestra los cambios de peso corporal de ratones desnudos que portan xenoinjerto MV4-11 durante todo el período de estudio del estudio descrito en el Ejemplo 17 después de la administración del vehículo, los compuestos de ejemplos 2 y 7 y citarabina.

5 EJEMPLOS

La invención será ahora ilustrada, pero no limitada, con referencia a modalidades específicas descritas en los siguientes ejemplos.

10 En los ejemplos, se usan las siguientes abreviaturas.

TEA: trietilamina

PE: éter de petróleo

EtOAc: acetato de etilo

15 STM: materia prima

DMF: N,N-dimetilformamida

DMSO: dimetilsulfóxido

DCM: diclorometano

LCMS: cromatografía en líquido-espectrometría de masa

20 THF: tetrahidrofurano

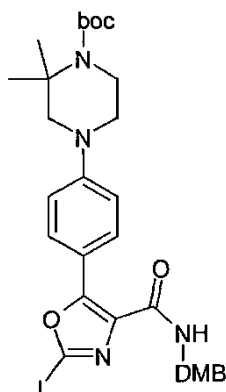
prep.HPLC: HPLC preparativa

Preparación de los compuestos intermedios

25 A. Preparación del compuesto intermedio (10A)

ter-butil éster del ácido 4-[4-[4-(2,4-dimetoxi-bencilcarbamoil)-2-yodo-oxazol-5-il]-fenilo]-2,2-dimetilpiperazina-1-carboxílico

30



45

El compuesto intermedio (10A) se pueden preparar por la secuencia de reacciones mostrada en el Esquema 1 anteriormente.

50 Etapa 1

Etil éster del ácido 5-(4-yodo-fenil)-oxazol-4-carboxílico (Compuesto (13) en el Esquema 1)

55 A una solución de 4-yodobenzoil cloruro (14.0 g, 0.052 mol) en 100 ml THF se añadió TEA (15.6 g, 0.156 mol) por goteo y la mezcla se agitó por 10 minutos antes de añadir lentamente etil 2-isocianoacetato (6.5 g, 0.058 mol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 16 horas, el disolvente se eliminó y el residuo se trató con EtOAc y agua. La capa orgánica se separó, se secó sobre P_2O_5 y el disolvente se eliminó. El producto crudo se purificó por columna para dar el compuesto del título (11.0 g, 61.7%) como un sólido naranja.

60 ^1H NMR: CDCl_3 400 MHz - 6 7.92 (s, 1 H), 7.80-7.90 (m, 4H), 4.43 (q, J=7.2 Hz, 2H), 1.42 (t, J=7.2 Hz, 3H).

Etapa 2

65 ter-Butil éster del ácido 4-[4-(4-Etoxicarbonilo-oxazol-5-il)-fenil]-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico (Compuesto (15) en el Esquema 1)

A una solución agitada de etil éster de ácido 5-(4-yodo-fenil)-oxazol-4-carboxílico (11.0 g, 32 mmol) en tolueno seco (300 mL) se añadió ter-butil éster del ácido 2,2-dimetil-piperazina-1-(7.53 g, 35.2 mmol), Pd(AcO)₂ (580 mg, 2.56 mmol), bifeníl-2-ildiciclohexilfosfina (0.9 g, 2.56 mmol) y Cs₂CO₃ (20.7 g, 64 mmol) bajo una atmósfera nitrógeno a temperatura ambiente. La mezcla se calentó hasta 80°C y se agitó por 24 hrs. La solución se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente y después se particionó entre agua y EtOAc. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se eliminó para dar el producto crudo. Este se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (PE/ EtOAc = 40/1 ~ 10/1 para recuperar la materia prima no reaccionada; PE/EtOAc = 8/1 ~ 5/1 para dar el compuesto del título (6.0 g, 43 %) como un sólido amarillo.

¹H NMR: DMSO 400 MHz - δ 8.06 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 7.81 (s, 1H), 6.75 (d, J= 9.2 Hz, 2H), 4.42 (q, 2H), 3.86 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 3.46 (s, 2H), 1.56 (s, 9H), 1.43 (s, 6H).

Etapa 3

ter-butil éster del ácido 4-[4-[4-(2,4-Dimetoxi-bencilcarbamoil)-oxazol-5-il]-fenil]-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico (Compuesto (17) en el Esquema 1)

A una solución de ter-butil éster del ácido 4-[4-(4-Etoxicarbonilo-oxazol-5-il)-fenil]-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico (2.4 g, 5.6 mmol) en 20 mL THF y 20 mL de metanol se añadió solución de hidróxido sódico acuoso 2N (11.2 mL, 22.4mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 16 hrs y el disolvente orgánico se eliminó después *al vacío*. La mezcla acuosa resultante se ajustó a pH 4~5 por adición de cloruro de hidrógeno acuoso 1N. La mezcla se liofilizó para producir 3g de ter-butil éster del ácido 4-[4-(4-carboxi-oxazol-5-il)-fenil]-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico como un polvo amarillento, que se usó en la siguiente etapa directamente.

ter-Butil éster del ácido 4-[4-(4-carboxi-oxazol-5-il)-fenil]-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico se disolvió en 30 mL DMF. A la solución se añadió 2, 4-dimetoxi-bencilamina (1.26 g, 7.6 mmol), HATU (2.8 g, 7.4 mmol) y TEA (1g, 10 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y el disolvente se eliminó *al vacío*. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 5: 1 a DCM: MeOH= 200 : 1) para proporcionar el compuesto del título (1.6 g, 3 mmol, rendimiento: 54% en dos etapas).

¹H NMR: (400MHz MeOD) δ 8.10 (d, J= 9.2 Hz, 2H), 8.00 (s, 1H), 7.20 (d, J= 8.0 Hz, 1 H), 6.82 (d, J= 9.2 Hz, 2H), 6.48~6.58 (m, 2H), 4.49 (s, 2H), 3.84~3.90 (m, 5H), 3.80 (s, 3H), 3.71 (t, 2H), 3.56 (s, 2H), 1.51 (s, 9H), 1.45 (s, 6H).

Etapa 4

ter-Butil éster del ácido 4-[4-[4-(2,4-gdimetoxi-bencilcarbamoil)-2-yodo-oxazol-5-il]-fenil]-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico (Compuesto (10A) en el Esquema 1)

A una solución de ter-butil éster del ácido 4-[4-[4-(2,4-dimetoxi-bencilcarbamoil)-oxazol-5-il]-fenil]-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico (2.6 g, 4.7 mmol) en 20 mL THF a - 78 °C se añadió una solución de LiHMDS 1 M (44 mL, 44 mmol) en THF. La mezcla se agitó por 0.5 h, y después I₂ (9 g, 35 mmol) se añadió en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 1 h. La mezcla se apagó con 15% de Na₂S₂O₃ acuoso y se extrajo con EtOAc y se lavó con agua. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se eliminó *al vacío* para dar el producto crudo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 2/1 a PE/EtOAc/DCM = 1/1/2) para proporcionar el compuesto del título (2.4 g, rendimiento: 75 %).

¹H NMR: CDCl₃ 400 MHz - δ 8.16 (d, J= 9.2 Hz, 2H), 7.22-7.47 (m, 3H), 6.70 (d, J= 9.2 Hz, 2H), 6.41-6.46 (m, 3H), 4.52 (d, J= 5.6 Hz, 2H), 3.82-3.88 (m, 5H), 3.80 (s, 3H), 3.46 (t, 2H), 3.43 (s, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.41 (s, 6H).

50 B. Preparación de intermedios de ácido borónico

Siguiendo los métodos que figuran a continuación, se prepararon los siguientes intermedios de boronato éster/ácido borónico B-1 a B-12.

55

60

65

5			
10	B-1	B-2	B-3
15			
20	B-4	B-5	B-6
25			
30	B-7	B-8	B-9
35			
40	B-10	B-11	B-12

Intermedio B-1Ácido 1-(ter-butildimetilsilil)-5-fluoro-1H-indol-4-ilborónico

Etapa 1

Preparación de 1-(terc-butildimetilsilil)-5-fluoro-1H-indol

A 0°C, NaH (1.88 g, 46.2mmol) se añadió a una solución de 5-fluoro-1 H-indol (5.2 g, 38.5 mmol) en 40 mL DMF. Después de 10 min a 0°C cloruro de terc-butildimetilsilil (6.96g, 46.2mmol) se añadió y la mezcla se mantuvo en agitación a 0°C por 1 h adicional. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó toda la noche, y después se diluyó por adición de agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se concentró y purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (6.5 g, 67.7%)

¹H NMR CDCl₃ 400 MHz δ 7.41 (s, 1 H), 7.28-7.25 (dd, 1 H, J=2.4 and J=8.8), 7.22 (d, 1 H, J= 3.2), 6.89 (d, 1 H, J=2.8), 6.58-6.57 (dd, 1 H, J=0.8 and J= 3.2), 0.93 (t, 9H), 0.60 (t, 6H)

Etapa 2

Preparación de ácido 1-(terc-butildimetilsilil)-5-fluoro-1 H-indol-4-ilborónico

A una mezcla del producto de la Etapa 1 (4.98 g, 20 mmol) y TMEDA (2.32g, 20mmol) en THF a -78 °C se añadió lentamente una solución 1.3M de s-BuLi (15.4mL, 20mmol) en ciclohexano y la mezcla se agitó por 2 h a -78 °C. Se añadió borato de triisopropilo (3.76 g, 20 mmol) a la mezcla a -78 °C y se agitó por otra 1 h y después se calentó a -20°C. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con EtOAc y la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó. El residuo se recristalizó (EtOAc y n-hexano) para dar el compuesto del título (1.2g, 20.7%).

^1H NMR DMSO 400 MHz δ 7.48-7.45 (m, 1 H), 7.35 (d, 1 H, J=3.2), 6.83 (t, 1 H), 6.50 (s, 2H), 6.62(dd, 1H, J=0.8 y J-3.2), 0.84 (s, 9H), 0.56(s, 6H).

5 Intermedio B-2

5-Metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

Etapa 1

10

3-Bromo-2,4-dimetil-nitrobenceno

15

Se añadió ácido nítrico humeante (32.5 ml) lentamente a una solución de 2,6-dimetil-bromobenceno (10 g, 54 mmol) en AcOH (75 ml) enfriada en un baño de hielo. resultante se dejó calentar a temperatura ambiente, se agitó por 1 h, y se calentó a 80 °C por 2 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en agua helada con agitador. El precipitado resultante se recogió por filtración con succión para proporcionar el compuesto del título (10 g) que se usó sin purificación adicional.

20

Etapa 2

[2-(2-Bromo-3-metil-6-nitro-fenil)-vinilo]-dimetil-amina

25

Una mezcla de 3-bromo-2,4-dimetil-nitrobenceno (12 g, 52 mmol) y pirrolidina (2.12 ml) en DMF/DMA (180 ml) se calentó a 120°C en un tubo sellado durante la noche. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para dar el compuesto del título crudo (10g).

