

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 575 522**

51 Int. Cl.:

C07D 251/22 (2006.01) **A61P 19/02** (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
C07D 405/04 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2003 E 10176670 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016 EP 2256108**

54 Título: **Inhibidores de quinasas con triazina sustituida**

30 Prioridad:

18.07.2002 US 396948 P

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

29.06.2016

73 Titular/es:

**JANSSEN PHARMACEUTICA NV (100.0%)
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse, BE**

72 Inventor/es:

**KUO, GEE-HONG;
DEANGELIS, ALAN;
WANG, AIHUA;
ZHANG, YAN;
EMANUEL,, STUART L y
MIDDLETON, STEVE A**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 575 522 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).

Inhibidores de quinasas con triazina sustituida**Descripción****5 CAMPO DE LA INVENCION**

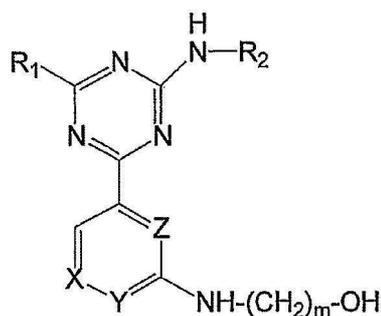
La presente invención proporciona compuestos con triazina sustituida como inhibidores de las quinasas, y revela un procedimiento para el uso de los mismos. Más concretamente, la presente invención proporciona compuestos de 1,3,5-triazina como inhibidores de quinasas para su uso en un procedimiento para tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas, como se enumera en las reivindicaciones

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El ciclo de división celular es uno de los procesos biológicos más fundamentales, que garantiza el control de la proliferación de las células de los organismos multicelulares. En condiciones normales de crecimiento, la proliferación celular está estrictamente regulada como respuesta a diversas señales intracelulares y extracelulares. Esto se consigue mediante una compleja red de proto-oncogenes y genes inhibidores tumorales que forman parte de diversas rutas de transducción de señales. La activación de un proto-oncogén y/o la pérdida de un gen inhibidor menor pueden conducir a la desregularización de la actividad de la maquinaria del ciclo celular. Esto, a su vez, conducirá a la desregularización de la proliferación celular y a la acumulación de errores genéticos que, en última instancia, provocarán el desarrollo de cáncer (Pardee, A. B., *Science*, 1989, 246:603-608). En el ciclo celular eucariota, las quinasas dependientes de la ciclina desempeñan un papel clave. Los complejos de CDK se forman mediante la asociación de una subunidad de ciclina reguladora y una subunidad de quinasa catalítica. En las células de mamífero, la combinación de las subunidades de quinasa (tales como CDK1, CDK2, CDK4 o CDK6) con una variedad de subunidades de ciclina (tales como ciclina A, B, D1, D2, D3 o E) producen el ensamblado de complejos de quinasa distintos funcionalmente. La activación coordinada de estos complejos conduce a las células a través del ciclo celular y garantiza la fidelidad del proceso (Draetta, G., *Trends Biochem. Sci.*, 1990, 15:378-382; Sherr, C. J., *Cell*, 1993, 73:1059-1065). Cada etapa del ciclo celular está regulada por una quinasa dependiente de ciclina diferente y específica. La regulación se produce en los límites de las fases G1/ S y G2/ M, dos puntos de transición principales del ciclo celular. Por ejemplo, los complejos de CDK4 y ciclinas de tipo D dirigen la fase G1 temprana del ciclo celular, mientras que la actividad del complejo de CDK2/ciclina E limita la velocidad para la transición de la fase G1 a S. La quinasa CDK2/ciclina A se requiere para la progresión a través de la fase S y el complejo CDK1/ciclina B controla la entrada en la fase M (Sherr, 1993). Un regulador clave de estas transiciones es la quinasa CDK1, un factor intracelular universal que desencadena la transición de G2/M del ciclo celular en todos los organismos. Pruebas tanto bioquímicas como genéticas han demostrado que CDK1 es la actividad principal necesaria para que una célula entre en la mitosis de todas las células eucariotas. En G2 tardía, está presente como complejo inactivo de CDK1 y ciclina B. En la fase M, se activa y, por tanto, presenta actividad quinasa. Se sabe que CDK1 fosforila una serie de proteínas, entre las que se incluya histona H1, ADN polimerasa alfa, ARN polimerasa II, proteína inhibidora de tumores de retinoblastoma (RB), p53, nucleolina, cAbl y lamina A. La actividad quinasa de CDK1 se requiere para la entrada de las células en mitosis, es decir, para que pasen de la fase G2 del ciclo celular a la fase M (Lee M. y Nurse P., *Trends Genet.*, 1988, 4:289-90; Dunphy W. G., Brizuela L., Beach D. y Newport J., *Cell*, 1988, 54:423-431; Gautier J., Norbury C., Lohka M., Nurse P. y Maller J., *Cell*, 1988, 54:433-439; Cross F., Roberts J. y Weintraub H., *Ann. Rev. Cell Biol.*, 1989, 5:341-395; Hunt, T. y Sherr, C., *Curr. Opinion Cell Biol.*, 1989, 1:268-274; y Nurse, P., *Nature*, 1990, 344:503- 508). Por lo tanto, se cree que el uso de inhibidores de quinasas dependientes de ciclina para la terapia tumoral inhibe el crecimiento tumoral o controla la suprarregulación de la proliferación celular. La solicitud de patente WO 01/25220 describe una serie de triazinas que se unen a ATP o GTP y/o catalizan la transferencia de fosforilo.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (I):

**Fórmula (I)**

en la que:

5 X, Y y Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en CH y N; en la que m es un número entero de 2 a 5; en la que X, Y y Z incluyen al menos un átomo de CH y al menos un átomo de N; y en la que un átomo de N sólo puede ocupar simultáneamente las posiciones X y Z;

R₁ es Hidrógeno; y

10 R₂ se selecciona del grupo que consiste en fenilo (en el que fenilo está sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en un halógeno y un heterociclilo) y 1,4-benzodioxinilo;

y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para su uso en los procedimientos enumerados en las reivindicaciones.

15 Un aspecto de la presente invención es compuestos para su uso en un procedimiento para tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas en un sujeto que lo necesita, procedimiento que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I):

20 Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento para tratar o mejorar un trastorno mediado por una quinasa dependiente de ciclina (CDK), una glucógeno sintasa quinasa (GSK), un receptor quinasa del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF-R) o un receptor quinasa del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER-2). Las expresiones "quinasa dependiente de ciclina" y "glucógeno sintasa quinasa" incluyen además los subtipos de estas enzimas.

25 También se divulga un procedimiento para producir los compuestos instantáneos y las composiciones farmacéuticas y medicamentos de los mismos.

La invención se define en las reivindicaciones. La divulgación que va más allá del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente por referencia.

30

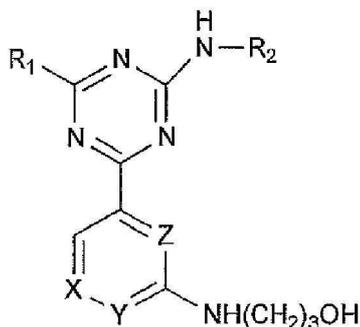
DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

35 Un aspecto de la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) en la que X, Y y Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en CH y N; en la que m es 3; en la que X, Y y Z se seleccionan dependientemente entra al menos un átomo de CH y al menos un átomo de N; en la que un átomo de N sólo puede ocupar simultáneamente las posiciones X y Z; en la que el anillo heteroarilo así formado se selecciona del grupo que consiste en piridinilo y pirazinilo; en la que piridinilo está unido al anillo de triazina en la posición 3 ó 4 del anillo de piridina; y en la que pirazinilo está unido al anillo de triazina en la posición 6 del anillo de pirazina.

40 Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos de Fórmula (I) en la que R₂ se selecciona del grupo que consiste en fenilo (en el que fenilo está sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en cloro, 4-morfolinilo) y 1,4-benzodioxinilo.

Los compuestos ejemplificados de la presente invención incluyen un compuesto de Fórmula (Ia):

45



50

55

Formula (Ia)

60 en la que X, Y, Z, R₁ y R₂ se seleccionan dependientemente según la tabla proporcionada a continuación: (*= sólo para información)

65

Comp.	X	Y	Z	R ₁	R ₂
1*	N	CH	CH	H	3-Cl-Ph;
2*	CH	N	CH	H	3-Cl-Ph;
3 *	N	CH	N	H	3-Cl-Ph;
4	CH	N	CH	NH ₂	3-Cl-Ph;
5*	N	CH	CH	H	2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-ilo; o
6*	N	CH	CH	H	4-(4-morfolinil)Ph.

5
10 Los compuestos de la presente invención también pueden estar presentes en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Para su uso en medicina, las sales de los compuestos de la presente invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas (Ref. *International J. Pharm*, 1986, 33, 201-217; *J. Pharm. Sci.*, 1997 (enero), 66, 1, 1). No obstante, hay otras sales que pueden ser útiles en la preparación de los compuestos según la presente invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Los ácidos orgánicos o inorgánicos representativos incluyen, pero sin limitación, ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, perclórico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, acético, propiónico, glicólico, láctico, succínico, maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, benzoico, mandélico, metanosulfónico, hidroxietanosulfónico, bencenosulfónico, oxálico, pamoico, 2-naftalenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclohexanosulfámico, salicílico, sacarínico o trifluoroacético. Las bases orgánicas o inorgánicas representativas incluyen, pero sin limitación, sales básicas o catiónicas tales como benzatina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina, procaína, aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y cinc.

15
20 La presente divulgación incluye dentro de su alcance profármacos de los compuestos de la presente invención. En general, se considera que dichos profármacos son derivados funcionales de los compuestos para los fines de la presente divulgación y que se pueden convertir fácilmente *in vivo* en el compuesto requerido. Así pues, en los procedimientos de tratamiento de la presente divulgación, el término "administrar" abarcará el tratamiento de los diversos trastornos descritos con el compuesto descrito específicamente o con un compuesto que puede no estar descrito específicamente, pero que se convierte en el compuesto especificado *in vivo* tras su administración al sujeto. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de derivados profarmacológicos adecuados se describen, por ejemplo, en "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

25
30 A menos que se especifique lo contrario, el término "alquilo" se refiere a una cadena saturada lineal o ramificada que consiste únicamente en 1-8 átomos de carbono sustituidos con hidrógeno, 1-6 átomos de carbono sustituidos con hidrógeno o 1-4 átomos de carbono sustituidos con hidrógeno.

35 El término "heterociclilo" se refiere a un anillo saturado o parcialmente insaturado que tiene cinco miembros de los cuales al menos un miembro es un átomo de N, O o S y que contiene opcionalmente un átomo de O adicional o uno, dos o tres átomos de N adicionales; un anillo saturado o parcialmente insaturado que tiene seis miembros de los cuales uno, dos o tres miembros son un átomo de N; un anillo bicíclico saturado o parcialmente insaturado que tiene nueve miembros de los cuales al menos un miembro es un átomo de N, O o S y que contiene opcionalmente uno, dos o tres átomos de N adicionales; o un anillo bicíclico saturado o parcialmente insaturado que tiene diez miembros de los cuales los miembros de uno, dos o tres son un átomo de N. Los ejemplos incluyen, sin limitación, pirrolinilo, pirrolidinilo, dioxolanilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, piperidinilo, morfolinilo o piperazinilo.

40
45 El término "heteroarilo" se refiere a un sistema de anillos monocíclicos aromáticos que contiene cinco miembros de los cuales al menos un miembro es un átomo de N, O o S y que contiene opcionalmente uno, dos o tres átomos de N adicionales; un anillo monocíclico aromático que tiene seis miembros de los cuales uno, dos o tres miembros son un átomo de N; un anillo bicíclico aromático que tiene nueve miembros de los cuales al menos un miembro es un átomo de N, O o S y que contiene opcionalmente uno, dos o tres átomos de N adicionales; o un anillo bicíclico aromático que tiene diez miembros de los cuales uno, dos o tres miembros son un átomo de N. Los ejemplos incluyen, sin limitación, furilo, tienilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolilo, indazolilo, quinolinilo o isoquinolinilo.

50 El término "halo" o "halógeno" se refiere a un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

55 "Independientemente" significa que cuando un grupo está sustituido con más de un sustituyente, los sustituyentes pueden ser iguales o diferentes. "Dependientemente" significa que los sustituyentes se especifican en una combinación indicada de variables estructurales.

60 Un aspecto de la invención es una composición o un medicamento que comprende un vehículo farmacéuticamente apropiado y cualquiera de los compuestos de la presente invención. Un ejemplo de la invención es una composición o un medicamento fabricado mezclando uno de los presentes compuestos y un vehículo farmacéuticamente apropiado. Otra ilustración de la invención es un procedimiento para preparar una composición o un medicamento que comprende mezclar cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un vehículo farmacéuticamente apropiado. Otros ejemplos de la presente invención son composiciones o medicamentos que comprenden uno o más compuestos de la presente invención en asociación con un vehículo farmacéuticamente apropiado.

5 Como se usa en la presente memoria, el término "composición" pretende englobar un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de combinaciones de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas para tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas o para uso como un medicamento.

10 Los compuestos de la presente invención son inhibidores de quinasas útiles en un procedimiento para tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas. En un aspecto de la invención, la quinasa se selecciona entre una quinasa dependiente de ciclina o un subtipo de la misma, una glucógeno sintasa quinasa o un subtipo de la misma, un receptor quinasa del factor de crecimiento endotelial vascular o un receptor quinasa 2 del factor de crecimiento epidérmico humano. Los presentes compuestos son útiles en la inhibición de una serie de proteínas que tienen actividad quinasa. La quinasa dependiente de ciclina y la glucógeno sintasa quinasa como se usan en la presente invención son expresiones que se refieren a una pluralidad de enzimas, cada una con similares especificidades por sustratos enzimáticos o similares sitios activos dentro de la molécula enzimática. Por lo tanto, las enzimas engloban la totalidad de sus subtipos, es decir, aquellas otras moléculas que tienen similares especificidades por sustratos enzimáticos o similares sitios activos dentro de la molécula enzimática.

20 En otro aspecto de la invención, la quinasa se selecciona entre una quinasa dependiente de ciclina o un subtipo de la misma, una glucógeno sintasa quinasa o un subtipo de la misma o un receptor quinasa del factor de crecimiento endotelial vascular. En otro aspecto más de la invención, el subtipo de la quinasa dependiente de ciclina se selecciona entre la quinasa 1 dependiente de ciclina o la quinasa 2 dependiente de ciclina.

25 Aunque las moléculas de la presente invención son útiles para inhibir la proliferación celular, en particular, para inhibir la proliferación de células tumorales, las moléculas de la presente invención pueden limitar la alopecia inducida por la quimioterapia. Muchas de las terapias citotóxicas contra el cáncer convencionales destruyen el epitelio del folículo piloso de rápida división y provocan alopecia (pérdida del cabello). La inhibición de las quinasas dependientes de ciclina durante la quimioterapia convencional puede representar una estrategia terapéutica para la prevención de la alopecia inducida por la quimioterapia mediante la detención del ciclo celular y la reducción de la sensibilidad de las células epiteliales a los agentes antitumorales (Davis S. T., *et al.*, "Prevention of chemotherapy-induced alopecia in rats by CDK inhibitors", *Science*, 2001, (5 de enero), 291, 5501, 25-6). Por consiguiente, para ser útil en un procedimiento para la prevención de la alopecia inducida por la quimioterapia, un inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina preferido es citostático en lugar de citotóxico y, preferentemente, es capaz de mantener la célula en una fase de crecimiento estacionario, protegiendo así a un folículo piloso de la actividad citotóxica de un agente quimioterapéutico convencional que se esté administrando al mismo tiempo. De este modo, la aplicación tópica de inhibidores de CDK no apoptóticos representa un enfoque potencialmente útil para la prevención de la alopecia inducida por la quimioterapia en pacientes con cáncer.

40 Aunque la angioplastia coronaria es un procedimiento muy eficaz usado para reducir la gravedad de la oclusión coronaria, su éxito a largo plazo está limitado por una tasa elevada de restenosis. La activación, migración y proliferación de las células vasculares de músculo liso es, en gran medida, responsable de la restenosis posterior a una angioplastia (Ross, R., *Nature*, 1993, 362, 801-809). Estudios recientes han demostrado que la CDK2 es activada muy pronto tras la denudación endotelial en un modelo de restenosis de arteria carótida de rata (Wei, G. L., *et al.*, *Circ. Res.*, 1997, 80, 418-426). Por lo tanto, se cree que las terapias antiproliferativas dirigidas a quinasas dependientes de ciclina o a otros componentes de la maquinaria del ciclo celular son un enfoque adecuado para tratar estos trastornos. Un aspecto para el uso de los compuestos de la presente invención es un procedimiento para el tratamiento o la mejora de la restenosis en el que la superficie de un balón de angioplastia o stent se impregna de un inhibidor de CDK. La administración del fármaco se dirige, por tanto, al entorno local, en el que la proliferación de células endoteliales y del músculo liso es la principal causa de oclusión vascular después de una angioplastia y de la restenosis resultante en la zona de implantación de un stent (Eric E. Brooks, *et al.*, "CVT-313, a Specific and Potent Inhibitor of CDK2 That Prevents Neointimal Proliferation", *J. Biol. Chem.*, 1997, 272(46):29207-29211).

50 Un trastorno mediado por quinasas incluye un trastorno en el que la actividad anómala de la quinasa dependiente de ciclina (CDK), del receptor quinasa del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF-R), del receptor quinasa 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER-2) o de la glucógeno sintasa quinasa (GSK) produce la proliferación celular descontrolada o no regulada de células neoplásicas, tumorigénicas o no neoplásica que generan el crecimiento de un tumor o cáncer, crecimiento celular anómalo, alopecia, restenosis, oclusión vascular, retinopatía y similares.

60 Por lo tanto, en un aspecto de la presente invención, la invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento profiláctico así como terapéutico para tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas en un sujeto que lo necesite, procedimiento que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) (*supra*) o una composición del mismo.

65 En un aspecto de la invención, la quinasa se selecciona entre una CDK o un subtipo de la misma, una GSK o un subtipo de la misma, una quinasa VEGF-R o una quinasa HER-2. En otro aspecto de la invención, la quinasa se

selecciona entre una CDK o un subtipo de la misma, una GSK o un subtipo de la misma o una quinasa VEGF-R. En un aspecto más de la invención, el subtipo de CDK se selecciona entre CDK-1 o CDK-2. La cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos de Fórmula (I) ejemplificada en dicho procedimiento es preferentemente de aproximadamente 0,001 mg/kg/día a aproximadamente 300 mg/kg/día.

5 El término "profiláctico" se refiere a un procedimiento para la prevención de un trastorno mediado por quinasas en un sujeto que lo necesite que comprende administrar al sujeto una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o una composición del mismo.

10 También se divulga el uso de un compuesto de Fórmula (I) para la preparación de un medicamento para prevenir, tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas en un sujeto en necesidad del mismo.

15 En un aspecto adicional, la invención se refiere a compuestos para su uso en un procedimiento para inhibir el crecimiento de una célula que comprende administrar a la célula una cantidad inhibitoria del crecimiento de un compuesto de Fórmula (I). En una realización, la célula se encuentra en necesidad de regulación del crecimiento y en otra realización, la célula es una célula transformada o una célula cancerosa.

20 Según los procedimientos de la presente divulgación, se puede administrar un compuesto individual de la presente invención o una composición del mismo por separado, en diferentes momentos en el transcurso de la terapia o concurrentemente en formas de combinación divididas o individuales. Cuando se desee una administración profiláctica, la administración puede realizarse antes de la manifestación de los síntomas característicos de una enfermedad o un trastorno asociado con las quinasas de manera que se prevenga o, alternativamente, se retrase la progresión de la enfermedad o del trastorno. Por lo tanto, se entenderá que la presente invención abarca la totalidad de dichos regímenes de tratamiento simultáneo o alterno, y el término "administrar" se ha de interpretar en consecuencia.

25 El término "sujeto" como se usa en la presente memoria, se refiere a un animal, preferentemente, a un mamífero, lo más preferentemente, a un ser humano que haya sido objeto de tratamiento, observación o experimento y esté en riesgo de (o sea susceptible a) desarrollar una enfermedad o un trastorno, o que tenga una enfermedad o un trastorno relacionado con la actividad no regulada de CDK o GSK.

30 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz", como se usa en la presente memoria, significa la cantidad de compuesto activo o de agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o médica (tal como la inhibición de la activación de una CDK o de un subtipo de la misma, una GSK o un subtipo de la misma, una quinasa VEGF-R o una quinasa HER-2) en un sistema tisular, animal o ser humano que esté siendo buscada por un investigador, veterinario, médico u otro profesional de atención sanitaria, que incluye el alivio de los síntomas de la enfermedad o del trastorno objeto de tratamiento.

35 Los inhibidores selectivos de las proteínas quinasas son muy deseables dada la naturaleza ubicua de las proteínas quinasas y sus importantes papeles en varias vías de transducción de señales. A menudo, la hiperactividad de una proteína quinasa dada dará lugar a un cierto conjunto de trastornos y enfermedades. Por lo tanto, los compuestos inhibidores que sean selectivos de una determinada familia de proteínas quinasas, una sola quinasa o una determinada isoforma de una quinasa en relación con otras quinasas son agentes terapéuticos superiores. Dichos compuestos han de demostrar una mayor eficacia y menor toxicidad en virtud de su especificidad. Por consiguiente, el experto en la técnica apreciará que un compuesto de Fórmula (I) es terapéuticamente eficaz para tratar o mejorar ciertos trastornos mediados por una o múltiples quinasas asociados con la hiperactividad de una o más quinasas; en los que la quinasa se selecciona entre una CDK o un subtipo de la misma, una GSK o un subtipo de la misma, una quinasa VEGF-R o una quinasa HER-2 mediante la inhibición de la actividad quinasa. La utilidad de un compuesto de Fórmula (I) como inhibidor de quinasas se puede determinar de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria, y el alcance de dicha utilidad incluye el uso en uno o más trastornos mediados por quinasas.

40 Por lo tanto, la expresión "trastorno mediado por quinasas", como se usa en la presente memoria, incluye, sin limitación, enfermedades y trastornos asociados con la hiperactividad de las quinasas, así como las afecciones que acompañan a dichas enfermedades, en los que la hiperactividad de las quinasas incluye la mitosis celular no regulada, la proliferación celular no regulada y la actividad quinasa sobre regulada. Las enfermedades y los trastornos asociados con la proliferación celular no regulada incluyen cánceres (tales como cánceres de glioma, cánceres de pulmón, cánceres de mama, cánceres colorrectales, cánceres de próstata, cánceres gástricos, cánceres esofágicos, leucemias y linfomas) y patologías asociadas, tales como la proliferación celular anómala, el crecimiento tumoral benigno o neoplásico, la vascularización tumoral, así como la angiopatía, la angiogénesis y la alopecia inducida por la quimioterapia. Las enfermedades y los trastornos asociados con la mitosis celular no regulada, la proliferación celular no regulada y la actividad de la quinasa dependiente de ciclina sobre regulada incluyen la aterosclerosis, vasculopatías inducidas por trasplantes, formación de la neoíntima, fibrosis pulmonar, glomerulonefritis, glomeruloesclerosis, displasia renal multiquística congénita, fibrosis renal, retinopatía diabética, artritis reumatoide y restenosis.

65

La expresión "actividad de la quinasa dependiente de ciclina sobrerregulada" se refiere bien a:

1. expresión de CDK en células que normalmente no expresan CDK;
2. expresión de CDK por células que normalmente no expresan CDK;
3. aumento de la expresión de CDK que conduce a una proliferación celular no deseada; o
4. mutaciones que conducen a la activación constitutiva de CDK.

La existencia de una actividad o un nivel inadecuado o anómalo de CDK se determina mediante procedimientos bien conocidos en la técnica, e incluyen radioinmunoanálisis, ELISA, o los mismos o una variación de los análisis enzimáticos proporcionados infra.

El término "enfermedades y trastornos asociados con la proliferación celular no regulada" se refiere a trastornos en los que tiene lugar la proliferación celular no deseada de uno o más subconjuntos de células de un organismo multicelular haciendo daño (tal como malestar o disminución de la esperanza de vida) al organismo multicelular. Dichos trastornos de proliferación celular puede ocurrir en diferentes tipos de animales y en seres humanos e incluyen, pero sin limitación, cánceres (glioma, de pulmón, de mama, colorrectal, de próstata, gástrico y de esófago, leucemias y linfomas), aterosclerosis, restenosis, psoriasis, papiloma, fibrosis pulmonar, estenosis intrastent, restenosis de injerto vascular, nefritis glomerular, retinopatía diabética y artritis reumatoide.

Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento para inhibir la entrada no regulada de una célula en mitosis, procedimiento que comprende administrar a la célula una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o una composición del mismo para inhibir selectivamente la actividad quinasa en la célula. Como se usa en la presente memoria, el término "selectivamente" significa, por ejemplo, que el compuesto en cuestión es capaz de inhibir, por ejemplo, una o más actividades de quinasa dependiente de ciclina, pero no inhibe sustancialmente otra quinasa tal como una quinasa VEGF-R o similar .

Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento para inhibir la proliferación celular no regulada en un tumor, procedimiento que comprende administrar en el tumor una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o una composición del mismo para inhibir selectivamente la actividad quinasa en el tumor.

Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento para inhibir la actividad de la quinasa dependiente de ciclina en una célula, procedimiento que comprende administrar a la célula una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o una composición del mismo para inhibir selectivamente la actividad de la quinasa dependiente de ciclina en la célula.

Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento para tratar o mejorar la alopecia inducida por la quimioterapia en un sujeto que lo necesite, procedimiento que comprende administrar tópicamente al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o una composición del mismo.

Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento para usar un compuesto de Fórmula (I) o una composición del mismo ventajosamente administrado en una o más de terapias contra la proliferación celular, incluyendo la quimioterapia, terapia de radiación, terapia génica o inmunoterapia para prevenir, tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas. La terapia de combinación puede incluir:

1. la coadministración de un compuesto de Fórmula (I) o una composición del mismo y un agente quimioterapéutico para prevenir, tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas;
2. la administración secuencial de un compuesto de Fórmula (I) o una composición del mismo y un agente quimioterapéutico para prevenir, tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas;
3. la administración de una composición que contiene un compuesto de Fórmula (I) y un agente quimioterapéutico para prevenir, tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas, o
4. la administración simultánea de una composición separada que contiene un compuesto de Fórmula (I) y una composición separada que contiene un agente quimioterapéutico para prevenir, tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas.

Por ejemplo, los compuestos de la presente invención han demostrado ser útiles en terapias de combinación con al menos otro agente quimioterapéutico para el tratamiento de una serie de cánceres diferentes y parecen facilitar ventajosamente el uso de una dosis reducida del agente quimioterapéutico recomendado para un determinado cáncer o trastorno de proliferación celular. Por lo tanto, se contempla que los compuestos de la presente invención se pueden usar en un régimen de tratamiento antes de la administración de un agente quimioterapéutico concreto recomendado para el tratamiento de un cáncer en particular, durante la administración del agente quimioterapéutico o después del tratamiento con un determinado agente quimioterapéutico.