Etapa 3

30

4-Bromo-5-metilindol

35

[2-(2-Bromo-3-metil-6-nitro-fenil)-vinilo]-dimetil-amina (10 g) se disolvió en AcOH / H_2O (100mL:25mL), se enfrió a 0°C y se trató con Zn (30 g) añadido lentamente en porciones. Después de completar la adición, la mezcla de reacción se calentó a 110°C durante la noche. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para dar el producto crudo. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el compuesto del título (1.4 g, 20 %)

^1H NMR CDCl_3 400 MHz δ 2.47 (m, 3H), 6.50-6.51 (m, 1H), 6.97-6.99 (m, 1H), 7.12-7.18(m, 2H), 8.12 (s, 1 H)

40

Etapa 4

Preparación de 5-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol:

45

4-Bromo-5-metilindol (0.7 g, 3.35 mmol), bis(pinacolato)diboro (1.7 g, 6.7 mmol), KOAc (1 g, 10 mmol) y $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (73 mg, 3 % molar) se suspendieron en DMSO seco (20 mL) en dos tubos de vidrio de 40 mL que se sellaron bien con una tapa de aluminio/Teflón. Las muestras se irradiaron a 250 W, 180 °C por 40 min en un reactor de microondas mono-modos CEM-Discover. Después del completamiento de las reacciones, los recipientes se enfriaron hasta 60°C, se combinaron y la mezcla cruda se filtró a través de un tapón delgado de Celita. El tapón de Celita se lavó con EtOAc (50 mL), las fracciones orgánicas se combinaron y el disolvente se eliminó a presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y después HPLC preparativa para dar 5 (280mg, 33 %).

50

^1H NMR CDCl_3 400 MHz δ 1.41 (s, 12H), 2.63 (s, 3H), 6.96-6.97 (m, 1 H), 7.01-7.03 (m, 1H), 7.18-7.20(m, 1H), 7.32-7.34 (m, 1H), 8.13 (s, 1H)

55

Intermedio B-3

7-Fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

Etapa 1

60

Preparación de 4-bromo-7-fluoro-1H-indole

65

A -40°C, bromuro de vinilmagnesio (300mL de solución 1.0M en THF, 300mmol) se añadió por goteo a una solución de 3-nitro-4-fluoro-bromobenceno (22 g, 100mmol) en THF (700mL). Después de 1 h a -40°C, la mezcla se apagó con solución acuosa de NH_4Cl y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para dar el producto crudo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice proporcionando 4-bromo-7-fluoro-1 H-indol (5 g, 23.3%).

^1H NMR CDCl_3 400 MHz δ 6.56-6.58 (m, 1H), 6.72-6.79 (m, 1H), 7.06-7.17 (m, 1H), 7.20-7.24 (m, 1 H), 8.45 (s, 1 H).

Etapa 2

5

7-Fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

10

4-Bromo-7-fluoro-1 H-indol (5 g, 23.3mmol), bis(pinacolato)diboro (9.5 g, 37.4 mmol), KOAc (6.85 g, 69.9 mmol) y $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (0.51 g, 3 % molar) se suspendieron en DME seco (60 mL) en cinco tubos de vidrio de 40 mL que se sellaron bien con una tapa de aluminio/Teflón. Las muestras se irradiaron a 250 W, 150 °C por 25 min en un reactor de microondas mono-modo CEM-Discover. Después del completamiento de las reacciones, los recipientes se enfriaron hasta 60°C, se combinaron y la mezcla cruda se filtró a través de una capa delgada de celita. La celita se lavó con EtOAc (50 mL), las fracciones orgánicas se combinaron y el disolvente se eliminó *al vacío*. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y después HPLC preparativa para dar el compuesto del título (2g, 32.9%).

15

^1H NMR CDCl_3 400 MHz δ 1.40 (s, 12H), 6.86-6.96 (m, 1H), 7.02-7.14 (m, 1H), 7.20-7.24(m, 1H), 7.51-7.62 (m, 1H), 8.43 (s, 1H)

Intermedio B-4

20

7-Cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

Etapa 1

25

Preparación of 4-bromo-1-cloro-2-nitro-benceno:

30

A una solución de 4-cloro-3-nitro-fenilamina (17.2 g, 0.1 mol) en 260 mL HBr (48%) a 0°C se añadió por goteo NaNO_2 (13.8 g, 0.2 mol) en agua. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a 0°C y después CuBr (24 g, 0.17 mol) se añadió en porciones a la mezcla y se agitó por 1 h adicional. Se añadió agua, la mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y después se extrajo con EtOAc. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (13 g, 55%).

^1H NMR CDCl_3 400 MHz δ 8.03-8.02 (m, 1 H), 7.66-7.63 (m, 1 H), 7.45-7.42 (m, 1 H).

35

Etapa 2

Preparación of 4-bromo-7-cloroindol:

40

A una solución de 4-bromo-1-cloro-2-nitro-benceno (14 g, 0.059 mol) en 400 mL THF a -40 °C se añadió por goteo bromuro de vinilmagnesio (177 mL de solución 1.0M en THF, 0.177 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 hrs a -40 °C. NH_4Cl acuoso se añadió y la mezcla se extrajo con éter. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (6 g, 44 %).

45

^1H NMR CDCl_3 400 MHz δ 8.5 (s, 1 H), 7.31-7.29 (m, 1 H), 7.26-7.22 (m, 1H), 7.07-7.05 (m, 1 H), 6.65-6.63 (m, 1 H).

Etapa 3

Preparación de 7-cloro-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol:

50

4-Bromo-7-cloroindol (0.6 g, 2.6 mmol), bis(pinacolato)diboro (0.728g, 2.86 mmol), KOAc (0.76 g, 7.8 mol) y $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (57mg, 3% molar) se suspendieron en DME (15 mL) y se irradió a 250 W, 130 °C por 35 min en un reactor de microondas mono-modo CEM-Discover. El sólido se eliminó por filtración, se añadió agua y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (0.3 g, 39%).

55

^1H NMR CDCl_3 400 MHz δ 8.5 (s, 1 H), 7.57-7.55 (d, 1 H, $J = 7.6$ Hz), 7.3(s, 1 H), 7.21-7.19 (d, 1 H, $J = 7.6$ Hz), 7.08-7.07 (m, 1 H), 1.396-1.385 (m, 12H).

Intermedio B-5

60

7-Metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

Etapa 1

65

Preparación of 4-bromo-3-metil-2-nitro-fenol:

A una solución de 3-metil-2-nitro-fenol (20 g, 0.13 mol) en CHCl_3 (20 mL) se añadió una solución de Br_2 (6.4 mL) en HOAc (15 mL) por goteo a 0°C y la mezcla se agitó a 0°C por 3h. Se añadió hielo y la mezcla se extrajo con CHCl_3 . Después del secado sobre Na_2SO_4 , CHCl_3 se eliminó para dar 4-bromo-3-metil-2-nitro-fenol (30 g) que se usó sin purificación adicional.

5

Etapa 2

Preparación de 1-bromo-4-metoxi-2-metil-3-nitro-benceno:

10 A una solución de 4-bromo-3-metil-2-nitro-fenol (30 g, 0.13 mol) en acetona (200 mL) se añadió K_2CO_3 (39 g, 0.28 mol) y yodometano (17.6 mL, 0.28 mol). La mezcla se agitó por 18 hrs y después se concentró, se diluyó con agua y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró para dar 1-bromo-4-metoxi-2-metil-3-nitro-benceno (31 g, 96%) que se usó sin purificación adicional.

15 Etapa 3

Preparación de 4-bromo-7-metoxiindol:

20 A una solución de 1-bromo-4-metoxi-2-metil-3-nitro-benceno (31 g, 0.126 mol) en DMF (150 mL) se añadió dimetilformamida dimetilacetal (27 mL) y pirrolidina (10.5 mL, 0.127 mol). La mezcla se calentó a 90°C por 18h y se enfrió a t.a. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El residuo se disolvió en HOAc (50 mL) y se añadió por goteo a una solución de Fe (20.5 g, 0.37 mol) en HOAc hirviendo (150 mL). La mezcla se puso a reflujo durante 1h y se enfrió a t.a., se añadió agua y la mezcla se neutralizó con Na_2CO_3 , y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El residuo se purificó por Prep-TLC (PE/EtOAc = 5/1) para dar el compuesto del título (13 g, 44%).

25

^1H NMR CDCl_3 400 MHz δ : 8.41 (brs, 1H), 7.18-7.08 (m, 2H), 6.49-6.43 (m, 2H), 3.86 (s, 3H).

Etapa 4

30

Preparación de 7-metoxi-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol:

35 A una solución de 4-bromo-7-metoxiindol (5g, 22.2 mmol) en 1,4-dioxano (170 mL) se añadieron bis(pinacolato)diboro (6.2 g, 24.4 mmol), KOAc (6.5 g, 66.3 mmol) y $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (1.2 g, 1.7 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante 15 hrs. Después de enfriar, la mezcla se concentró y el residuo se purificó por TLC preparativa (PE/EtOAc = 20/1) para dar el compuesto del título (2.6 g, 43%).

35

^1H NMR CDCl_3 400 MHz δ : 8.38 (brs, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.01 (d, 1H), 6.66 (d, 1H), 3.98 (s, 3H), 1.39 (s, 12H).

40

Intermedio B-6

5,7-Dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

45 Etapa 1

Preparación de 1-bromo-2,4-dimetil-5-nitro-benceno:

50 1-Bromo-2,4-dimetil-benceno (9 g, 48.6 mmol) se añadió a HNO_3 (100 mL, 60%) a t.a. La mezcla se agitó toda la noche a t.a. La mezcla se vertió en agua helada y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se secó después sobre Na_2SO_4 y se concentró para dar 1-bromo-2,4-dimetil-5-nitro-benceno (6.5 g) que se usó en la etapa siguiente sin purificación.

Preparación de 4-bromo-5,7-dimetilindol:

55 A una solución de 1-bromo-2,4-dimetil-5-nitro-benceno (7.5 g, 32.6 mmol) en THF (100 mL) a -78°C se añadió bromuro de vinilmagnesio (110 mL de solución 1.0 M en THF, 1.1 mol) por goteo. La reacción se dejó calentar lentamente a -40°C y después se agitó por 4h. Se añadió agua, y la mezcla de reacción se dejó calentar lentamente a t.a. y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se secó después sobre Na_2SO_4 y se concentró para dar 4-bromo-5,7-dimetilindol (2.3 g) que se usó en la etapa siguiente sin purificación.

60

Preparación de 5,7-Dimetil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol:

65 4-Bromo-5,7-dimetilindol (2.3 g crudo, 7 mmol), bis(pinacolato)diboro (2.54 g, 10 mmol), KOAc (2 g, 20 mmol) y $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (150 mg, 3 % molar) se suspendieron en DME seco (30 mL) en cinco tubos de vidrio de 50 mL que se sellaron bien con una tapa de aluminio/Teflón. Las muestras se irradiaron a 250 W, 130°C por 50 min en un reactor de microondas. Después del completamiento de las reacciones, las mezclas se combinaron, se diluyeron con agua y se

ES 2 560 260 T3

extrajeron con EtOAc. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se eliminó por evaporación. HPLC preparativa proporcionó el compuesto del título (0.37 g, 15%).

¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ 7.97 (s, 1 H), 7.19 (s, 1 H), 7.00 (s, 1 H), 6.85 (s, 1H), 2.61 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 1.40 (s, 12H)

Intermedio B-7

7-Fluoro-5-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

Etapa 1

Preparación de 1-bromo-4-fluoro-2-metil-5-nitro-benceno:

A una solución de 1-bromo-4-fluoro-2-metil-benceno (20 g, 0.11 mol) en 160 mL H₂SO₄ se añadió KNO₃ (116 g, 0.11 mol) en una porción a 0°C. La mezcla se dejó calentar a t.a. y se agitó toda la noche. La mezcla se vertió en agua helada, se extrajo con EtOAc, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para dar 1-bromo-4-fluoro-2-metil-5-nitrobenceno (20 g) que se usó en la reacción posterior sin purificación.

Etapa 2

Preparación de 4-bromo-7-fluoro-5-metilindol:

A una solución de 1-bromo-4-fluoro-2-metil-5-nitro-benceno (20 g, 0.086 mol) en THF (250 mL) a -78 °C se añadió bromuro de vinilmagnesio (300 ml, 0.3 mol) por goteo, y después la mezcla se agitó a -78 °C por 2h. Se añadió agua y la reacción se dejó calentar lentamente hasta la t.a. La mezcla se extrajo con EtOAc, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar 4-bromo-7-fluoro-5-metilindol (3.2 g, 16.4%).

Etapa 3

Preparación de 7-fluoro-5-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol:

4-Bromo-7-fluoro-5-metilindol (3.2 g, 0.014 mol), bis(pinacolato)diboro (5.08g, 0.02mol), Pd(dppf)Cl₂ (0.1 g) y KOAc (4.1 g, 0.042mol) se suspendieron en DME seco (60mL) en diez tubos de vidrio de 50mL que se sellaron bien con una tapa de aluminio/Teflón. Las muestras se irradiaron a 250W por 2h a 135 °C en un reactor de microondas. Las muestras se enfriaron, se combinaron, se diluyeron con agua y se extrajeron con EtOAc. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se eliminó por evaporación. HPLC preparativa proporcionó el compuesto del título (0.43g, 11%).

¹H NMR (MDOH 400 MHz)

δ: 7.22-7.21 (d, 1 H), 6.87-6.85 (m, 1 H), 6.68-6.65 (d, 1 H), 2.56(s, 3H), 1.39 (s, 12H).

Intermedio B-8

3-Metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

Una mezcla de 3-metil-4-bromoindol (0.79 g, 3.8 mmol), bis(pinacolato)diboro (1.1 g, 4.5 mmol), PdCl₂(dppf)₂ (83 mg, 0.11 mmol) y KOAc (1.1 g, 11.3 mmol) en DMF (10 mL) se purgó bajo atmósfera de N₂ por 10 min, seguido por calentamiento a 80°C durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con agua. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y se lavó con salmuera, y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (0.7 g, 72%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.93 (brs, 1H), 7.57 (d, 1H, J= 6.8 Hz), 7.42 (d, 1H, J= 8 Hz), 7.17 (t, 1 H, J= 7.2 Hz), 7.01 (s, 1 H), 2.48 (s, 3H), 1.40 (s, 12H).

Intermedio B-9

5-Etil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

Etapa 1

Preparación de 6-etil-2-metil-3-nitro-fenilamina

2-Etil-6-metil-fenilamina (21 g, 156 mmol) se disolvió sobre un baño de hielo a 0°C en 175 mL de H₂SO₄ concentrado. 9 mL (171 mmol, 1.1 eq.) HNO₃ concentrado se añadió y la mezcla de reacción se agitó por 1 h a 0°C. La mezcla de

reacción se vertió sobre 1 L de hielo y la solución resultante se extrajo 5 veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre SO_4 y el disolvente se eliminó a presión reducida para producir 19 g (rendimiento 68%) de una mezcla de 6-etil-2-metil-3-nitro-fenilamina y subproducto 6-metil-2-etil-3-nitro-fenilamina. La mezcla se usó en la reacción posterior sin purificación adicional.

5

Etapa 2

Preparación de 2-bromo-1-etil-3-metil-4-nitro-benceno

10 NaNO_2 (7.7 g, 110 mmol) en 15 mL de agua se añadió lentamente a una solución agitada de los productos de la Etapa 1 (19 g, 106 mmol) en 48% de HBr acuoso (35 mL) a 0 °C. CuBr (1.4 g, 10 mmol) en 48% de HBr acuoso (10 mL) se añadió por goteo. Después de agitar por 15 mins, la mezcla se calentó a 90°C por 2 hrs. Después del enfriamiento, la mezcla se diluyó con agua y se extrajo 5 veces con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se concentraron y purificaron por cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EtOAc = 50:1) para producir una mezcla de 2-bromo-1-etil-3-metil-4-nitro-benceno y 2-bromo-3-etil-1-metil-4-nitro-benceno (23 g, rendimiento 95%).

15

Etapa 3

Preparación de 1-[2-(2-bromo-3-etil-6-nitro-fenil)-vinilo]-pirrolidina

20

El producto de la Etapa 2 (13 g, 53 mmol) y pirrolidina (2.3 mL) en DMF/DMA (150 ml) se calentaron a reflujo durante la noche. La mezcla se enfrió y después se concentró para dar el compuesto del título crudo, que se usó directamente en la siguiente etapa.

25

Etapa 4

Preparación de 4-bromo-5-etil-1 H-indol

30

Una solución de 1-[2-(2-bromo-3-etil-6-nitro-fenil)-vinilo]-pirrolidina crudo de la Etapa 3 en 80 mL de AcOH se añadió en una porción a una suspensión en reflujo de hierro (13 g) en 50 mL de AcOH. La mezcla resultante se sometió a reflujo por 2 hrs. Después del enfriamiento, la mezcla se diluyó con agua y se neutralizó con Na_2CO_3 , y se extrajo 3 veces con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna de gel de sílice y HPLC preparativa para dar el compuesto del título (1.5 g, 12% de 6-etil-2-metil-3-nitro-fenilamina).

35

Etapa 5

Preparación de 5-etil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

40

4-Bromo-5-etil-1 H-indol (1.0 g, 4.48 mmol), bis(pinacolato)diboro (2.4 g, 9 mmol), KOAc (1.5 g, 15 mmol) y Pd(dppf) Cl_2 (210 mg, 6 % molar) se suspendieron en dioxano seco (50 mL) y se calentó a 80°C durante la noche. La mezcla se enfrió y se filtró y el filtrado se concentró y purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título (300mg, 25 %).

45

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.90 (brs, 1 H), 7.31~7.25 (m, 1 H), 7.15~7.08 (m, 1 H), 6.98 (d, 1 H, $J = 8.4$ Hz), 6.90~9.85 (m, 1H) 2.92 (q, 2H, $J = 7.6$ Hz), 1.34 (s, 12H), 1.16 (t, 3H, $J = 7.6$ Hz).

Intermedio B-107-Etil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

50

Etapa 1

Preparación de 4-bromo-1-etil-2-nitro-benceno

55

A una solución de 1-bromo-4-etilbenceno (7 g, 37.8 mmol) en 9 mL de H_2SO_4 concentrado a -20 °C se añadió una mezcla de H_2SO_4 (3.74 g, 41.9 mmol) y HNO_3 (2.64 g, 41.9 mmol). La mezcla se agitó a -20 °C por 2h. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con NaHCO_3 acuoso y saladar, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (3 g, 34%).

60

^1H NMR (CDCl_3 400 MHz)

δ : 8.04-8.035 (d, 1H), 7.68-7.65 (m, 1H), 7.29-7.27 (d, 1H), 2.92-2.87 (m, 2H), 1.31-1.28 (t, 3H).

65

Etapa 2

Preparación de 4-bromo-7-etil-1 H-indol

A una solución de 4-bromo-1-etil-2-nitro-benceno (8.7 g, 0.037 mol) en THF a -40°C se añadió bromuro de vinilmagnesio (132 ml, 0.132 mol) por goteo, y la mezcla se agitó a -40°C por otras 2h. La mezcla de reacción se diluyó con agua, se extrajo con EtOAc, se secó sobre SO_2 y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el compuesto del título (1.35 g, 16%).

Etapa 3

Preparación de 7-etil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

4-Bromo-7-etil-1 H-indol (1.35 g, 6.02 mmol), bis(pinacolato)diboro (3.05 g, 12 mmol), KOAc (1.8 g, 18 mmol) y $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (128 mg) se suspendieron en DME seco (100 mL) y se calentaron a 135°C durante la noche. La mezcla se enfrió y se filtró y el filtrado se concentró y purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título (300mg, 25%).

^1H NMR (CDCl_3 400 MHz)

δ : 8.14 (s, 1 H), 7.61-7.60 (d, 1 H), 7.28-7.25 (d, 1 H), 7.08-7.05(m, 2H), 2.92-2.86 (m, 2H), 1.38-1.35 (m, 15H).

Compuesto intermedio B-11

Comercialmente disponible.

Compuesto intermedio B-12

7-Trifluorometil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

Etapa 1

4-Bromo-7-trifluorometilindol

A una solución de 4-bromo-2-nitro-1-trifluorometil-benceno 11.4g, 0.04mol) en 200mL THF se añadió bromuro de vinil magnesio (160mL, 0.16mol) a -78°C y la mezcla se agitó por 1.5 hrs antes de inactivar con una solución saturada de NH_4Cl y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y el disolvente se eliminó al vacío. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (2g, 25%). ^1H NMR (CDCl_3 400 MHz), δ 8.6 (br, 1H), 7.28~7.38 (m, 3H), 6.70 (m, 1H).

Etapa 2

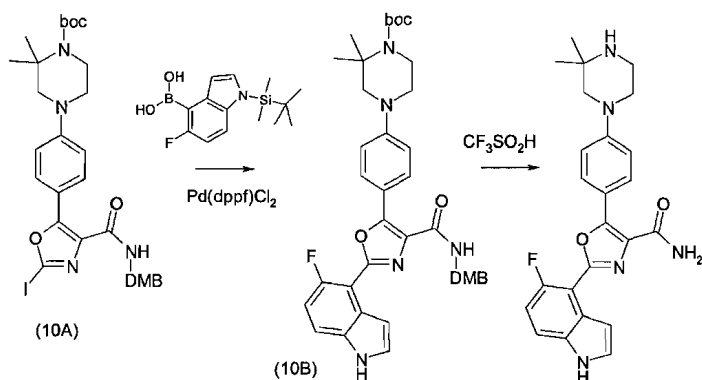
7-Trifluorometil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-1H-indol

Una mezcla de 4-bromo-7-trifluorometilindol (2g, 7.6mmol), bis(pinacolato)diboro (2.5g, 9mmol), KOAc (1g, 0.01mol) y $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (0.2g) en 30 mL de DMSO se calentó a 90°C bajo N_2 durante la noche. El residuo se particionó entre agua y EtOAc. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y el disolvente se eliminó al vacío para dar el producto crudo, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (1g, 41%). ^1H NMR (CDCl_3 400 MHz), δ 8.6 (br, 1H), 7.71 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 7.47 (d, $J = 7.6\text{Hz}$, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.17 (m, 1H), 1.42 (s, 12H)

Preparación de compuestos de la Fórmula (1)

EJEMPLO 1

Amida del ácido 2-(5-Fluoro-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico



Etapa 1

5 A una mezcla del intermedio (10A) (200 mg, 0.3 mmol) en 4 mL de dioxano, 1 mL de acetonitrilo y 1 mL de agua se añadió el intermedio B1 (161 mg, 0.55 mmol), K_2CO_3 (80 mg, 0.6 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (36.5 mg, 0.05 mmol). La mezcla se calentó a $90^\circ C$ bajo N_2 por 16 horas. El disolvente se eliminó *al vacío* y el residuo se purificó por TLC preparativa (PE : EtOAc = 1: 1) para proporcionar el producto deseado 13 (120 mg, 60%).

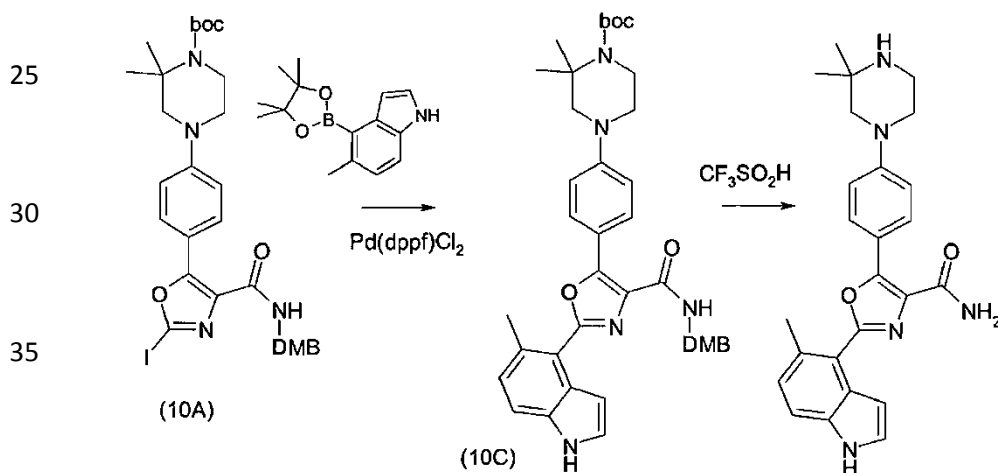
Etapa 2

10 A una solución de 13 (120 mg, 0.18 mmol) en 3 mL CH_2Cl_2 se añadió 1 mL de ácido triflico y la mezcla se agitó por 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla se añadió después lentamente a $NaHCO_3$ saturado acuoso con agitación, se extrajo con EtOAc dos veces. Las fases orgánicas combinadas se concentraron al vacío. El residuo se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el compuesto del título (18 mg, 23%) como un sólido blanquecino.

15 (18mg, rendimiento de 10: 14%, M+1: 434) 1H NMR (400MHz DMSO- d_6) δ 11.55 (s, 1H), 8.19 (m, 2H), 7.51~7.67 (m, 4H), 7.32 (s, 2H), 7.11 (t, 1H), 6.98 (d, J= 8 Hz, 2H), 3.15 (m, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.83 (m, 2H), 1.08 (s, 6H).

EJEMPLO 2

20 Amida del ácido 2-(5-Metil-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico



Etapa 1

45 A una solución del Intermedio (10A) (1.9 g, 2.8 mmol) en 40 mL de dioxano, 10 mL de acetonitrilo y 10 mL de agua se añadió éster de ácido borónico Intermedio B2 (1 g, 3.9 mmol), K_2CO_3 (0.7 g, 5.1 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2$ (0.5 g, 0.68 mmol). La mezcla se calentó a $90^\circ C$ por 6 hrs bajo N_2 . El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el compuesto 11 (1.32 g, rendimiento: 70 %).

Etapa 2

50 A una solución del compuesto 11 (1.32 g, 0.2 mmol) en 20 mL CH_2Cl_2 se añadieron 5 mL ácido triflico. La mezcla se agitó a $60^\circ C$ durante 6 hrs. La mixture se añadió lentamente a $NaHCO_3$ ac. bajo agitación, y se extrajo con EtOAc dos veces. Las fases orgánicas combinadas se concentraron al vacío. El producto crudo se purificó por HPLC preparativa mediante el uso del sistema descrito más abajo para dar el compuesto del título (360 mg, 42%) como un sólido amarillento.

55 (22 mg, rendimiento de 10: 17%, M+1: 430) 1H NMR: (400MHz DMSO- d_6) δ 11.3 (s, 1H), 8.22 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 7.46~7.60 (m, 4H), 7.1 (d, J= 8.0 Hz, 1 H), 7.00~7.04 (m, 3H)" 3.15 (m, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.85 (m, 2H), 2.74 (s, 3H), 1.09 (s, 6H).

60 Método de separación HPLC preparativa para SRUM-3:

Instrumento: Shimadzu LC-8A HPLC preparativa
 Columna: Gemini 250*50mm i.d. 10u
 Fase Móvil: A: H2O (0.04% $NH_3 \cdot H_2O$) B: CH_3CN
 Gradiente: 25%-50% (fase B) en 23 minutos
 Régimen de flujo: 80ml/min

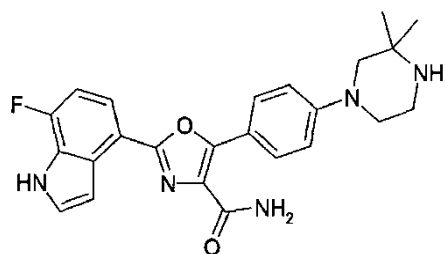
65

Longitud de onda: 220 y 254nm

EJEMPLO 3

5 Amida del ácido 2-(7-Fluoro-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico

10



15

Preparado por el método del Ejemplo 2 usando el éster de ácido borónico Compuesto Intermedio B3.

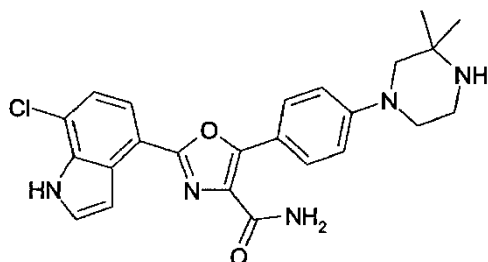
20 (20 mg, rendimiento de 10: 15%, M+1: 434) ¹HNMR: (400MHz DMSO-d6) δ 11.90 (s, 1H), 8.19 (m, 2H), 7.70~7.78 (m, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.06 (q, 1H), 6.96 (d, J= 8 Hz, 2H), 3.15 (t, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.83 (t, 2H), 1.07 (s, 6H).

EJEMPLO 4

25

Amida del ácido 2-(7-cloro-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenilo]-oxazol-4-carboxílico

30



35

40 Preparado por el método del Ejemplo 2 usando el éster de ácido borónico Compuesto Intermedio B4.

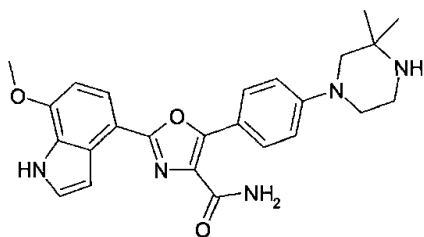
(24 mg, rendimiento de 10: 18%, M+1: 450) ¹HNMR: (400MHz DMSO-d6) δ 11.85 (s, 1H), 8.24 (d, J= 9.2 Hz, 2H), 7.82 (d, J= 8.0 Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.44 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 7.00 (d, J= 9.2 Hz, 2H), 3.16 (t, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.85 (t, 2H), 1.08 (s, 6H).

45

EJEMPLO 5

Amida del ácido 2-(7-metoxi-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico

50



55

60

Preparado por el método del Ejemplo 2 usando el éster de ácido borónico Compuesto Intermedio B5.

(19 mg, rendimiento de 10: 14%, M+1: 446) ¹HNMR: (400MHz DMSO-d6) δ 11.58 (s, 1H), 8.23 (d, J= 9.2 Hz, 2H), 7.79 (d, J= 8.4 Hz, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.42 (t, 1H), 7.28 (t, 1H), 7.00 (d, J= 9.2 Hz, 2H), 6.84 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 3.17~3.14 (m, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.87 (t, 2H), 2.65 (s, 3H), 1.09 (s, 6H).

65

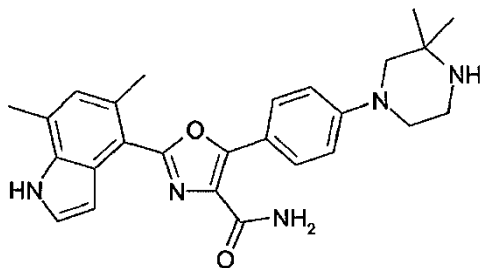
EJEMPLO 6

Amida del ácido 2-(5,7-dimetil-1H-indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenilo]-oxazol-4-carboxílico

5

10

15



Preparado por el método del Ejemplo 2 usando el éster de ácido borónico Compuesto Intermedio B6.

20

(33 mg, rendimiento de 10: 25%, M+1: 444) ¹HNMR: (400MHz DMSO-d6) δ 11.3 (s, 1 H), 8.21 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 7.44~7.56 (m, 3H), 6.91~7.05 (m, 4H), 3.15 (m, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.85 (m, 2H), 2.70 (s, 3H), 1.08 (s, 6H).

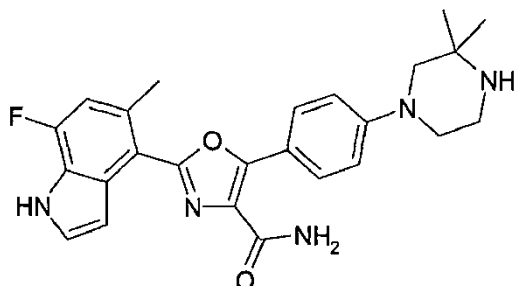
EJEMPLO 7

Amida del ácido 2-(5-metil-7-Fluoro-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetilo-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico

25

30

35



40

Preparado por el método del Ejemplo 2 usando el éster de ácido borónico Compuesto Intermedio B7.

(16 mg, rendimiento de 10: 12%, M+1: 448) ¹HNMR: (400MHz DMSO-d6) δ 8.21 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 7.46~7.60 (m, 3H), 6.9~7.1 (m, 3H), 3.15 (m, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.85 (m, 2H), 2.72 (s, 3H), 1.09 (s, 6H).