La expresión "agentes quimioterapéuticos" incluye, sin limitación agentes antiangiogénicos, agentes antitumorales,

agentes citotóxicos, inhibidores de la proliferación celular y similares. La expresión "tratar o mejorar" incluye, pero sin limitación, facilitar la erradicación, inhibir la progresión o promover la estasis de un tumor maligno. Por ejemplo, un compuesto inhibidor de la presente invención, que actúe como un agente anti-angiogénico, se puede administrar en una pauta de dosificación con al menos otro compuesto citotóxico tal como un agente alquilante del ADN.

5 Los agentes antitumorales preferidos se seleccionan del grupo que consiste en cladribina (2-cloro-2'-desoxi-(beta)-D-adenosina), clorambucil (ácido 4-(bis(2-cloretil)amino)benzenobutanoico), DTIC-Dome (5-(3,3-dimetil-1-triazeno)-imidazol-4-carboxamida), quimioterapéuticos de platino y agentes quimioterapéuticos sin platino. Los agentes antitumorales que contienen platino incluyen, pero sin limitación, cisplatino (CDDP) (*cis*-diclorodiaminoplatino). Los
 10 agentes antitumorales que no contienen platino incluyen, pero sin limitación, adriamicina (doxorubicina), aminopterina, bleomicina, camptotecina, carminomicina, combretastatina/s, ciclofosfamida, citosina arabinósido, dactinomicina, daunomicina, epirubicina, etopósido (VP-16), 5-fluorouracilo (5FU), herceptin-actinomicina-D, metotrexato, mitomicina C, tamoxifeno, taxol, taxótero, tiotepa, vinblastina, vincristina, vinorelbina, y derivados y profármacos de los mismos. Cada agente antitumoral se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz que
 15 varía en base al agente usado, al tipo de malignidad que se vaya a tratar o mejorar y a otras condiciones según procedimientos ampliamente conocidos en la técnica.

Como los expertos habituales en la técnica entenderán, las dosis apropiadas de los agentes quimioterapéuticos, generalmente, serán aproximadamente iguales a las dosis ya empleadas en las terapias clínicas en las que se
 20 administran los quimioterapéuticos solos o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos. Únicamente a modo de ejemplo, los agentes tales como el cisplatino y otros agentes alquilantes del ADN se usan ampliamente para tratar el cáncer. La dosis eficaz de cisplatino usada en las aplicaciones clínicas es de aproximadamente 20 mg/m² durante 5 días cada tres semanas durante un total de tres sesiones. El cisplatino no se absorbe por vía oral y, por lo tanto, se debe administrar mediante una inyección por vía intravenosa, subcutánea, intratumoral o
 25 intraperitoneal. Otros agentes útiles incluyen compuestos que interfieren en la replicación del ADN, la mitosis y la segregación cromosómica. Dichos agentes quimioterapéuticos incluyen la adriamicina (doxorubicina), etopósido, verapamil o podofilotoxina y similares, y se usan ampliamente en entornos clínicos para el tratamiento de tumores. Estos compuestos se administran a través de inyecciones de bolo por vía intravenosa en dosis que varían de aproximadamente 25 a aproximadamente 75 mg/m² en intervalos de 21 días (para la adriamicina), o de
 30 aproximadamente 35 a aproximadamente 50 mg/m² (para el etopósido) por vía intravenosa o el doble de la dosis intravenosa si la administración es por vía oral. Los agentes que interrumpen la síntesis y la fidelidad de los precursores de polinucleótidos tales como 5-fluorouracilo (5-FU) se usan preferentemente contra los tumores. Aunque es bastante tóxico, el 5-FU se usa comúnmente por vía intravenosa con dosis que varían de
 35 aproximadamente 3 a aproximadamente 15 mg/kg/día.

Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento para administrar un compuesto de la presente invención en combinación con una terapia de radiación. Como se usa en la presente
 40 memoria, "terapia de radiación" se refiere a una terapia que comprende exponer al sujeto que lo necesite a una radiación. Dicha terapia es conocida por los expertos en la técnica. El esquema apropiado de terapia de radiación será similar a los ya empleados en terapias clínicas en las que se usa la terapia de radiación sola o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos.

Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento para administrar un compuesto de la presente invención en combinación con una terapia génica. Como se usa en la presente memoria,
 45 "terapia génica" se refiere a una terapia dirigida a determinados genes implicados en el desarrollo de un tumor. Las posibles estrategias de terapia génica incluyen la restauración de genes inhibidores del cáncer defectuosos, la transducción o la transfección de células con el ADN antisentido correspondiente a los genes que codifican factores de crecimiento y sus receptores, o con los denominados "genes suicidas".

Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento de administración de un compuesto de la presente invención en combinación con una inmunoterapia. Como se usa en la presente memoria,
 50 "inmunoterapia" se refiere a una terapia dirigida a una proteína en concreto que participa en el desarrollo de un tumor a través de anticuerpos específicos de dicha proteína. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales contra el factor de crecimiento endotelial vascular se han usado en el tratamiento de cánceres.

Otro aspecto de la presente invención incluye una composición para su uso como se enumera en las reivindicaciones, que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
 55 en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones contempladas en la presente invención se pueden preparar según técnicas farmacéuticas convencionales. En la composición de la invención, también se puede (aunque no necesariamente) usar un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La composición puede adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración incluyendo, pero sin limitación, la vía intravenosa (tanto en bolo como en infusión), oral, nasal, transdérmica, tópica con o sin oclusión, e intraperitoneal mediante inyección, subcutánea, intramuscular, intratumoral
 60 o parenteral, todas ellas usando formas ampliamente conocidas por los expertos habituales en las técnicas

5 farmacéuticas. La composición puede comprender una unidad de dosificación tal como un comprimido, una píldora, una cápsula, polvo, un gránulo, una solución o suspensión parenteral estéril, un aerosol dosificador o un pulverizado líquido, una gota, una ampolla, un dispositivo autoinyector o un supositorio; para la administración por vía oral, parenteral, intranasal, sublingual o rectal, o por inhalación o insuflación. Las composiciones adecuadas para una administración oral incluyen formas sólidas tales como píldoras, comprimidos, comprimidos oblongos, cápsulas (incluyendo cada una formulaciones de liberación inmediata, liberación controlada y liberación sostenida), gránulos y polvos; y formas líquidas tales como soluciones, jarabes, elixires, emulsiones y suspensiones. Las formas útiles para una administración parenteral incluyen soluciones, emulsiones y suspensiones estériles. Alternativamente, la composición puede presentarse en una forma adecuada para su administración una vez a la semana o una vez al mes; por ejemplo, una sal insoluble del compuesto activo, tal como la sal decanoato, puede adaptarse para proporcionar una preparación de depósito para inyección intramuscular.

15 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y a composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica ni perjudicial cuando se administran a un animal o a un ser humano, según proceda. Los usos veterinarios están igualmente incluidos en la invención y las formulaciones "farmacéuticamente aceptables" incluyen formulaciones para uso tanto clínico como veterinario. En la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, se pueden emplear uno o más de los vehículos farmacéuticos habituales, incluyendo excipientes farmacéuticos necesarios e inertes tales como agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes, jarabe y similares; en el caso de las preparaciones líquidas orales, se pueden emplear vehículos tales como almidones, azúcares, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares.

25 La unidad de dosificación (comprimido, cápsula, polvo, inyección, supositorio, dosificación líquida medida, y similares) que contiene las composiciones farmacéuticas de la presente memoria contendrá una cantidad de ingrediente activo necesaria para administrar una cantidad terapéuticamente eficaz según lo descrito anteriormente. La composición puede contener de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 5.000 mg (preferentemente, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 500 mg) del compuesto activo o profármaco del mismo y puede estar constituida en cualquier forma adecuada para el modo de administración seleccionado para un sujeto que la necesite. Un cantidad terapéuticamente eficaz contemplada puede variar de aproximadamente 0,001 mg a 300 mg/kg de peso corporal al día. Preferentemente, el intervalo es de aproximadamente 0,03 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día. Lo más preferentemente, el intervalo es de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 15 mg/kg de peso corporal al día. Los compuestos se pueden administrar según una pauta de dosificación de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces al día y, aún más preferentemente, de 1,2 ó 3 veces al día.

35 Para la administración oral, las composiciones se proporcionan preferentemente en forma de comprimidos que contienen 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100, 150, 200, 250 y 500 miligramos del ingrediente activo para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente que se vaya a tratar. Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente las dosis óptimas que se administrarán, y variarán en función de factores asociados con el paciente que se esté tratando en particular (edad, peso, dieta y momento de administración), la gravedad de la afección que se esté tratando, el compuesto que se esté empleando, el modo de administración y la fuerza de la preparación. Se puede emplear bien una administración diaria o una dosis post-periódica.

45 Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, se mezcla el ingrediente activo principal con un vehículo farmacéutico, por ejemplo, ingredientes de compresión convencionales tales como almidón de maíz, lactosa, sacarosa, sorbitol, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, fosfato dicálcico o gomas, y otros diluyentes farmacéuticos, por ejemplo, agua, para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, se pretende decir que el ingrediente activo está dispersado uniformemente por toda la composición de manera que la composición puede dividirse fácilmente en formas de dosificación igualmente eficaces tales como comprimidos, píldoras y cápsulas. Esta composición de preformulación sólida se divide a continuación en formas de dosificación unitarias del tipo descrito anteriormente que contienen de 0,001 a aproximadamente 5.000 mg del ingrediente activo de la presente invención. Los comprimidos o las píldoras de la composición pueden revestirse o componerse de otra manera para proporcionar una forma de dosificación que proporcione la ventaja de una acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o la píldora pueden comprender un componente de dosificación interno y de dosificación externo, estando este último en forma de una envoltura sobre el primero. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permite que el componente interno pase intacto al duodeno o que se retrase su liberación. Se puede utilizar una variedad de materiales para dichas capas o recubrimientos entéricos, incluyendo dichos materiales una serie de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, alcohol de acetilo y acetato de celulosa.

65 Para la administración oral en forma de comprimido o cápsula, el componente de fármaco activo puede combinarse opcionalmente con un vehículo inerte farmacéuticamente aceptable no tóxico oral tal como etanol, glicerol, agua y similares. Además, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar a la mezcla agentes

5 aglutinantes adecuados, lubricantes, agentes desintegrantes y agentes colorantes. Los aglutinantes adecuados incluyen, sin limitación, almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, tragacanto u oleato de de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro sódico y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano y similares.

10 Las formas líquidas en las que se puede incorporar el compuesto de fórmula (I) para una administración por vía oral o por inyección incluyen soluciones acuosas, jarabes adecuadamente aromatizados, suspensiones acuosas u oleosas y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares. Los agentes dispersantes o agentes de suspensión adecuados para suspensiones acuosas incluyen gomas sintéticas y naturales tales como tragacanto, acacia, alginato, dextrano, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, polivinilpirrolidona o gelatina. Las formas líquidas en agentes de suspensión o dispersión adecuadamente aromatizados también pueden incluir gomas sintéticas y naturales, por ejemplo, tragacanto, acacia, metilcelulosa y similares. Para la administración parenteral, se desean suspensiones y soluciones estériles. Las preparaciones isotónicas que generalmente contienen conservantes adecuados se emplean cuando se desea una administración intravenosa.

20 Como también se conoce en la técnica, los compuestos se pueden administrar alternativamente por vía parenteral mediante la inyección de una formulación que consiste en el ingrediente activo disuelto en un vehículo líquido inerte. La formulación inyectable puede incluir el ingrediente activo mezclado con un vehículo líquido inerte apropiado. Los vehículos líquidos aceptables incluyen aceites vegetales tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo y similares, así como disolventes orgánicos tales como solcetal, glicerol, formal y similares. Como alternativa, también se pueden usar formulaciones parenterales acuosas. Por ejemplo, los disolventes acuosos aceptables incluyen agua, solución de Ringer y una solución salina acuosa isotónica. Además, habitualmente, en la formulación acuosa, se puede emplear un aceite no volátil estéril como agente disolvente o de suspensión. Las formulaciones se preparan disolviendo o suspendiendo el ingrediente activo en el vehículo líquido de manera que la formulación final contenga del 0,005 al 10% en peso del ingrediente activo. Se pueden emplear adecuadamente otros aditivos, incluyendo un conservante, un isotonzador, un solubilizante, un estabilizante y un agente calmante del dolor.

30 Ventajosamente, los compuestos de Fórmula (I) se pueden administrar en una sola dosis diaria, o la dosis diaria total se puede administrar en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día. Además, los compuestos de la presente invención se pueden administrar en forma intranasal mediante el uso tópico de vehículos intranasales adecuados, o mediante vías transdérmicas, usando las formas de parches transdérmicos para la piel o vehículos de administración transdérmica ampliamente conocidos por los expertos habituales en la técnica. Es evidente que para administrarse en forma de un sistema de administración transdérmica, la administración de la dosis será continua en lugar de intermitente a lo largo de la pauta de dosificación.

40 Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan una forma ventajosa de dosificación unitaria oral, en la que se emplean vehículos farmacéuticos sólidos. Si se desea, los comprimidos pueden ser recubiertos de azúcar o de una cubierta entérica mediante técnicas estándar. Si se desea, los comprimidos pueden ser recubiertos de azúcar o de una cubierta entérica mediante técnicas estándar. Para las preparaciones parenterales, el vehículo comprenderá normalmente agua estéril, aunque se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo, para fines tales como potenciar la solubilidad o por motivos de conservación. También se pueden preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear vehículos líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares.