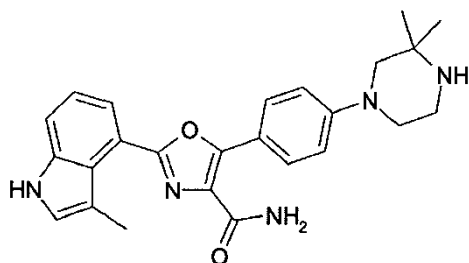
45

EJEMPLO 8

Amida del ácido 2-(3-metil-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico

50

55



60

Preparado por el método del Ejemplo 2 usando el éster de ácido borónico Compuesto Intermedio B8.

65

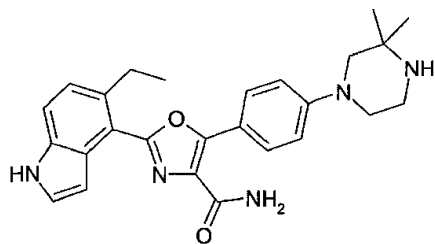
(9.4 mg, rendimiento de 10: 7%, M+1: 430) ¹HNMR: (400MHz DMSO-d6) δ 11.17 (br, 1H), 8.15 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 7.46~7.60 (m, 4H), 7.29 (s, 1 H), 7.16 (t, 1 H), 6.97 (d, J= 8.8 Hz, 2H), 3.15 (m, 2H), 2.99 (s, 2H), 2.85 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.08 (s, 6H).

EJEMPLO 9

Ácido 2-(5-etil-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico amide

5

10



15

Preparado por el método del Ejemplo 2 usando el éster de ácido borónico Compuesto Intermedio B9.

(28 mg, rendimiento de 10: 21%, M+1: 444) ¹HNMR: (400MHz DMSO-d6) δ 11.3 (br, 1H), 8.19 (d, J= 8.6 Hz, 2H), 7.46~7.51 (m, 4H), 6.92~7.12 (m, 4H), 3.15 (m, 2H), 3.08 (q, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.85 (m, 2H), 1.23 (t, 3H), 1.09 (s, 6H).

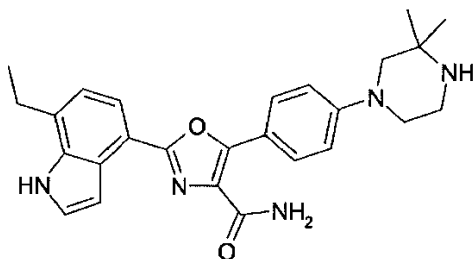
20

EJEMPLO 10

Ácido 2-(7-etil-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico amide

25

30



35

Preparado por el método del Ejemplo 2 usando el éster de ácido borónico Compuesto Intermedio B10.

(32 mg, rendimiento de 10: 24%, M+1: 443) ¹HNMR: (400MHz DMSO-d6) δ 11.4 (br, 1H), 8.23 (d, J= 8.6 Hz, 2H), 6.99~7.79 (m, 8H), 3.15 (m, 2H), 3.01 (s, 2H), 2.94 (q, 2H), 2.85 (m, 2H), 1.29 (t, 3H), 1.09 (s, 6H).

40

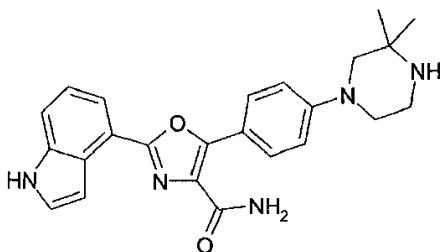
EJEMPLO 11

Amida del ácido 2-(1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico

45

50

55



Preparado por el método del Ejemplo 2 usando el éster de ácido borónico Compuesto Intermedio B11.

(466 mg, 38% rendimiento del compuesto intermedio 10A, M+1: 416) ¹HNMR: (400MHz DMSO-d6) δ 11.48 (s, 1 H), 8.27 (d, 2H), 7.85 (d, 1 H), 7.74 (s, 1 H), 7.61 - 7.53 (m, 3H), 7.33 (s, 1 H), 7.26 (t, 1 H), 7.02 (d, 2H), 3.19 - 3.17 (m, 2H), 3.03 (s, 2H), 2.89 - 2.86 (m, 2H), 1.11 (s, 6H).

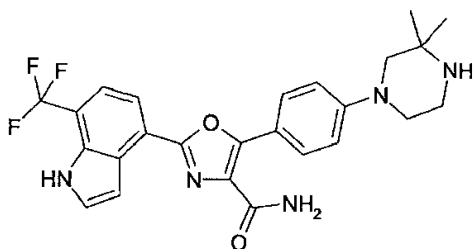
60

EJEMPLO 12

Amida del ácido 2-(7-Trifluorometil-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico

65

5



10

15 El compuesto del título se preparó por la secuencia de reacciones que se muestra en el Esquema 2 general anteriormente.

Etapa 1

20 Etil 5-(4-(4-(terc-butoxicarbonilo)-3,3-dimetilpiperazin-1-il)fenil)-2-yodooxazol-4-carboxilato

El compuesto del título se preparó a partir del Compuesto de etil éster intermedio (15) (ver la Etapa 2 en la Preparación de compuesto intermedio (10A) anteriormente) usando el método de litación / yodación descrito en la Etapa 4 de la misma preparación.

25

Etapa 2

ter-Butil éster del ácido 4-{4-[4-etoxicarbonilo-2-(7-trifluorometil-1H-indol-4-il)-oxazol-5-il]-fenil}-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico

30

Etil 5-(4-(4-(terc-butoxicarbonilo)-3,3-dimetilpiperazin-1-il)fenil)-2-yodooxazol-4-carboxilato reaccionó con éster del ácido borónico intermedio B-12 bajo condiciones de acoplamiento de Suzuki análogas a las descritas en el Ejemplo 2 anterior para dar el compuesto del título.

35

Etapa 3

ter-Butil éster del ácido 4-{4-[4-carboxi-2-(7-trifluorometil-1H-indol-4-il)-oxazol-5-il]-fenil}-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico

40

ter-Butil éster del ácido 4-{4-[4-etoxicarbonilo-2-(7-trifluorometil-1H-indol-4-il)-oxazol-5-il]-fenil}-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico (0.2g, 0.3mmol) y NaOH (0.024g, 0.6mmol) en 5 mL de metanol, agua y THF se agitaron a 50°C durante la noche. El disolvente orgánico se eliminó al vacío, la solución restante se ajustó a pH 5, y el compuesto del título resultante se recogió como un sólido blanco por filtración, y se secó a presión reducida.

45

Etapa 4

ter-Butil éster del ácido 4-{4-[4-carbamoil-2-(7-trifluorometil-1H-indol-4-il)-oxazol-5-il]-fenil}-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico

50

Una mezcla de ter-butil éster del ácido 4-{4-[4-carboxy-2-(7-trifluorometil-1H-indol-4-il)-oxazol-5-il]-fenil}-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico, EDCI HCl (0.36 g, 0.002 mol) y HOBt (0.3 g, 0.002 mol) in 15 mL de DMF y 15 mL de NH₃ en dioxano se agitó por 2 hrs. Los disolventes se eliminaron al vacío. El residuo se particionó entre agua y EtOAc, la fase orgánica se secó sobre SO₂ y el disolvente se eliminó al vacío para dar el producto del compuesto del título crudo (0.18 g crudo).

55

Etapa 5

Amida del ácido 2-(7-Trifluorometil-1H-Indol-4-il)-5-[4-(3,3-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-oxazol-4-carboxílico

60

ter-Butil éster del ácido 4-{4-[4-carbamoil-2-(7-trifluorometil-1H-indol-4-il)-oxazol-5-il]-fenil}-2,2-dimetil-piperazina-1-carboxílico (0.18 g crudo) se disolvió en una mezcla de DCM y TFA (30 mL 2:1), y la solución se agitó a RT por 2hrs, cuando el disolvente se eliminó al vacío. El residuo se particionó entre agua y EtOAc. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se eliminó al vacío para dar el producto crudo que se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título (60mg, 41% a partir de etil 5-(4-(4-(terc-butoxicarbonilo)-3,3-dimetilpiperazin-1-il)fenil)-2-yodooxazol-4-carboxilato).

65

M+1: 484) ¹HNMR: (400MHz DMSO-d6) δ 11.85 (s, 1H), 8.27-8.25 (d, 2H, J = 8 Hz), 7.97-7.95 (d, 1H, J = 8Hz), 7.85 (s, 1 H), 7.66-7.56 (m, 3H), 7.02-7.00 (d, 2H J = 0.8 Hz), 3.19-3.17 (m, 2H), 3.04 (s, 2H), 2.87-2.86(m, 2H), 1.09 (s, 6H).

5 Actividad biológica

EJEMPLO 13

10 Actividad inhibidora de la FLT3 quinasa y Aurora quinasa

La capacidad de los compuestos de la invención para inhibir la FLT3 quinasa y Aurora A y Aurora B quinasa se determinó usando los ensayos descritos más abajo.

15 Los ensayos de quinasa se llevaron a cabo en Reaction Biology Corp., Malvern, Pennsylvania, USA, usando el siguiente procedimiento general:

1) Preparar el sustrato indicado en Tampón de Reacción Base recién preparado (20 mM Hepes pH 7.5, 10 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 0.02% Brij35, 0.02 mg/ml BSA, 0.1 mM Na₃VO₄, 2 mM DTT, 1% DMSO).

2) Suministrar cofactores (1.5mM CaCl₂, 16 ug/mL Calmodulina, 2mM MnCl₂) a la solución del sustrato anterior.

3) Suministrar la quinasa indicada en la solución del sustrato y mezclar suavemente

4) Suministrar concentraciones variables del compuesto de prueba en DMSO en la mezcla de reacción de quinasa.

5) Suministrar ³³P-ATP (actividad específica 0.01 Ci/μL final) en la mezcla de reacción para iniciar la reacción.

6) Incubar la reacción de quinasa por 120 min a temperatura ambiente.

7) Las reacciones se salpican en papel de filtro de intercambio de iones P81 (Whatman # 3698-915)

8) El fosfato no unido se elimina lavando los filtros extensamente en 0.75% de ácido fosfórico.

9) La señal ³³P se determinó usando cámaras de toma de imágenes Typhoon (GE Healthcare). Después de la sustracción del fondo derivado a partir de las reacciones de control que contienen enzima inactiva, los valores IC₅₀ se determinaron usando la función de regresión no lineal en Prism (Graphpad software).