50 Las composiciones de la presente invención también incluyen una composición para la liberación lenta del compuesto de la invención. La composición incluye un vehículo de liberación lenta (comúnmente, un vehículo polimérico) y un compuesto de la invención. En la preparación de liberación lenta, primero se disuelven o dispersan un vehículo de liberación lenta, comúnmente, un vehículo polimérico, y un compuesto de la invención en un disolvente orgánico. Luego se añade la solución orgánica obtenida a una solución acuosa para obtener una emulsión de aceite en agua. Preferentemente, la solución acuosa incluye uno o varios agentes tensioactivos. Posteriormente, el disolvente orgánico se evapora de la emulsión de aceite en agua para obtener una suspensión coloidal de partículas que contiene el excipiente de liberación lenta y el compuesto de la invención. Los vehículos biodegradables de liberación lenta también son ampliamente conocidos en la técnica. Estos son materiales que pueden formar partículas que capturan en su interior uno o varios compuestos activos y se degradan o disuelven lentamente en un medio adecuado (por ejemplo, acuoso, ácido, básico, etc.), degradándose o disolviéndose así en los fluidos corporales, y liberan el o los compuestos activos en los mismos. Las partículas son preferentemente nanopartículas (es decir, en el intervalo de aproximadamente 1 a 500 nm de diámetro, preferentemente, de aproximadamente 50-200 nm de diámetro, y lo más preferentemente, de aproximadamente 100 nm de diámetro).

65 También se divulgan procedimientos para preparar las composiciones farmacéuticas de la presente invención. Un compuesto de Fórmula (I) como ingrediente activo se mezcla bien con un vehículo farmacéutico según técnicas de composición farmacéutica convencionales, pudiendo adoptar el vehículo una amplia variedad de formas

dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. En la preparación de las composiciones en forma farmacéutica oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales. Para las formas farmacéuticas orales sólidas, los vehículos y aditivos adecuados incluyen almidones, azúcares, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares. Para las preparaciones orales líquidas, los vehículos y aditivos adecuados incluyen agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes y similares. Además, las formas líquidas del componente farmacológico activo se pueden combinar en agentes de suspensión o dispersión adecuadamente aromatizados tales como las gomas sintéticas y naturales, entre las que se incluyen, por ejemplo, tragacanto, acacia, metilcelulosa y similares. Otros agentes de dispersión que se pueden emplear incluyen glicerina y similares.

Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento para tratar o mejorar selectivamente un trastorno relacionado con las CDK, especialmente, un tumor, en un sujeto que lo necesite, procedimiento que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una composición del mismo, conjugado con un agente de direccionamiento y administrado o "sembrado" directa o indirectamente en los tejidos con actividad de quinasa dependiente de ciclina no regulada.

La expresión "administrado o sembrado directa o indirectamente en los tejidos" incluye la conjugación de un compuesto de Fórmula (I) con un agente de direccionamiento que luego dirige el conjugado a su sitio de acción deseado (es decir, a células endoteliales vasculares o células tumorales). La expresión "agente de direccionamiento" incluye el uso de agentes que son anticuerpos y que no son anticuerpos. Debido a la interacción específica entre el agente de direccionamiento y su pareja de unión correspondiente, se puede administrar un compuesto de la presente invención con altas concentraciones locales en o cerca de una zona diana y tratar así el trastorno más eficazmente en la zona diana.

Un agente de direccionamiento de anticuerpo incluye anticuerpos, o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, que se unen a un componente dirigible o accesible de una célula tumoral, vasculatura tumoral o estroma tumoral. El "componente dirigible o accesible" de una célula tumoral, vasculatura tumoral o estroma tumoral es, preferentemente, un componente expresado en la superficie, accesible en la superficie o ubicado en la superficie. Los agentes de direccionamiento de anticuerpo también incluyen anticuerpos, o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, que se unen a un componente intracelular liberado por una célula tumoral necrótica. Preferentemente, dichos anticuerpos son anticuerpos monoclonales, o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, que se unen a uno o varios antígenos intracelulares insolubles presentes en células que pueden ser inducidas a ser permeables, o en fantasmas celulares de sustancialmente todas las células tumorales o normales, pero no están presentes ni son accesibles en el exterior de las células vivas normales de un mamífero.

Como se usa en la presente memoria, el término "anticuerpo" pretende referirse en general a cualquier agente de unión inmunológico tal como IgG, IgM, IgA, IgE, F(ab')₂, a un fragmento univalente tal como Fab', Fab, Dab, así como a anticuerpos diseñados genéticamente tales como anticuerpos recombinantes, anticuerpos humanizados, anticuerpos biespecíficos y similares. El anticuerpo puede ser bien policlonal o monoclonal, aunque se prefiere un anticuerpo monoclonal. Existe una gama muy amplia de anticuerpos conocidos en la técnica que tienen especificidad inmunológica por la superficie celular de prácticamente cualquier tipo de tumor sólido (véase la tabla resumen sobre los anticuerpos monoclonales para tumores sólidos de la patente estadounidense n.º 5.855.866, Thorpe, *et al.*). Los expertos en la técnica conocen procedimientos para producir y aislar anticuerpos para su uso como agentes de direccionamiento contra de los tumores (patente estadounidense n.º 5.855.866, Thorpe) y patente estadounidense n.º 6.342.219 (Thorpe)).

Los agentes de direccionamiento que no son anticuerpos incluyen factores de crecimiento tales como PDGF, VEGF y FGF; péptidos que contienen el tripéptido R-G-D, que se unen específicamente a la vasculatura tumoral; y otros componentes de direccionamiento tales como anexas y ligandos relacionados. Además, también se puede usar una variedad de otras moléculas orgánicas como agentes de direccionamiento hacia los tumores, por ejemplos, los oligosacáridos de hialuronano, que reconocen específicamente la proteína de unión a hialuronano, una proteína de la superficie celular expresada en la migración de células tumorales y de células endoteliales, y en la formación de túbulos de tipo capilar (patente estadounidense n.º 5.902.795 (Toole, *et al.*)) y compuestos polianiónicos, particularmente, compuestos polisulfatados o polisulfonados tales como polisacáridos polianiónicos N- y O-sulfatados, sulfonato de poliestireno y otros compuestos polianiónicos (según lo descrito en la patente estadounidense n.º 5.762.918 (Thorpe)) que se unen selectivamente a las células endoteliales vasculares.

Las técnicas para conjugar un resto terapéutico con anticuerpos son ampliamente conocidas (Amon, *et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy, Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy", Reisfeld, *et al.* (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom, *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery, Controlled Drug Delivery" (II Ed.), Robinson, *et al.* (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review, Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications", Pinchera, *et al.* (eds.), pp. 475-506 (1985)). También se pueden aplicar técnicas similares para unir los compuestos de la invención con agentes de direccionamiento que no son anticuerpos. Los expertos en la técnica conocerán o serán capaces de seleccionar procedimientos de la técnica para la formación de conjugados con agentes de direccionamiento que no son anticuerpos tales como oligopéptidos, polisacáridos u otros compuestos

polianiónicos.

- 5 Aunque se puede usar cualquier resto de unión que sea razonablemente estable en la sangre para ligar el compuesto de la invención con el agente de direccionamiento, se prefieren aquéllos con enlaces biológicamente liberables y/o espaciadores o ligadores escindibles selectivamente. "Enlaces biológicamente liberables" y "espaciadores o ligadores escindibles selectivamente" se refieren a los restos de unión que tienen una estabilidad razonable en la circulación y son liberables, escindibles o hidrolizables única o preferentemente en ciertas condiciones (es decir, en un cierto medio o en contacto con un determinado agente). Dichos enlaces incluyen, por ejemplo, enlaces de tipo disulfuro y trisulfuro, y enlaces lábiles a ácidos (según lo descrito en las patentes estadounidenses n.º 5.474.765 y 5.762.918) y enlaces sensibles a enzimas, incluyendo enlaces peptídicos, ésteres, amidas, fosfodiésteres y glicósidos (según lo descrito en las patentes estadounidenses n.º 5.474.765 y 5.762.918). Dichas características de diseño de liberación selectiva facilitan la liberación sostenida de los compuestos de los conjugados en el sitio diana deseado.
- 10
- 15 La cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención conjugado con un agente de direccionamiento depende de la persona, del tipo de enfermedad, del estado de la enfermedad, del procedimiento de administración y de otras variables clínicas. La cantidad eficaz se puede determinar fácilmente usando los datos de un modelo animal. Los animales experimentales con tumores sólidos se usan frecuentemente para optimizar las cantidades terapéuticamente eficaces adecuadas antes de trasladarlas a un entorno clínico. Dichos modelos se conocen por su fiabilidad en la predicción estrategias contra el cáncer eficaces. Por ejemplo, los ratones portadores de tumores sólidos se usan ampliamente en ensayos pre-clínicos para determinar los intervalos de trabajo de los agentes terapéuticos que tienen efectos antitumorales beneficiosos con una toxicidad mínima.
- 20
- 25 La presente invención proporciona además una composición que comprende una cantidad eficaz del compuesto de la invención conjugado con un agente de direccionamiento y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Cuando se usan proteínas, tales como anticuerpos o factores de crecimiento, o polisacáridos como agentes de direccionamiento, se administran preferentemente en forma de composiciones inyectables. La solución de anticuerpos inyectable se administrará en una vena, arteria o en el fluido espinal durante de aproximadamente 2 minutos a aproximadamente 45 minutos, preferentemente, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 minutos.
- 30 En ciertos casos, la administración intradérmica e intracavitaria son ventajosas para los tumores restringidos a zonas próximas a regiones concretas de la piel y/o a determinadas cavidades del cuerpo. Además, para los tumores localizados en el cerebro, se pueden usar administraciones intratecales.
- 35 Otro aspecto de la presente invención incluye compuestos para su uso en un procedimiento para el tratamiento de trastornos relacionados con la actividad de CDK no regulada (en particular, restenosis, hiperplasia de la íntima o inflamación de las paredes de los vasos sanguíneos) en un sujeto que lo necesite que comprende administrar al sujeto mediante liberación controlada una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o una composición del mismo que reviste un dispositivo médico intraluminal (en particular, un catéter de balón o stent). Dichos dispositivos son útiles para evitar la aparición de restenosis mediante la inhibición de la actividad quinasa dependiente de ciclina no regulada y evitando así la hiperproliferación del endotelio.
- 40
- 45 La expresión "dispositivo médico intraluminal" se refiere a cualquier dispositivo de administración, tal como catéteres intravasculares de administración de fármacos, alambres, stents farmacológicos y revestimiento endoluminal. Es preferible que el dispositivo de administración comprenda un stent que incluya una cubierta o funda que eluya o libere los compuestos. La expresión "liberación controlada" se refiere a la liberación del ingrediente activo de una manera dirigida al sitio y dependiente del tiempo. Alternativamente, el sistema de administración para dicho dispositivo puede comprender un catéter de infusión local que administre el compuesto a una velocidad controlada variable.
- 50 El término "stent" se refiere a cualquier dispositivo capaz de ser administrado por un catéter. Los stent se usan habitualmente para prevenir el cierre vascular debido a anomalías físicas tales como el crecimiento no deseado hacia el interior de tejido vascular debido a trauma quirúrgico. Normalmente, los stent tienen una estructura tubular de tipo celosía en expansión adecuada para su depósito en el lumen de un conducto con el fin de aliviar una obstrucción. El stent tiene una superficie de contacto con la pared del lumen y una superficie expuesta al lumen. La superficie de contacto con la pared del lumen es la superficie exterior del tubo y la superficie expuesta al lumen es la superficie interna del tubo. El material del stent puede ser un material polimérico, metálico, o una combinación de polimérico y metálico, y puede ser opcionalmente biodegradable.
- 55
- 60 Comúnmente, el stent se inserta en el lumen en una forma no expandida, y luego se expande de manera autónoma o con la ayuda de un segundo dispositivo *in situ*. Un procedimiento típico de expansión se produce mediante el uso de un balón de angioplastia montado sobre un catéter, que se infla dentro del vaso estenosado o conducto corporal con el fin de romper e interrumpir las obstrucciones asociadas con los componentes de la pared del vaso y ampliar el lumen. También se pueden utilizar stents autoexpandibles como se describe en la solicitud de patente estadounidense en tramitación 2002/0016625 A1 (Falotico, *et al.*). La combinación de un stent con fármacos, agentes o compuestos que prevengan la inflamación y la proliferación puede proporcionar el tratamiento más eficaz
- 65

para la restenosis posterior a una angioplastia.

Los compuestos de la invención se pueden incorporar en o fijar al stent en una serie de modos y mediante la utilización de cualquier número de materiales biocompatibles. En una ilustración, el compuesto se incorpora directamente en una matriz polimérica, tal como el polímero polipirrol y, posteriormente, se usa para revestir la superficie exterior del stent. Esencialmente, el compuesto se eluye desde la matriz por difusión a través de las moléculas de polímero. Los stents y procedimientos para revestir stents con medicamentos se tratan detalladamente en la solicitud PCT WO 96/32907. En otro aspecto, el stent se reviste primero con una capa base que comprende una solución del compuesto, etileno-co-acetato de vinilo y polibutylmetacrilato. Luego se vuelve a revestir el stent con una capa externa que comprende polibutylmetacrilato. La capa externa actúa como una barrera de difusión para impedir que el compuesto se eluya demasiado rápido y entre en los tejidos circundantes. El espesor de la capa externa o capa superior determina la velocidad a la que el compuesto se eluye de la matriz. Los stents y los procedimientos de revestimiento se tratan detalladamente en la solicitud de patente estadounidense en tramitación 2002/0016625 A1.