Nombre de la proteína	Símbolo HUGO	Sustrato	Acceso al Banco de genes núm.	Núm de acceso de la proteína	Clon	Expresión	Núm.
Aurora A	AURKA	Kemptide	NP_940839	014965	Longitud completa	Baculovirus en células de insectos Sf21	etiqueta His6 N-terminal
Aurora B	AURKB	Kemptide	NP_004208.2	Q96GD4	Longitud completa	Baculovirus en células de insectos Sf21	etiqueta His6 N-terminal

Sustratos: Kemptide = [H-LRRASLG] Abltide = [EAIYAAPFAKKK]

Las concentraciones de los compuestos de prueba requeridos para inhibir 50% de la actividad de la enzima (IC₅₀) de cada una de las tres quinasa se exponen en la Tabla más abajo. Con propósitos de comparación, los valores de IC₅₀ para el compuesto amida del ácido 2-(1H-Indol-4-il)-5-(4-piperazin-1-il-fenil)-oxazol-4-carboxílico descrito en el Ejemplo M-12 de WO2008/139161 también se muestran.

Compuesto del Ejemplo	Aurora A quinasa IC ₅₀ (μM)	Aurora B quinasa IC ₅₀ (μM)	FLT3 quinasa IC ₅₀ (μM)
M-12	0.075	0.013	0.0016
1	0.01462	0.02433	0.00192
2	0.01357	0.0059	0.00077
3	0.01936	0.00936	0.000821
4	0.03404	0.01387	0.00097
5	0.02053	0.00878	0.00089
6	0.0884	0.01962	0.00137
7	0.04254	0.00593	0.00048
8	0.271	0.0142	0.00055
9	-	-	-
10	0.0743	0.012	0.00067
11	0.04625	0.01521	0.00154
12	0.016	0.014	0.0028

EJEMPLO 14**Actividad anti-proliferativa**

Las actividades antiproliferativas de los compuestos de la invención se determinan midiendo la capacidad de los compuestos para inhibir el crecimiento del cáncer colorrectal derivados de la línea celular HCT-116. La inhibición del crecimiento celular se midió usando el ensayo Alamar Blue (Nociari y otros, Journal of Immunological Methods (1998) 213, 157-167). El método se basa en la capacidad de las células viables para reducir la resazurina a su producto fluorescente resorufina. Para cada ensayo de proliferación, las células se colocaron en placas de 96 pocillos y se dejaron recuperar por 16 horas antes de la adición de los compuestos inhibidores por otras 96 horas. Al final del período de incubación se añadió 10% (v/v) de Alamar Blue y se incubó por otras 6 horas antes de la determinación del producto fluorescente a Excitación 535nm y Emisión 590nm. Todas las líneas celulares se obtuvieron de ECACC (Colección Europea de Cultivos de Células).

Las actividades de los compuestos de la invención contra la línea celular de cáncer colorrectal humano HCT-116 se muestran en la Tabla más abajo. La columna encabezada HCT-116 96 Hrs se refiere a la concentración de compuesto requerida para reducir la proliferación de células HCT-116 en 50% seguido de un periodo de 96h de exposición. La columna encabezada [Poliploides] se refiere a la concentración más baja del compuesto requerida para producir un fenotipo poliploide distinto, que se cree se debe a la inhibición de Aurora B.

Compuesto del Ejemplo	HCT116 96 Hrs IC ₅₀ (μM)	[Poliploide] (μM)
M-12	0.68	1.0
1	0.24	0.3
2	0.074	0.03
3	0.12	0.1
4	0.26	0.3
5	0.087	0.1
6	0.16	0.1
7	0.12	0.1
8	-	-
9	-	-
10	0.22	0.3
11	0.17 (n=5)	0.1
12	-	-

EJEMPLO 15Estudios de permeabilidad usando células Caco-2

La capacidad de un compuesto para ser tomado y retenido por una célula se puede medir mediante la realización de estudios de permeabilidad utilizando células Caco-2. Aunque las células Caco-2 se usan típicamente para predecir la biodisponibilidad oral de un compuesto, las mediciones obtenidas son indicativas además de la capacidad de penetración en la célula de un compuesto.

Por lo tanto, los compuestos de la presente invención se ensayaron en un ensayo estándar de Caco-2 y se determinó la tasa de flujo de los compuestos dentro y fuera de las células. A partir de los resultados, la relación de flujo de salida se calculó como la relación de la tasa de compuesto que sale de la célula a la tasa de compuesto que entra en la célula.

Los resultados se exponen en la siguiente Tabla. En la Tabla, la columna titulada "Caco-2 A2B" indica que la tasa a la cual fluye el compuesto dentro de las células y la columna Caco-2 B2A indica la tasa a la cual fluye el compuesto fuera de las células. La "relación de flujo" es la relación de Caco-2 B2A : Caco-2 A2B.

Los resultados demuestran que la totalidad de los compuestos probados tienen relaciones de flujo más favorables que el compuesto del Ejemplo M-12 de WO2008/139161. En el caso de los compuestos de los Ejemplos 2 a 11, las relaciones de flujo son más de cinco veces mejor que la relación de flujo del compuesto M-12 de la técnica anterior.

Una comparación de los datos para el compuesto M-12 y el compuesto del Ejemplo 11 ilustra que el reemplazo de un grupo CH₂ en el anillo de piperazina con un grupo C(CH₃)₂ mejora considerablemente la relación de flujo.

Compuesto del Ejemplo	Caco2 A2B P_{app} ($\times 10^{-6}$ cms^{-1})	Caco2 B2A P_{app} ($\times 10^{-6}$ cms^{-1})	relación Caco2 Efflux
M-12	1.13	58.3	51.7
1	0.707	22.8	32.2
2	1.98	9.91	4.99
3	1.17	7.76	6.62
4	0.64	2.76	4.32
5	1.36	11	8.05
6	0.514	2.08	4.04
7	0.683	2.26	3.32
8	2.07	9.19	4.45
9	0.519	3.59	6.91
10	0.37	2.35	6.35
11	2.47	12.6	5.09
12	0.036	1.21	33.5

EJEMPLO 16

Actividad contra las líneas celulares de tumor hematológico humano

Los compuestos de los Ejemplos 2 y 7 se probaron contra una serie de líneas celulares de tumor hematológico humano usando el ensayo CellTiter-Blue® (#G8081, Promega) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células se recogieron de cultivos en fase exponencial, se contaron y se sembraron en placas de 96 pocillo de microtitulación de fondo plano a una densidad celular de 20,000 - 90,000 células/pocillo. Después de un período de recuperación de 24 h para permitir que las células reanuden el crecimiento exponencial, se añadieron 10 μl de medio de cultivo (cuatro pocillos de control/placa) o de medio de cultivo con el compuesto de prueba. Los compuestos se aplicaron por duplicado a diez concentraciones y tratamiento continuado por cuatro días. Después del tratamiento de las células, se añadieron 10 μl /cavidad de reactivo CellTiter-Blue®. Tras un período de incubación de hasta cuatro horas, se midió la fluorescencia (FU) mediante el uso del lector EnVision Xcite multilabel (excitación $\lambda = 531$ nm, emisión $\lambda = 615$ nm). Los compuestos se probaron en dos a cuatro experimentos independientes para cada línea celular. Los valores de IC_{50} (micromolar) contra cada línea celular se dan en la Tabla más abajo.

Línea Celular	Subtipo Hematológico	Ejemplo 2	Ejemplo 7
CCRF-CEM	ALL	0.050	0.046
CCRF-CEM/VCR	ALL	0.458	0.239
JURKAT	ALL	0.091	0.093
MOLT-4	ALL	0.048	0.045
HL-60	AML	0.064	0.052
KG-1	AML	0.076	0.137
MV4-11	AML	0.009	0.009
NOMO-1	AML	0.095	0.061
OCI-Aml2	AML	0.103	0.091
PL-21	AML	0.099	0.091
EM-2	CML	0.604	0.493
JURL-MK1	CML	0.141	0.098
K-562	CML	0.326	0.219
KCL-22	CML	0.417	0.366
MEG-01	CML	0.633	0.468
KM-H2	HL	0.189	0.137
HUT-78	NHL	0.138	0.123
Raji	NHL	2.852	1.801
U-937	NHL	0.094	0.155
IM-9	mM	0.07	0.070
L-363	mM	0.121	0.104
LP-1	mM	1.070	1.009
NCI-H929	mM	0.852	1.399
RPMI8226	mM	2.136	1.299
Clave ALL = leucemia linfoblástica aguda AML = Leucemia mieloide aguda CML = leucemia mieloide crónica HL = linfoma de Hodgkin NHL = no linfoma de Hodgkin MM = mieloma múltiple			

EJEMPLO 17

50 Estudios de xenoinjerto

La actividad antitumoral *in vivo* de los compuestos de la invención se investigó al examinar el efecto de los compuestos de los Ejemplos 2 y 7 en el crecimiento del tumor en un modelo de xenoinjerto de ratón desnudo de la línea celular de cáncer MV4-11.

55 Materiales y Métodos

2.1. Animales y reactivos

60 La línea celular MV4-11 (ATCC, USA); el medio RPMI 1640 (Invitrogen, USA); FBS (Invitrogen, Australia); ratón desnudo Balb/c (Slac Laboratory Animal Co., Ltd., Shanghai, China); hembra, 18-22 g; HP-β-CD (Sigma, USA).

2.2. Procedimiento

65 Se usó un total de 52 ratones desnudos hembra. Los ratones se dejaron un período de 3 días de aclimatación antes de iniciar el experimento. A los ratones se les implantó subcutáneamente (s.c.) 200 µl de células tumorales MV4-11 1×10^7

en 50% de Matrigel en el flanco derecho en el comienzo del estudio. Cuando los tumores alcanzaron un volumen promedio de 100-150 mm³, 32 de los 52 ratones se seleccionaron basado en el volumen tumoral, y se asignaron aleatoriamente a 4 grupos antes de la dosificación. Cada grupo de tratamiento consistió de 8 animales portadores de tumor (n=8/grupo).

5

Los ratones portadores de tumor se trataron con el compuesto del Ejemplo 2, el compuesto del Ejemplo 7 o vehículo BID por 5 días, 2 días de descanso, durante 4 ciclos. Un grupo de ratones de comparación se trataron con citarabina una vez al día por 5 días, 2 días de descanso, durante 4 ciclos.

10

Los ratones se pesaron a cada dosificación y los tamaños de los tumores se registraron dos veces cada semana. Los ratones se observaron de cerca en busca de signos evidentes de efectos secundarios adversos relacionados con el tratamiento y éstos se registraron si y cuando se observaron.

15

El tamaño del tumor se midió dos veces por semana en dos dimensiones usando calibradores, y el volumen se expresa en mm³ usando la fórmula: $V = 0.5 \times a \times b^2$ donde a y b fueron los diámetros del tumor largo y corto, respectivamente.

20

Las formulaciones de prueba se prepararon una vez por semana mediante el pesado de una cantidad apropiada del compuesto de prueba en un frasco, añadiendo un volumen adecuado de 20% de HP-β-CD para lograr una concentración final de 2 mg/mL por ejemplo 2 y 3 mg/mL, por ejemplo 7 (base libre), ajustando el pH a pH 5, con vórtex del vial durante 5 minutos y luego colocando el vial en un baño de ultrasonidos para asegurar que la formulación de prueba era clara.