Una solución del compuesto de la invención y un material o polímero biocompatible se pueden incorporar en o sobre un stent de una serie de maneras. Por ejemplo, se puede pulverizar la solución sobre el stent o se puede sumergir el stent en la solución y, en cualquier caso, a continuación, se deja secar. Alternativamente, se puede cargar eléctricamente la solución a una polaridad y cambiar la carga eléctrica del stent a la polaridad opuesta. De esta manera, la solución y el stent se atraerán entre sí. En el uso de este tipo de procedimiento de pulverización, se pueden reducir los residuos, pudiéndose alcanzar un mayor control del grosor de la capa. Normalmente, el compuesto sólo se fija a la superficie exterior del stent (la superficie que está en contacto con el tejido), pero para algunos compuestos, se puede revestir todo el stent. La combinación de la cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto aplicado al stent y de la cubierta polimérica que controla la liberación del fármaco es importante para la eficacia del fármaco. En un aspecto, el compuesto permanece sobre el stent durante un período de aproximadamente al menos 6 meses; en otro aspecto, durante un período de aproximadamente 3 días a aproximadamente 6 meses; y, en otro aspecto, durante un período de aproximadamente 7 a aproximadamente 30 días.

Se puede utilizar cualquier número de polímeros no erosionables biocompatibles en combinación con el compuesto de la invención. Es importante señalar que se pueden utilizar polímeros diferentes para diferentes stents. Por ejemplo, la matriz de etileno-co-acetato de vinilo y polibutylmetacrilato anteriormente descrita funciona bien con stents de acero inoxidable. Se pueden utilizar otros polímeros más eficazmente con stents formados a partir de otros materiales, incluyendo materiales que presentan propiedades superelásticas tales como aleaciones de níquel y titanio o materiales poliméricos de forma retentiva que "recuerdan" y vuelven a su forma original tras su activación a la temperatura corporal.

Los procedimientos para introducir un stent en un lumen de un cuerpo son ampliamente conocidos. En un aspecto de la presente invención, se introduce un stent revestido de un compuesto usando un catéter. Como los expertos habituales en la técnica apreciarán, los procedimientos variarán ligeramente en base a la ubicación de la implantación del stent. Para la implantación de stents coronarios, el catéter de balón que porta el stent se introduce en la arteria coronaria y se coloca el stent en el sitio deseado. Se infla el globo, expandiéndose el stent. A medida que el stent se va expandiendo, éste entra en contacto con la pared del lumen. Una vez que el stent está situado, se desinfla y se retira el balón. El stent permanece en su sitio de manera que la superficie de contacto con el lumen pone el compuesto directamente en contacto con la superficie de la pared del lumen. Cuando sea necesario, la implantación del stent puede estar acompañada de una terapia de anticoagulación.

Las condiciones óptimas para la administración de los compuestos para su uso en el stent de la invención pueden variar con los diferentes sistemas de administración local usados, así como con las propiedades y concentraciones de los compuestos usados. Las condiciones que se pueden optimizar incluyen, por ejemplo, las concentraciones de los compuestos, el volumen de administración, la velocidad de administración, la profundidad de la penetración en la pared del vaso, la presión de inflado proximal, la cantidad y el tamaño de las perforaciones y el ajuste del balón del catéter de administración de fármacos. Las condiciones se pueden optimizar en cuanto a la inhibición de la proliferación de células del músculo liso en la zona de la lesión, de manera que no se produzca un bloqueo arterial significativo debido a la restenosis, medida, por ejemplo, mediante la capacidad proliferativa de las células del músculo liso, o mediante los cambios en la resistencia vascular o el diámetro del lumen. Las condiciones óptimas se pueden determinar basándose en los datos de estudios de modelos animales con el uso de los procedimientos computacionales rutinarios.

Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar en forma de sistemas de administración de liposomas tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas que contienen sistemas de administración como los conocidos en la técnica se forman a partir de una variedad de fosfolípidos tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Abreviaturas

	"Boc ₂ O" anhídrido de <i>tert</i> -butoxicarbonilo
	"Comp." Compuesto
5	"CSCl ₂ " tiofosgeno
	"DIC" diisopropilcarbodiimida
	"DMF" <i>N,N</i> -dimetilformamida
	"DPPA" difenilfosforilazida
10	"EDCI" etildimetilaminopropilcarbodiimida
	"HOBT" hidroxibenciltriazol
	"NH ₂ NH ₂ " hidrazina
	"Pd" paladio (II)
	"Ph" fenilo
	"t.a." temperatura ambiente
15	"TBAF" fluoruro de tetrabutilamonio
	" <i>t</i> -BuOH" <i>tert</i> -butanol
	"TFA" ácido trifluoroacético
	"THF" tetrahidrofurano

20 Nomenclatura

Los compuestos se pueden nombrar según la nomenclatura ampliamente conocida en la técnica, o mediante la generación de nombres con un programa informático comercial de nomenclatura química tal como ACD/Index Name (Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, Ontario).

25

Procedimientos sintéticos generales

Los compuestos representativos de la presente invención se pueden sintetizar según procedimientos de síntesis generales descritos más adelante y se ilustran más particularmente en los esquemas que figuran a continuación. La preparación de los diversos materiales de partida usados en los esquemas pertenece al ámbito de los expertos versados en la técnica.

30

Esquema A

35 En el Esquema A, se acopló un Compuesto **A1** (opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de R₂; en el que el grupo R₂ incluye un átomo de halógeno (tal como Cl, Br o I) o una cadena de dioxaalquilo (tal como -OCH₂CH₂O; en el que los extremos de la cadena ocupan 2 posiciones de carbono del anillo; y en el que el átomo de nitrógeno de la anilina se protegió con un grupo protector adecuado) con un Compuesto **A2** sustituido con dos halógenos (preferentemente, cloro) (opcionalmente sustituido con un sustituyente adicional seleccionado de R₁)
40 mediante el uso de NaH, dando el Compuesto **A3**.

40

Se aminó el Compuesto **A4** sustituido con carboxilo (en el que Q se selecciona entre un halógeno tal como Cl, Br o I; en el que X, Y y Z se seleccionan dependientemente entre al menos un átomo de carbono y al menos un átomo de nitrógeno; y en el que un átomo de nitrógeno sólo puede ocupar simultáneamente las posiciones X y Z) mediante la reorganización de tipo Curtius usando *t*-BuOH y DPPA, produciendo el Compuesto **A5** amino protegido. Se alquiló el
45 Compuesto **A5** con una cadena de alquilo C₂₋₅ sustituida con bromo adecuadamente protegida (tal como, en este caso, con el uso de un grupo protector de *tert*-butilmetilsilano), produciendo el Compuesto **A6**. Entonces se hizo reaccionar el Compuesto **A6** de anillo heteroarilo con el Compuesto **A3** de anillo de triazina usando una reacción de entrecruzamiento catalizada por metal de paladio (en la que Q se convierte en un sustituyente de SnMe₃ a partir de
50 Cl, Br o I). Entonces se desprotegió el Compuesto diana **A7** usando TFA.

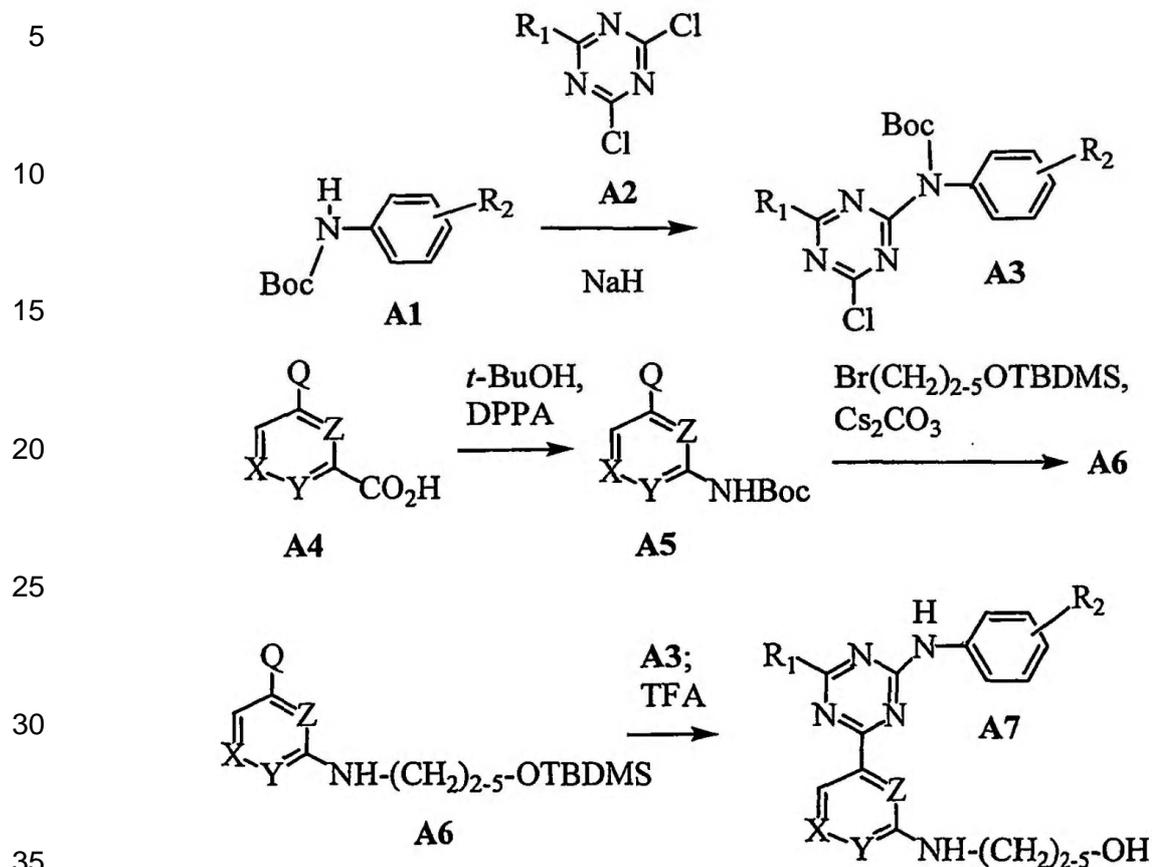
50

55

60

65

Esquema A



Esquema B

40 En el Esquema B, se halogenó un compuesto **B1** (sustituido con S; en el que S se selecciona entre NH_2 o OH) con SOCl_2 en presencia de un disolvente adecuado (cuando S se selecciona de OH) o se volvió a aminorar usando *N,N*-dimetil-formamida-dimetilacetal (cuando S se selecciona de NH_2), produciendo el Compuesto **B2** (sustituido con T; en el que T se selecciona de Cl tras la halogenación o como una mezcla de estereoisómeros de $\text{N}=\text{CH-N}(\text{Me})_2$ tras la aminación), que se puede aislar o usar directamente para preparar el Compuesto **B4**.

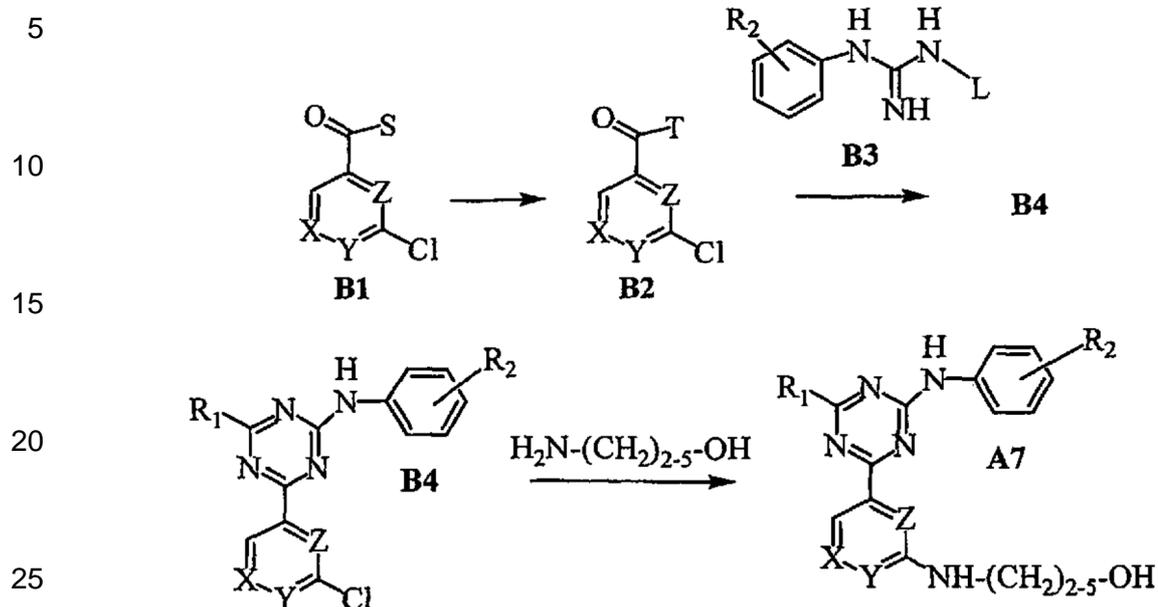
45 El anillo de triazina se formó sobre el Compuesto **B2** mediante condensación usando el Compuesto **B3** (sustituido con L como grupo terminal del átomo de nitrógeno; en el que L se selecciona entre hidrógeno o $-\text{C}(=\text{NH})(\text{R}_1)$ y está opcionalmente sustituido con un sustituyente R_2 adicional en el anillo de fenilo) en presencia de una alquilamina o de KtBuOH , produciendo un Compuesto **B4** sustituido con triazina. La aminación con un aminoalcohol dio el Compuesto **A7** diana.

55

60

65

Esquema B

Ejemplos sintéticos específicos

30 Los compuestos específicos que son representativos de la presente invención se prepararon según los siguientes ejemplos y secuencias de reacción. Los ejemplos y los diagramas que representan las secuencias de reacción se ofrecen a modo ilustrativo para facilitar la comprensión de la invención. Los compuestos intermedios representados también se pueden usar en ejemplos posteriores para producir más compuestos de la presente invención. No se han intentado optimizar los rendimientos obtenidos en ninguna de las reacciones. El experto en la técnica sabría cómo

35 aumentar dichos rendimientos a través de variaciones rutinarias de los tiempos, las temperaturas, los disolventes y/o los reactivos de reacción.