El diseño experimental se resume en la siguiente Tabla.

25

Grupo de prueba	núm./sexo del ratón	Tratamiento					
		Compuesto de prueba	Dosis (mg/kg)	Conc. (mg/ml)	Volumen de dosis (mL/kg)	Vehículo	Ruta
1	10 hembras	Ninguno	N/A	N/A	10	20% HP-β-CD	IV
2	10 hembras	Ejemplo 2	20	2	10	20% HP-β-CD	IV
3	10 hembras	Ejemplo 7	30	3	10	20% HP-β-CD	IV
4	10 hembras	Citarabina	100	10	10	Solución Salina	IP
Almacenamiento del compuesto de prueba : Desecado a 4°C				Comentarios: N/A			
Ayuno nocturno de los animales: No				Regreso de alimentos: libremente			

40

2.3. Punto final experimental:

Los ratones fueron sacrificados por exposición a CO₂ después de 4-ciclos de dosis. El volumen del tumor, el peso de los tumores diseccionados, y del peso corporal del ratón fueron medidos y registrados. La tasa de inhibición tumoral (IR) se calculó por la fórmula $IR = (W_V - W_T)/W_V \times 100\%$.

45

Se analizaron las diferencias en el tamaño del tumor entre los grupos para la significación mediante la prueba t de Student no apareada de dos colas. P < 0.05 fue considerado como estadísticamente significativo.

50

3. Resultados y Discusión

3.1. Volúmenes tumorales de ratones desnudos portadores de MV4-11

Las Figuras 1 a 3 muestran la inhibición del crecimiento de los compuestos de los Ejemplos 2 y 7 contra tumores de xenoinjerto MV4-11 en ratones desnudos. Se observó una diferencia significativa en el volumen tumoral entre los tumores en los ratones que recibieron los compuestos de prueba y los ratones que recibieron sólo el vehículo, comenzando el día 4 (la primera medición) después de la primera administración de los compuestos y persistiendo hasta el final. También se observó una diferencia significativa en el volumen tumoral entre los tumores en los ratones que recibieron los compuestos de prueba (Ejemplos 2 y 7) y el grupo de tratamiento con citarabina, comenzando el día 11 después de la primera administración, y persistiendo después de eso. La Figura 1 también muestra que tanto el Ejemplo 2 y Ejemplo 7 inhibió completamente el crecimiento del tumor, mientras que la citarabina ralentizó pero no bloqueó completamente el crecimiento del tumor.

60

3.2. Los pesos del tumor de ratones desnudos portadores de MV4-11

65

El efecto de inhibición del tumor de los compuestos de los Ejemplos 2 y 7 contra el crecimiento del tumor de xenoinjerto

MV4-11 se confirmó además por la diferencia significativa en los pesos del tumor entre los grupos de tratamiento y vehículo (Figure 4) tomada en el punto final al sacrificar los ratones desnudos portadores de tumores.

3.3. Cambio de peso corporal (%) de ratones desnudos portadores de MV4-11

La Figura 5 muestra el cambio de peso corporal (%) durante todo el período de estudio. Todos los ratones tratados perdieron alrededor del 5% de su peso corporal durante los primeros días y luego se recuperaron, lo que indica que los compuestos de prueba fueron bien tolerados en dosis actuales y rutas de dosificación en ratones desnudos.

3.4. Cálculo de la tasa de inhibición tumoral (IR)

Compuesto del Ejemplo 2 - grupo de 20 mg/kg: IR = 98.13%

Compuesto del Ejemplo 7 - grupo de 30 mg/kg: IR = 98.24%

Citarabina - grupo de 100 mg/kg: IR = 66.72%

4. Conclusiones

Los efectos de los compuestos del Ejemplo 2 y el Ejemplo 7 sobre el crecimiento tumoral en modelos de xenoinjerto de ratón desnudo de la línea celular de cáncer MV4-11 fueron investigados en este estudio. Los pesos corporales de los ratones desnudos portadores de MV4-11 se controlaron como un índice para reflejar la toxicidad *in vivo*. Las diferencias en los volúmenes tumorales entre el compuesto de prueba (Ejemplos 2 y 7) los grupos de tratamiento y el grupo control con vehículo así como también el grupo de comparación con citarabina fueron significativos. En este estudio, tanto el Ejemplo 2 y Ejemplo 7 inhibieron completamente el crecimiento del tumor, mientras que la citarabina ralentizó pero no bloqueó completamente el crecimiento del tumor. Las diferencias significativas en los pesos tumorales entre los grupos de tratamiento y vehículo confirmaron aún más el efecto antitumoral. Los valores IR para el grupo del Ejemplo 2, el grupo del Ejemplo 7 y el grupo de citarabina fueron 98.13%, 98.24%, y 66.72%, respectivamente.

Los perfiles de la fluctuación del peso corporal revelaron que los ratones que recibieron los compuestos de prueba perdieron peso corporal durante los primeros pocos días pero luego recuperaron sus pesos lo que indica, por lo tanto, que los compuestos de prueba fueron bien tolerados a las dosis actuales y las rutas de dosificación en ratones desnudos. En conclusión, el compuesto del Ejemplo 2 a una dosis de 20 mg/kg y el compuesto del Ejemplo 7 a una dosis de 30 mg/kg, IV, 2 veces al día fueron inhibidores eficaces del crecimiento tumoral de xenoinjerto MV4-11 sin cualquier toxicidad obvia.

Formulaciones farmacéuticas

EJEMPLO 18

(i) Formulación de tabletas

Una composición de tableta que contiene un compuesto de la Fórmula (1) se prepara mezclando 50mg del compuesto con 197mg de lactosa (BP) como diluyente, y 3mg de estearato magnésico como un lubricante y comprimiéndola para formar una tableta a de manera conocida.

(ii) Formulación de cápsulas

Una formulación de cápsula se prepara mezclando 100mg de un compuesto de la Fórmula (1) con 100mg de lactosa y rellenando la mezcla resultante en cápsulas de gelatina dura estándar opacas.

(iii) Formulación inyectable I

Una composición parenteral para la administración por inyección puede prepararse disolviendo un compuesto de la Fórmula (1) (por ejemplo, en forma de sal) en agua que contiene 10% propilenglicol para dar una concentración del compuesto activo de 1.5 % en peso. La solución se esteriliza después por filtración, se rellena en un ampollita y se sella.

(iv) Formulación inyectable II

Una composición parenteral para inyección se prepara disolviendo en agua un compuesto de la Fórmula (1) (por ejemplo, en forma de sal) (2mg/mL) y manitol (50mg/mL), filtrado estéril de la solución y rellenado en viales o ampollitas sellables de 1 mL.

(iv) Formulación de inyección subcutánea

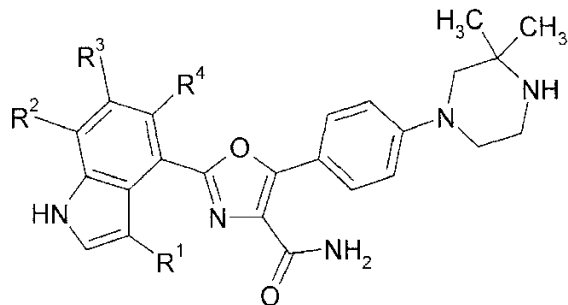
ES 2 560 260 T3

Una composición para administración subcutánea se prepara mezclando un compuesto de la Fórmula (1) con aceite de maíz de grado farmacéutico para dar una concentración de 5mg/mL. La composición se esteriliza y rellena en un contenedor adecuado.

5

Reivindicaciones

1. Un compuesto que tiene la Fórmula (1):



(1)

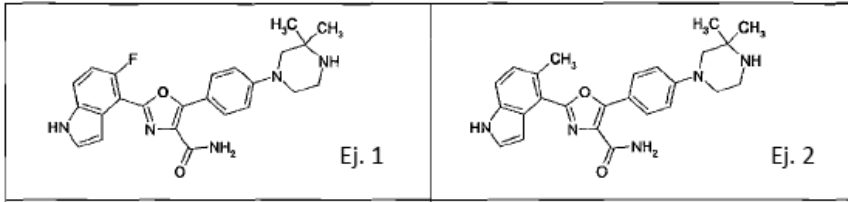
y sales de estos; en donde:

R¹ es hidrógeno o C₁₋₂ alquilo; y

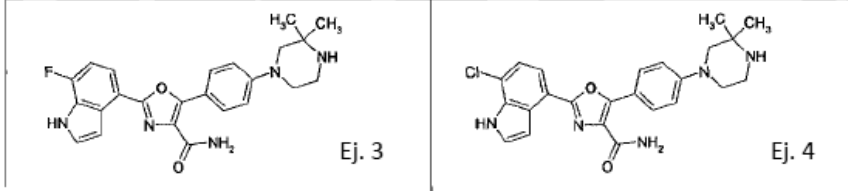
R², R³ y R⁴ son iguales o diferentes y cada uno se selecciona de hidrógeno, C₁₋₂ alquilo, flúor, cloro, C₁₋₂ alcoxi y trifluorometil, siempre y cuando no más de dos de R², R³ y R⁴ son distintos de hidrógeno.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde R¹ es seleccionado de hidrógeno y metilo.
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o reivindicación 2 en donde R² es seleccionado de hidrógeno, flúor, cloro, metilo, etilo y metoxi.
4. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde R³ es hidrógeno.
5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en donde R⁴ es seleccionado de hidrógeno, flúor, metilo y etilo.
6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde (i) R¹ es hidrógeno; R² es seleccionado de metilo, etilo, fluoro, cloro y metoxi; R³ es hidrógeno; y R⁴ es hidrógeno; o (ii) R¹ es hidrógeno; R² es hidrógeno; R³ es hidrógeno; y R⁴ es metilo; o (iii) R¹ es hidrógeno; R² es fluoro; R³ es hidrógeno; y R⁴ es metilo.
7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde R¹ es hidrógeno, R² es seleccionado de hidrógeno y flúor; R³ es hidrógeno y R⁴ es metilo.
8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 7 en donde R² es flúor.
9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es seleccionado de los compuestos del Ej. 1 al Ej. 12 en la Tabla más abajo y sales de estos:

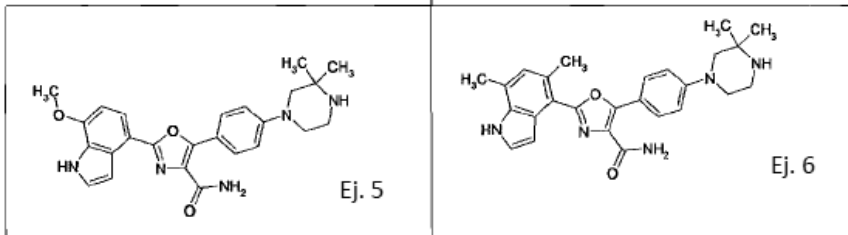
5



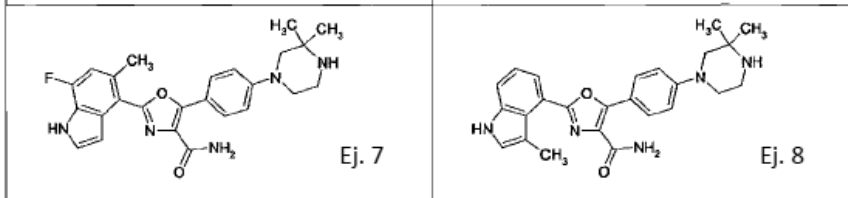
10



15

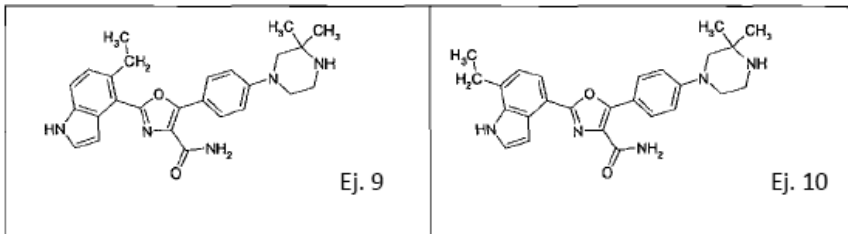


20



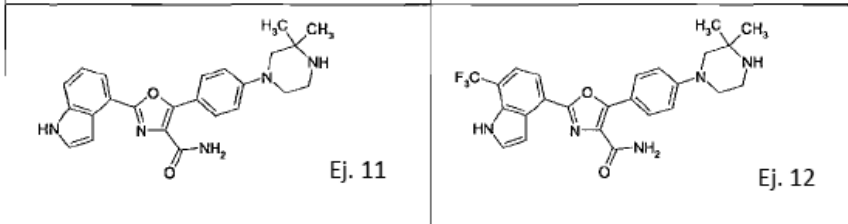
25

30



35

40



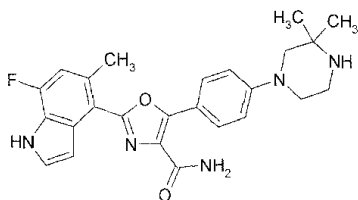
45

50

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 9 que es seleccionado del Ej. 2, Ej. 3, Ej. 5 y Ej. 7 y sales de estos.

55 11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 9 el cual es:

60



65

o una sal de este.

- 5
12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
13. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para usar en medicina.
- 10
14. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para usar en la profilaxis o tratamiento de una enfermedad proliferativa.
- 15
15. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para usar en el tratamiento de cáncer.
16. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para usar en el tratamiento de una enfermedad proliferativa en donde la enfermedad proliferativa es un tumor hematopoyético seleccionado de leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mieloide crónica (CML), linfoma de Hodgkin (HL), no linfoma de Hodgkin (NHL) y mieloma múltiple (MM).
- 20
17. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 15 en donde el cáncer es uno que es susceptible a la inhibición de FLT3 quinasa y es Leucemia mieloide aguda (AML).
18. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 15 en donde el compuesto se usa en combinación con otro agente quimioterapéutico.

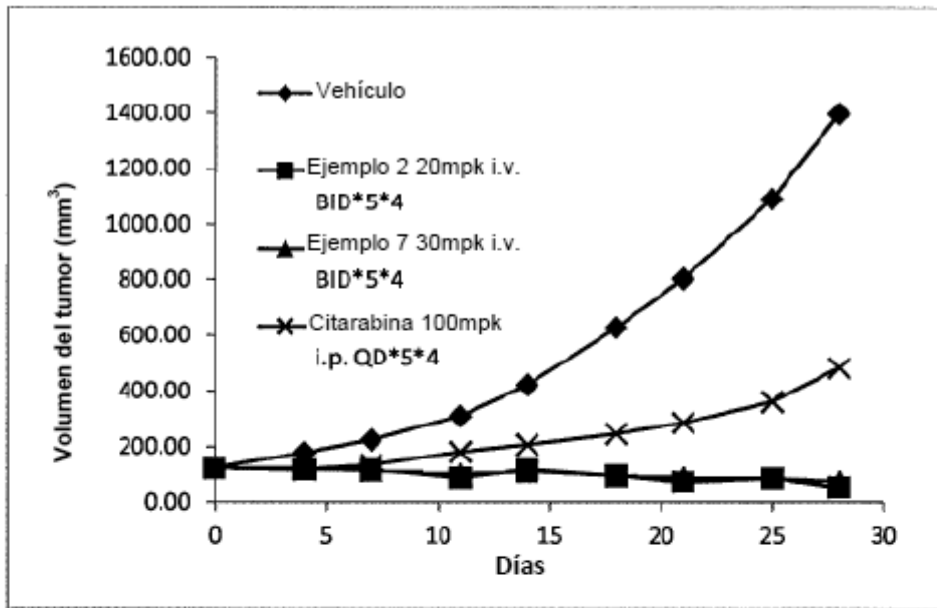


Figura 1

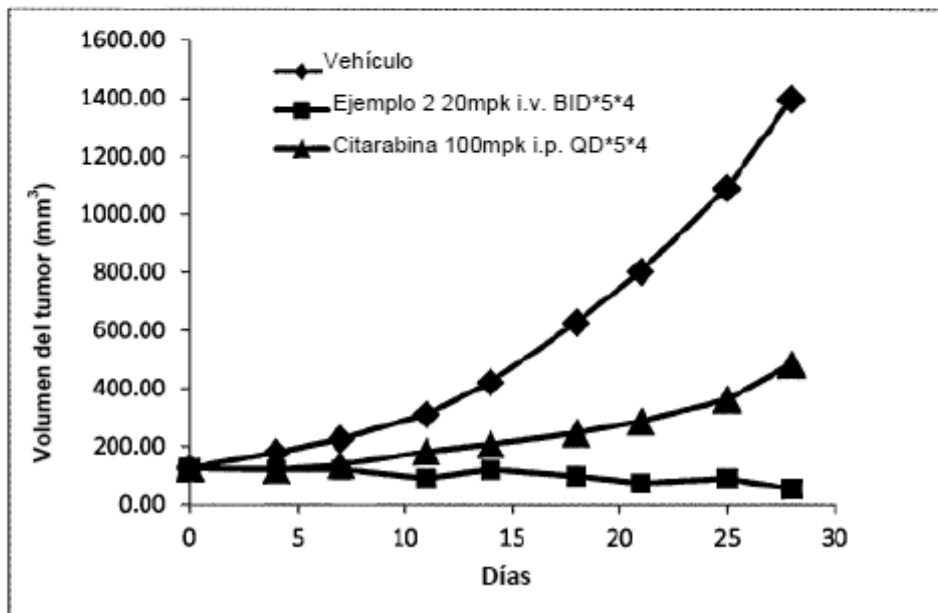


Figura 2

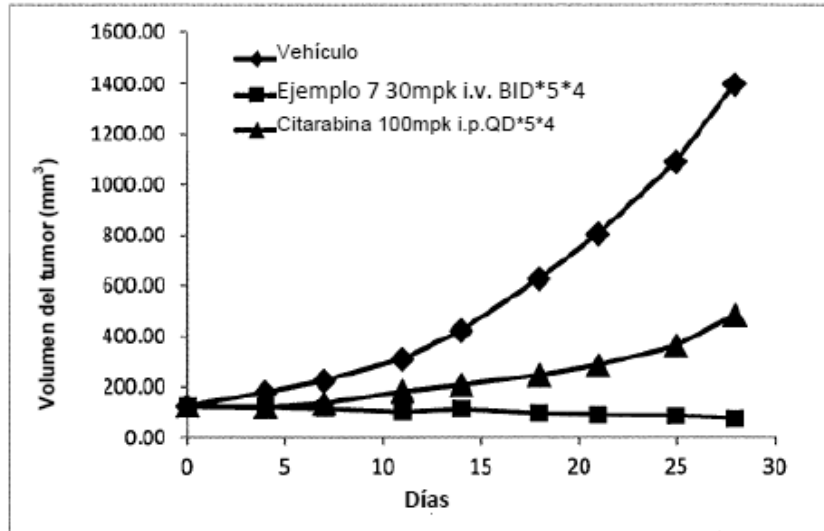


Figura 3

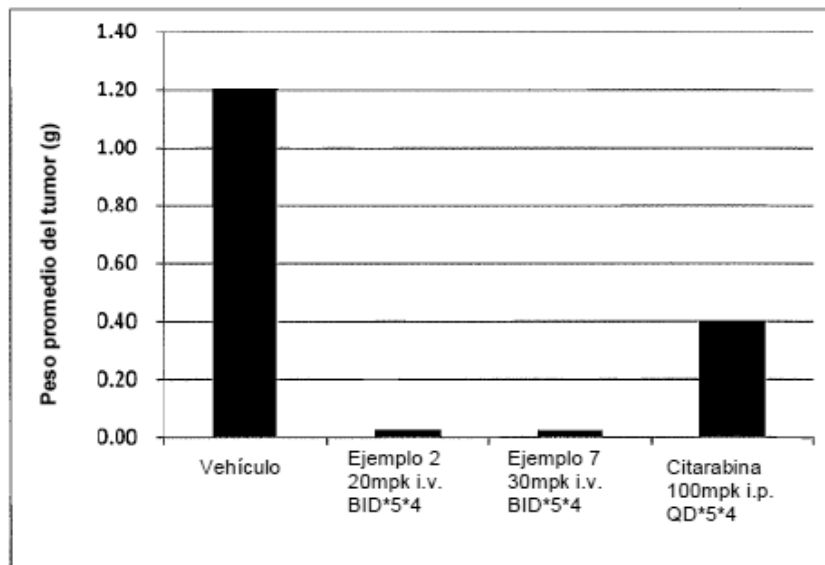


Figura 4

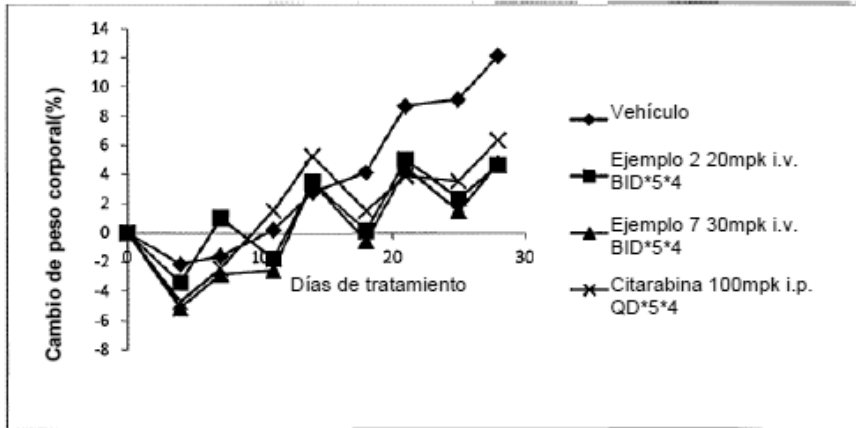


Figura 5