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se midieron en un espectrómetro AC-300 de Bruker (300 MHz) usando tetrametilsilano y DMSO respectivamente como patrones internos. Los análisis elementales se obtuvieron en Quantitative Technologies Inc. (Whitehouse, New Jersey), y los resultados, a no ser que se mencione lo contrario, estaban en el 0,4% de los valores calculados. Los puntos de fusión se determinaron en tubos capilares abiertos con un aparato Mel-Temp II (Laboratory Devices Inc.) y se usaron sin corregir. Los espectros de masas por electronebulización (EM-EN) se registraron en un espectrómetro 59987A de Hewlett Packard.

Ejemplo 1

3-((5-(4-((3-Clorofenil)amino)-1,3,5-triazin-2-il)-3-piridinil)amino)-1-propanol (**Compuesto 1**) *

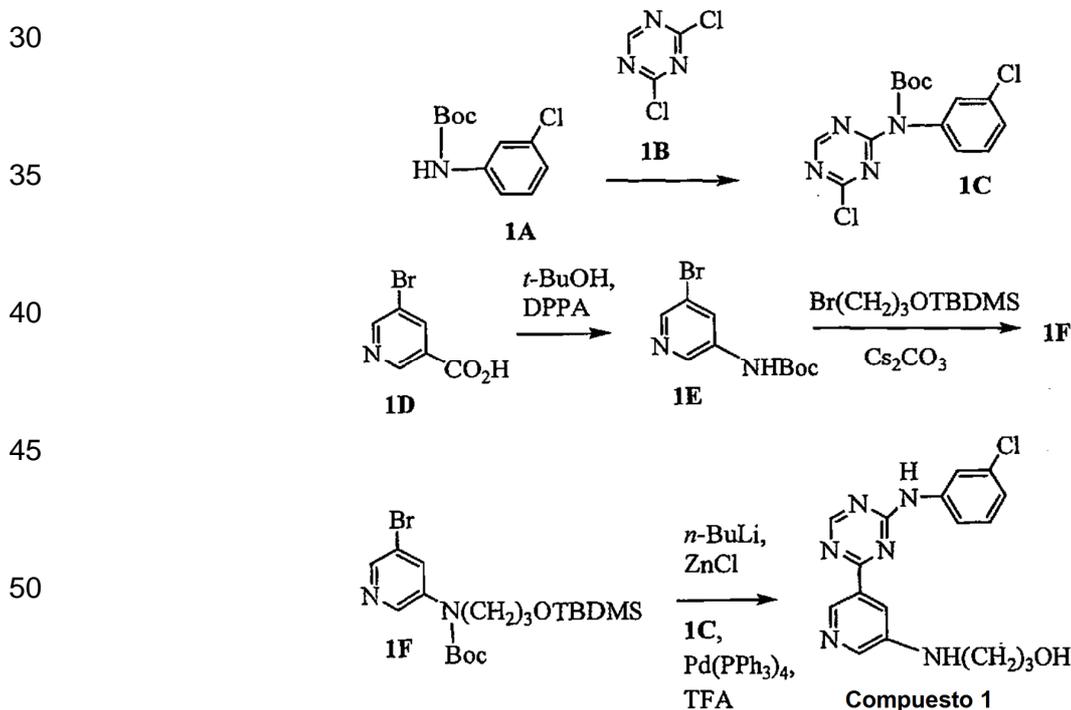
50 Se disolvió 3-cloroanilina (29,4 g, 229 mmol) en THF (250 ml) a 20°C. Se añadió lentamente una solución en THF (80 ml) de Boc_2O (50 g, 229 mmol) a la mezcla de 3-cloroanilina y THF. Se agitó la mezcla resultante durante 3 días y luego se concentró. Se purificó el producto en bruto mediante recristalización en EtOAc/hexano tres veces, dando el Compuesto **1A** (40,4 g, 78%) en forma de un sólido blanco. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,52 (s, 1H), 7,17 (m, 2H), 7,00 (dt, $J = 7,4; 1,8$ Hz, 1H), 6,49 (s, 1H), 1,52 (s, 9H); EM (EN) m/z : 250 (M+Na). Anal. Calcd. para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{Cl}$: C: 58,03; H: 6,20; N: 6,15; encontrado: C: 58,14; H: 6,22; N: 6,10. Se añadió THF (150 ml) a una

55 mezcla del Compuesto **1A** (5,5 g, 24,2 mmol) y NaH (60% en aceite mineral, 2,4 g, 60,6 mmol) a 0°C bajo N_2 . Se agitó la mezcla a 20°C durante 1 h y luego se enfrió hasta 0°C y se añadió Compuesto **1B** (6,2 g, 41,2 mmol; preparado según lo descrito en Harris, R. L. N. *Synthesis* **1981**, 907). Tras agitar la mezcla a 20°C durante una noche, se evaporó el disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía por desorción súbita (EtOAc al 10% en hexanos), dando el Compuesto **1C** (4,3 g, 52%) en forma de un sólido blanco. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,72 (s, 1H), 7,40 (m, 2H), 7,22 (sa, 1H), 7,11 (m, 1H), 1,48 (s, 9H); EM (EN) m/z : 363 (M+Na). Anal. Calcd. para $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl}_2$: C: 49,28; H: 4,14; N: 16,42; encontrada: C, 49,52; H, 4,13; N, 16,41.

65 Se agitó una mezcla de Compuesto **1D** de ácido 5-bromonicotínico (10 g, 49,5 mmol), *t*-BuOH (100 ml), trietilamina (15,2 g, 150 mmol) y DPPA (20,4 g, 74 mmol) en tolueno (100 ml) a 65°C durante 40 min, y luego se calentó hasta 100°C durante 22 h bajo nitrógeno. Se enfrió la mezcla y se concentró al vacío. Se purificó el producto en bruto

mediante cromatografía por desorción súbita sobre SiO₂ eluyendo con acetato de etilo/hexano, dando el Compuesto **1E** (10,52 g, 78%) en forma de un sólido blanco. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,32 (m, 3H), 6,97 (sa, 1H), 1,53 (s, 9H); EM (EN) *m/z*: 273, 275 (M+H⁺). Anal. Calcd. para C₁₀H₁₃N₂O₂Br: C: 43,98; H: 4,80; N: 10,26; encontrada: C: 43,88; H: 4,52; N: 10,20. Se agitó una mezcla de Compuesto **1E** (2,85 g, 10,44 mmol), (3-bromopropoxi)-*t*-butildimetilsilano (3,96 g, 15,66 mmol) y Cs₂CO₃ (10,21 g, 31,3 mmol) en DMF anhidra (55 ml) a 70°C durante 23 h bajo nitrógeno. Se enfrió la mezcla, se diluyó con agua y se extrajo con éter (x 3). Se secó la fase orgánica (Na₂SO₄) y se concentró. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna (eluyendo con EtOAc/hexano), dando el Compuesto **1F** (4,2 g, 90%) en forma de un aceite amarillo. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,45 (sa, 2H), 7,77 (sa, 1H), 3,73 (ta, *J* = 7,3 Hz, 2H), 3,62 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H), 1,81 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 0,84 (s, 9H), 0,00 (s, 6H); EM (EN) *m/z*: 445,447 (M+H⁺). Anal. Calcd. para C₁₉H₃₃N₂O₃BrSi: C: 51,23; H: 7,47; N: 6,29; encontrada: C: 51,45; H: 7,47; N: 6,53.

Se añadió *n*-BuLi (2,3 ml, 2,5M, 5,65 mmol) en gotas a una solución del Compuesto **1F** (1,26 g, 2,82 mmol) en THF anhidro (10 ml) a -78 °C y se agitó la mezcla durante 20 min. Se añadió cloruro de cinc anhidro (8,47 ml, 1M en éter, 8,47 mmol) en gotas a la solución de THF que contenía Compuesto **1F** a -78°C y se agitó durante 10 min antes de calentarla hasta 20°C retirando el baño de hielo seco. Se añadió una mezcla del Compuesto **1C** (640 mg, 1,88 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (109 mg, 0,094 mmol) en THF seco (8 ml). Se agitó la mezcla resultante a 20°C durante 10 min, y luego a 70°C durante 22 h, y se retiró el disolvente al vacío. Se dividió el residuo entre agua y éter, y luego se separó. Se extrajo la capa acuosa con éter (x 3). Se secaron las capas orgánicas combinadas (Na₂SO₄) y se concentraron. Se purificó el producto (una mezcla de productos de acoplamiento bis-Boc- y mono-Boc- protegidos) mediante cromatografía en columna, dando 458 mg of espuma amarilla. Se mezcló la espuma amarilla con TFA (5 ml) y se agitó la mezcla a 20°C durante 2 h, y luego se concentró. Se añadió NH₄OH, tras lo que se añadió agua hasta que el pH de la capa acuosa alcanzó aproximadamente 10-11. Se formó un sólido amarillo, se recogió mediante filtración y luego se secó al vacío. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna, dando el Compuesto **1** (208 mg, 73%) en forma de un sólido amarillo. RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,55 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,18 (sa, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,76 (s, 1H), 7,71 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,41 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,15 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,19 (sa, 1H), 4,54 (t, *J* = 5,0 Hz, 1H), 3,55 (m, 2H), 3,18 (m, 2H), 1,80 (m, 2H); EM (EN) *m/z*: 357 (M+H⁺). Anal. Calcd. para C₁₇H₁₇N₆OCl•0,35 H₂O: C: 56,23; H: 4,91; N: 23,14; encontrada: C: 56,63; H: 4,78; N: 22,76.



Ejemplo 2

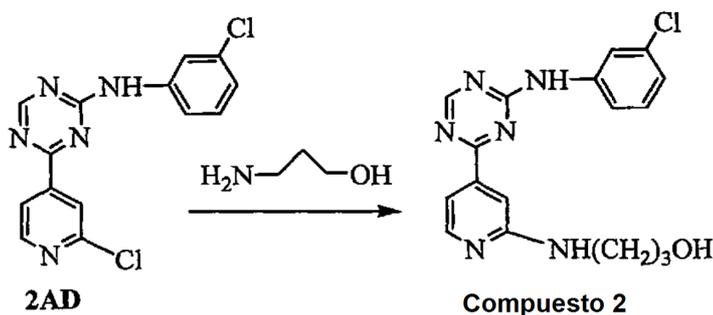
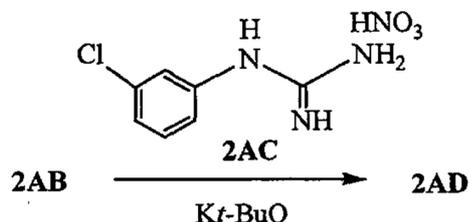
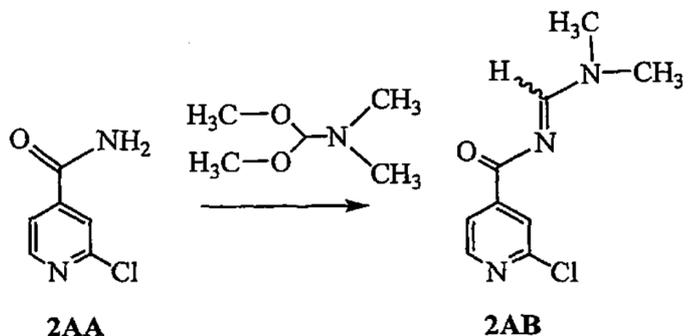
3-((4-((3-Clorofenil)amino)-1,3,5-triazin-2-il)-2-piridinil)amino)-propanol-(**Compuesto 2**)*

El Compuesto **2** se puede preparar mediante una variedad de procedimientos según lo descrito en la presente memoria.

Procedimiento 2A:

Se calentó una mezcla de 2-cloroisonicotinamida **2AA** (4,0 g, 25,6 mmol) y *N,N*-dimetilformamida-dimetilacetal (3,66 g, 30,7 mmol) a 100°C durante 1h bajo nitrógeno, y luego se concentró al vacío. Se purificó el residuo

mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexano), dando el Compuesto **2AB** (una mezcla de los isómeros *E* y *Z*) (3,3 g, 61%) en forma de un sólido blanco. RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8,69 (s, 1H), 8,55 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H), 8,52 (d, $J = 5,0$ Hz, 0,25H), 7,98-7,87 (m, 2H), 7,56 (s, 0,25H), 7,43 (dd, $J = 5,0; 1,2$ Hz, 0,25H), 3,25 (s, 3H), 3,18 (s, 3H), 2,99 (s, 0,9H), 2,86 (s, 0,9H); Anal. Calcd. para $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{ClN}_3\text{O} \cdot 0,1 \text{H}_2\text{O}$: C: 50,64; H: 4,82; N: 19,69; encontrada: C: 50,79; H: 4,69; N: 19,73. Se agitó una mezcla de Compuesto **2AC** de nitrato de (3-cloro-fenil)-guanidina (preparado según lo descrito en *J. Med. Chem.*, 18, 1975, 1077-1088) (198 mg, 0,85 mmol), *t*-butóxido de potasio y THF (3 ml) a 20°C durante 15 min. Se añadió Compuesto **2AB** (72 mg, 0,34 mmol) en una porción y se agitó la mezcla a 20°C durante 15 min, y luego a 70°C durante 15 min. Se concentró la mezcla al vacío. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexano), dando el Compuesto **2AD** (26 mg, 24%) en forma de un sólido. RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10,73 (s, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,67 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 8,20 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 7,98 (t, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,69 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,42 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,18 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); Anal. Calcd. para $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{N}_5 \cdot 0,1 \text{H}_2\text{O}$: C: 52,55; H: 2,91; N: 21,89; encontrada: C: 52,61; H: 2,77; N: 21,66. Se calentó una mezcla de Compuesto **2AD** (124 mg, 0,39 mmol) y 3-amino-1-propanol (3,5 ml) a 85°C durante 18 h. Tras añadir agua (60 ml) a la mezcla, se extrajo con EtOAc. Se concentró el extracto orgánico al vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna, dando el Compuesto **2** (14 mg, 10%) en forma de un sólido amarillo. RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10,58 (s, 1H), 8,93 (s, 1H), 8,16 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,76 (sa, 1H), 7,42 (m, 2H), 7,29 (dd, $J = 5,3; 1,2$ Hz, 1H), 7,16 (dd, $J = 8,0; 1,3$ Hz, 1H), 6,85 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H), 4,50 (t, $J = 5,2$ Hz, 1H), 3,50 (c, $J = 6,2$ Hz, 2H), 3,34 (m, 2H), 1,72 (m, 2H); Anal. Calcd. para $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ClN}_6\text{O} \cdot 1,2 \text{H}_2\text{O}$: C: 53,93; H: 5,17; N: 22,21; encontrada: C: 54,03; H: 4,97; N: 21,95.



Alternativamente, no es necesario aislar el Compuesto intermedio **2AB**, permitiendo la formación del anillo de triazina (Compuesto **2AD**) en una etapa. Se calentó una mezcla del Compuesto **2AA** (22,5 g, 0,144 mol) y *N,N*-dimetilformamida-dimetilacetil (20,6 g, 0,173 mol) a 100°C durante 70 min bajo nitrógeno y luego se concentró bajo un alto vacío. Se mantuvo la mezcla al vacío hasta que se solidificó, dando el Compuesto **2AB** en bruto. Tras añadir el Compuesto **2AC** de nitrato de (3-cloro-fenil)-guanidina (33,5 g, 0,144 mol) y *t*-butóxido de potasio (16,18 g, 0,144 mol) al Compuesto **2AB** en bruto, se añadió THF (750 ml) y se agitó la mezcla a 20°C durante 2 h. Se añadieron EtOAc (500 ml) y agua (2 ml) a la mezcla. Se separaron las capas y se lavó la capa orgánica con agua (2 x 200 ml), luego se secó sobre Na_2SO_4 . Tras filtrar el agente secante, se añadió gel de sílice al filtrado (540 ml). Se concentraron la mezcla de filtrado y de gel de sílice al vacío y luego se cargaron en seco sobre una columna de cromatografía por desorción súbita. Se eluyó la columna con hexano/EtOAc (2:1) y se aislaron 6,0 g del Compuesto **2AD** parcialmente purificado. Se añadió 3-amino-1-propanol (150 ml) al Compuesto **2AD** impuro y se calentó la

mezcla a 90°C durante 16 h y luego se vertió en agua (1 l). Los sólidos que precipitaron se filtraron y se lavaron con agua (x 2). Se recrystalizó el Compuesto **2** (906 mg, 2%) en EtOAc (x 2) en forma de un sólido amarillo.

Procedimiento 2B:

5 Se calentó una mezcla del Compuesto **2BA** (1,00 g, 3,30 mmol; preparado según lo descrito en Lohse, O. *Synth. Commun.* 1996, 26, 2017), DPPA (1,36 g, 4,95 mmol) y trietilamina (1,4 ml, 10 mmol) en *t*-BuOH (5,5 ml) y tolueno (5 ml) a 65°C durante 1,5 h, luego se calentó hasta 100°C durante 4 h. Tras la concentración, se purificó la mezcla mediante cromatografía de desorción súbita (EtOAc/hexano), dando el Compuesto **2BB** (515 mg, 50%) en forma de un sólido blanco. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 9,17 (sa, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,98 (dd, *J* = 5,2; 1,5 Hz, 1H), 7,34 (dd, *J* = 5,2; 1,3 Hz, 1H), 1,56 (s, 9H); EM (EN) *m/z*: 343 (M+Na). Se agitó una mezcla del Compuesto **2BB** (330 mg, 1,03 mmol), (3-bromopropoxi)-*tert*-butildimetilsilano (340 mg, 1,34 mmol) y Cs₂CO₃ (504 mg, 1,55 mmol) en DMF seca (4 ml) a 70°C durante 3 h. Tras evaporar el disolvente bajo presión reducida, se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexano), proporcionando el Compuesto **2BC** (450 mg, 89%) en forma de un aceite transparente. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,11 (s, 1H), 8,00 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 7,33 (dd, *J* = 5,2; 1,3 Hz, 1H), 3,99 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 3,65 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H), 1,84 (m, 2H), 1,52 (s, 9H), 0,87 (s, 9H), 0,02 (s, 6H); EM (EN) *m/z*: 515 (M+Na).

20 Se calentó una mezcla del Compuesto **2BC** (650 mg, 1,32 mmol), *bis*(trimetilestaño) (870 mg, 2,66 mmol), tetraquis(trifenilfosfin)paladio (150 mg, 0,130 mmol), LiCl (170 mg, 4,00 mmol) y 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (12 mg, 0,054 mmol) en 1,4-dioxano anhidro (12 ml) a 90°C durante 1,5 h bajo nitrógeno. Tras evaporar el disolvente bajo presión reducida, se purificó el residuo mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOAc/hexano), dando el Compuesto **2BD** (590 mg, 84%) en forma de un aceite transparente. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,09 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,10 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 3,97 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 3,64 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H), 1,85 (m, 2H), 1,49 (s, 9H), 0,86 (s, 9H), 0,33 (s, 9H), 0,00 (s, 6H); EM (EN) *m/z*: 527 (M-H⁺). Anal. Calcd. para C₂₂H₄₂N₂O₃SiSn: C: 49,92; H: 8,00; N: 5,29; encontrada: C: 50,32; H: 7,88; N: 5,20. Se desgasificó una mezcla del Compuesto **1C** (590 mg, 1,73 mmol), Pd₂(dba)₃ (160 mg, 0,175 mmol), AsPh₃ (424 mg, 1,39 mmol) y 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (24 mg, 0,11 mmol) bajo un alto vacío y luego se llenó con N₂. Se repitió este procedimiento tres veces. Se añadió tolueno (20 ml) y se agitó la mezcla a 20°C durante aproximadamente 30 min. Se añadió una solución de Compuesto **2BD** (915 mg, 1,73 mmol) en tolueno (20 ml) y se calentó la mezcla a 100°C durante 3,5 h. Tras retirar el disolvente, se purificó el residuo mediante cromatografía de desorción súbita (EtOAc/hexano), dando el Compuesto **2BE** (895 mg, 77%) en forma de un aceite transparente. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 9,05 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,48 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 7,80 (dd, *J* = 5,2; 1,4 Hz, 1H), 7,41-7,39 (m, 2H), 7,28-7,27 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 4,05 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 3,66 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,51 (s, 9H), 1,50 (s, 9H), 0,86 (s, 9H), 0,01 (s, 6H); EM (EN) *m/z*: 670 (M+H⁺).

40 Se añadió CF₃COOH (10 ml) a una solución del Compuesto **2BE** (1,74 g, 2,59 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml). Tras agitar la mezcla a 20°C durante 2 h, se concentró. Se añadió hidróxido de amonio saturado al residuo hasta que el pH de la mezcla fue mayor de 7. Se recogió el sólido precipitado a través de filtración y se lavó con agua con hielo. Se purificó el producto en bruto mediante recrystalización en EtOAc, dando el Compuesto **2** (750 mg, 81%) en forma de un sólido amarillo. RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,59 (s, 1H), 8,92 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,75 (sa, 1H), 25 7,43 (m, 2H), 7,30 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 6,96 (sa, 1H), 4,52 (sa, 1H), 3,50 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H), 3,30 (m, 2H), 1,74 (m, 2H); EM (EN) *m/z*: 357 (M+H⁺).

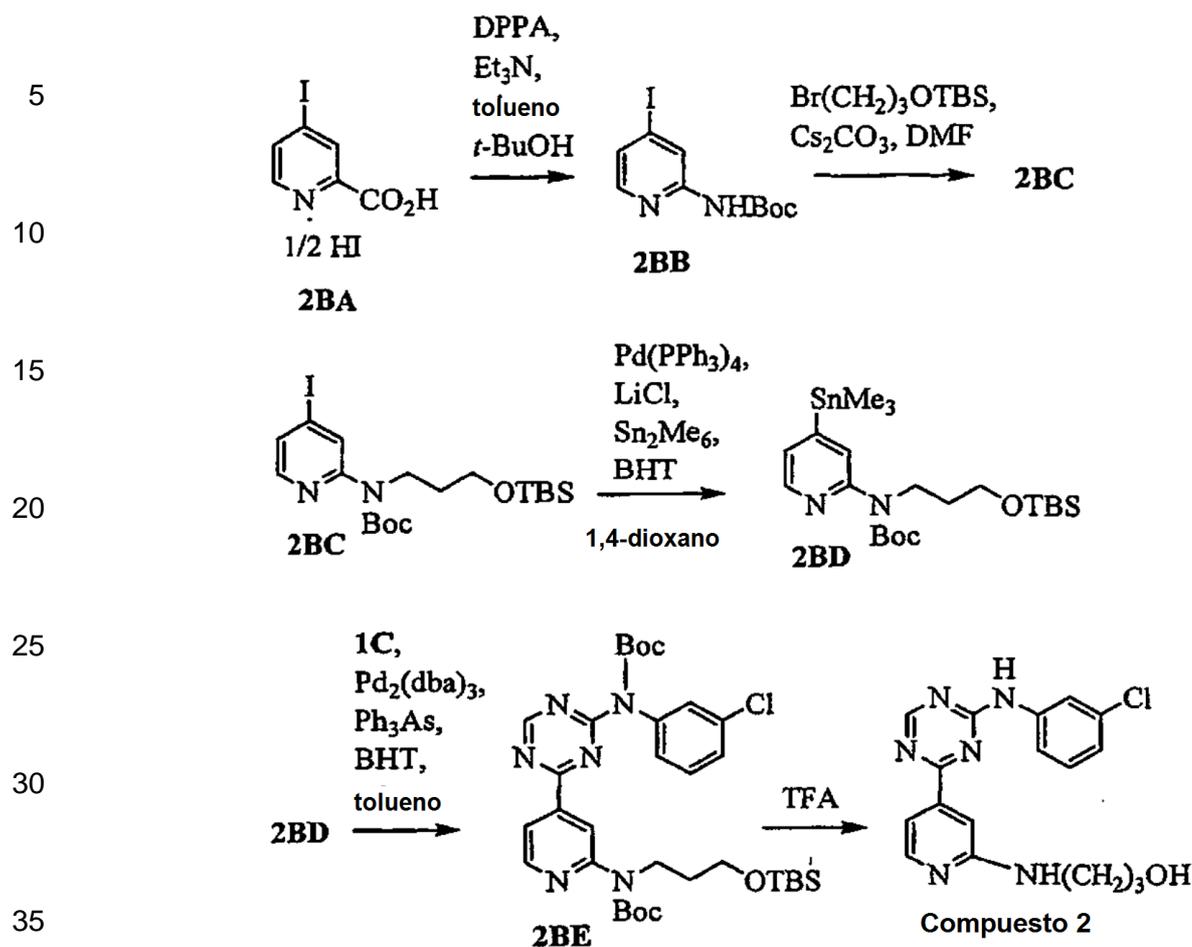
45

50

55

60

65

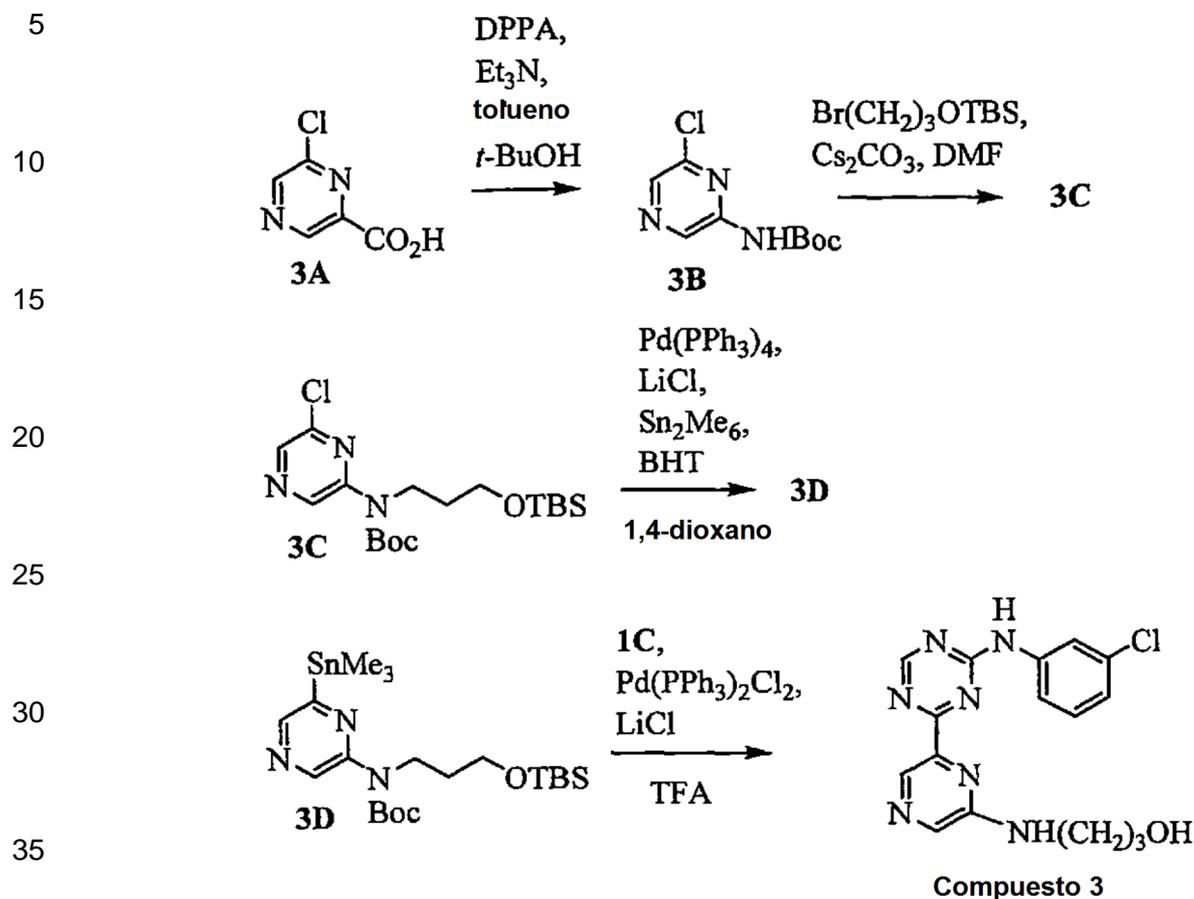
**Ejemplo 3**

40 3-((6-(4-((3-clorofenil)amino)-1,3,5-triazin-2-il)pirazin-2-il)amino)-1-propanol (**Compuesto 3**)*

45 Se calentó una mezcla del **Compuesto 3A** (220 mg, 1,39 mmol; preparado según lo descrito en Sato, N. J. *Heterocyc. Chem.* 1994, 31, 1177), DPPA (575 mg, 2,09 mmol) y trietilamina (0,39 ml, 2,80 mmol) en *t*-BuOH (3 ml) y tolueno (2 ml) a 65°C durante 1,5 h, luego a 85°C durante 2 h. Tras la concentración, se purificó la mezcla mediante cromatografía de desorción súbita (EtOAc/hexano), dando el **Compuesto 3B** (180 mg, 57%) en forma de un sólido blanco. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,19 (s, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,17 (sa, 1H), 1,54 (s, 9H). Se agitó una mezcla del **Compuesto 3B** (160 mg, 0,697 mmol), (3-bromopropoxi)-*tert*-butildimetilsilano (220 mg, 0,870 mmol) y Cs_2CO_3 (340 mg, 1,04 mmol) en DMF seca (2 ml) a 60°C durante 2,5 h. Se evaporó el disolvente bajo presión reducida y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexano), proporcionando el **Compuesto 3C** (262 mg, 94%) en forma de un aceite transparente. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 9,01 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 4,00 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 3,68 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,54 (s, 9H), 0,87 (s, 9H), 0,03 (s, 6H).

55 Se sometió a reflujo una mezcla de **Compuesto 3C** (123 mg, 0,306 mmol), *bis*(trimetilestaño) (200 mg, 0,611 mmol), tetraquis(trifenilfosfin)paladio (35 mg, 0,030 mmol), LiCl (40 mg, 0,94 mmol) y 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (3 mg, 0,014 mmol) en 1,4-dioxano anhidro (2 ml) durante 4 h bajo nitrógeno. Se evaporó el disolvente bajo presión reducida y se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc/hexano), dando el **Compuesto 3D** (154 mg, 95%) en forma de un aceite transparente. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,79 (s, 1H), 8,21 (s, 1H), 4,01 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,67 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,90 (m, 2H), 1,53 (s, 9H), 0,87 (s, 9H), 0,36 (s, 9H), 0,02 (s, 6H); EM (EN) m/z : 531 ($\text{M}+\text{H}^+$). Se agitó una mezcla del **Compuesto 3D** (73 mg, 0,14 mmol), **Compuesto 1C** (52 mg, 0,15 mmol), dicloro*bis*(trifenilfosfin)paladio (15 mg, 0,021 mmol) y LiCl (18 mg, 0,42 mmol) en tolueno anhidro (3 ml) a 100°C durante una noche bajo nitrógeno. Se enfrió la mezcla, se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía por desorción súbita (EtOAc/hexano), dando el producto acoplado en forma de un aceite amarillo. Se añadió TFA (1 ml) y se agitó la mezcla a 20°C durante 4 h. Una vez concentrada, se añadieron solución saturada de NH_4OH y agua hasta que la mezcla se volvió básica. Una vez recogido el sólido precipitado mediante filtración, se lavó con agua y Et_2O , y se secó al vacío, proporcionando el **Compuesto 3** (1,5 mg, 47%) en forma de un sólido amarillo. RMN de ^1H

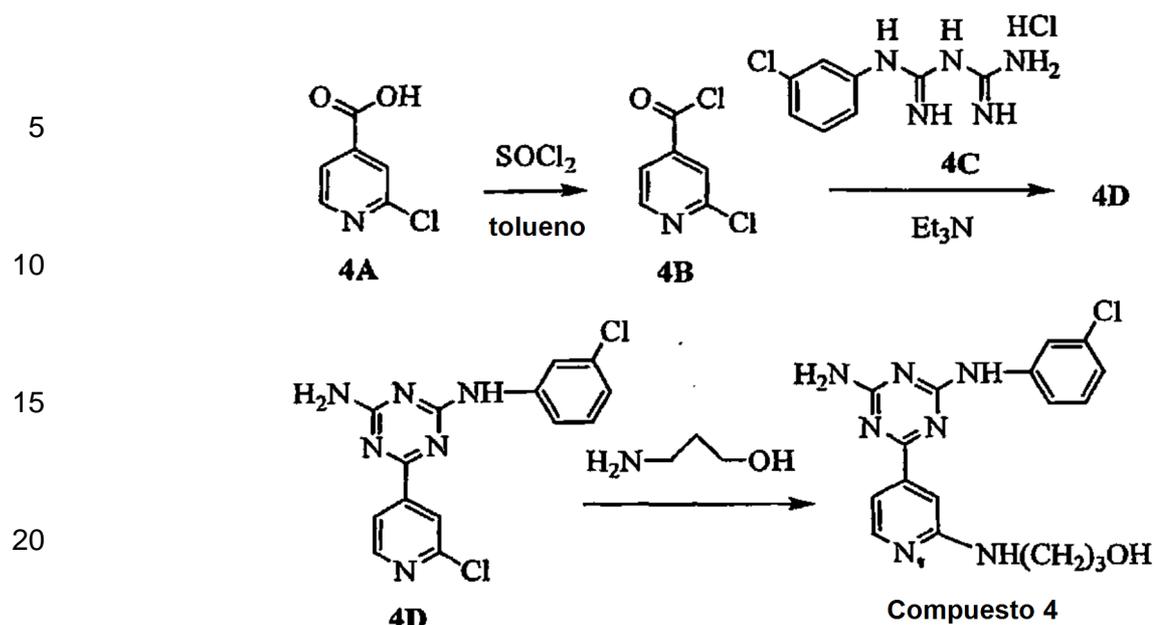
(300 MHz, DMSO- d_6) δ 10,59 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,20 (sa, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,80 (sa, 1H), 7,39 (t, J = 8,2 Hz, 1H), 7,34 (sa, 1H), 7,13 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 4,60 (m, 1H), 3,50 (m, 2H), 3,32 (m, 2H), 1,76 (t, J = 6,4 Hz, 2H); EM (EN) m/z : 358 (M+H⁺).



40 Ejemplo de referencia 4

3-((4-(4-Amino-6-((3-clorofenil)amino)-1,3,5-triazin-2-il)-2-piridinil)amino)-1-propanol (**Compuesto 4**)

45 Se añadió Compuesto **4A** de ácido 2-cloroisonicotínico (1,49 g, 9,45 mmol) a una solución de cloruro de tionilo (1,33 ml) en tolueno (4,3 ml). Se añadió DMF (una gota) y se sometió la mezcla a reflujo durante 18 h. Se retiró el cloruro de tionilo en exceso mediante destilación, dando el Compuesto **4B**. Se añadió THF (4 ml) al Compuesto **4B**, y se enfrió la mezcla en un baño con hielo. Se añadió Compuesto **4C** de HCl de (3-clorofenil)biguanida (preparado según lo descrito en *Arch. Ital. Patol. Clin. Tumori*, 1967, 10(3-4), 211-22) (2,69 g, 9,45 mmol) en una porción. Se añadió Et₃N (4,3 ml, 31,0 mmol) en gotas y se agitó la mezcla a 20°C durante 18 h. Se añadió agua (10 ml) y se agitó la mezcla a 20°C durante 3 h, luego se vertió en una mezcla de agua (50 ml) y diclorometano (50 ml). Tras filtrar el sólido, se concentró la capa de diclorometano al vacío. Se combinó el residuo resultante con los sólidos y se cromatografió sobre gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH). Se aislaron el Compuesto **4D** y un compuesto desconocido (100 mg) con la misma R_f (~0,5, CH₂Cl₂/MeOH = 9/1). EM (EN) m/z : 334 (M+H⁺). Se calentaron los compuestos amarillos con 3-amino-1-propanol (1,6 ml) a 100°C durante 4 días. Se añadió NaHCO₃ (25 mg) y se retiró el exceso de 3-amino-1-propanol mediante destilación bajo presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía por desorción súbita (CH₂Cl₂/MeOH), dando el Compuesto **4** (30 mg, 0,06%) en forma de un sólido amarillo. RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 8,02 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 7,96 (t, J = 2,0 Hz, 1H), 7,63 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,39 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 7,28 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,02 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 3,68 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 3,43 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,85 (m, 2H); EM (EN) m/z : 372 (M+H⁺).

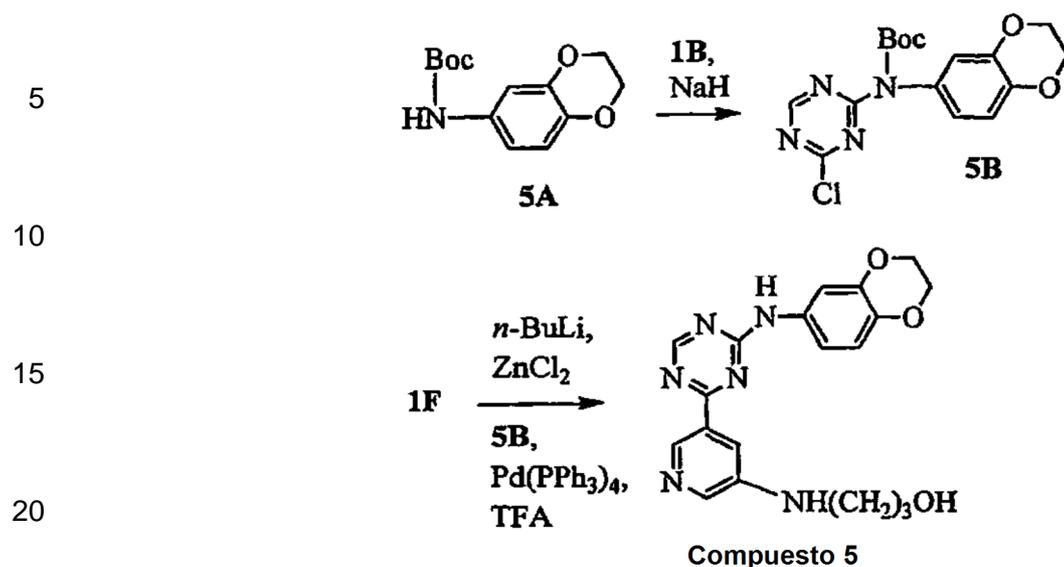


Ejemplo 5

3-((5-(4-((2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-il)amino)-1,3,5-triazin-2-il)-3-piridinil)amino)-1-propanol (**Compuesto 5**) *

Se disolvió 1,4-benzodioxan-6-amina (4,23 g, 28,0 mmol) en THF (50 ml) a 20°C. Se añadió una solución en THF (10 ml) de Boc₂O (6,1 g, 28,0 mmol) lentamente a la mezcla de 1,4-benzodioxan-6-amina y THF, y se agitó la mezcla resultante durante 18 h. Tras retirar el disolvente mediante concentración, se purificó el producto en bruto mediante recristalización en EtOAc/hexano, dando el Compuesto **5A** (4,97 mg, 71%) en forma de un sólido blanco. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6,95 (s, 1H), 6,77 (s, 2H), 6,29 (sa, 1H), 4,22 (s, 4H), 1,50 (s, 9H); EM (EN) *m/z*: 274 (M+Na). Anal. Calcd. para C₁₃H₁₇NO₄: C: 62,14; H: 6,82; N: 5,57; encontrada: C: 62,03; H: 6,69; N: 5,48. Se añadió THF (3,2 ml) a una mezcla del Compuesto **5A** (90 mg, 0,360 mmol) y NaH (36 mg, 60%, 0,90 mmol) a 0°C bajo nitrógeno. Tras agitar la mezcla a 0°C durante 5 min, se calentó hasta 20°C durante 1 h, y luego se volvió a enfriar hasta 0°C. Se añadió Compuesto **1B** (59,4 mg, 0,40 mmol) y se agitó la mezcla a 20°C durante 20 h. Se añadió NH₄Cl y se concentró la mezcla. Se extrajo el residuo con EtOAc (x 3). Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexano), dando el Compuesto **5B** (80 mg, 57%) en forma de un sólido. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,69 (s, 1H), 6,91 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,73-6,66 (m, 2H), 4,29 (s, 4H), 1,49 (s, 9H); EM (EN) *m/z*: 387 (M+Na). Anal. Calcd. para C₁₆H₁₇N₄O₄Cl: C: 52,68; H: 4,70; N: 15,36; encontrada: C: 52,72; H: 4,67; N: 15,17.

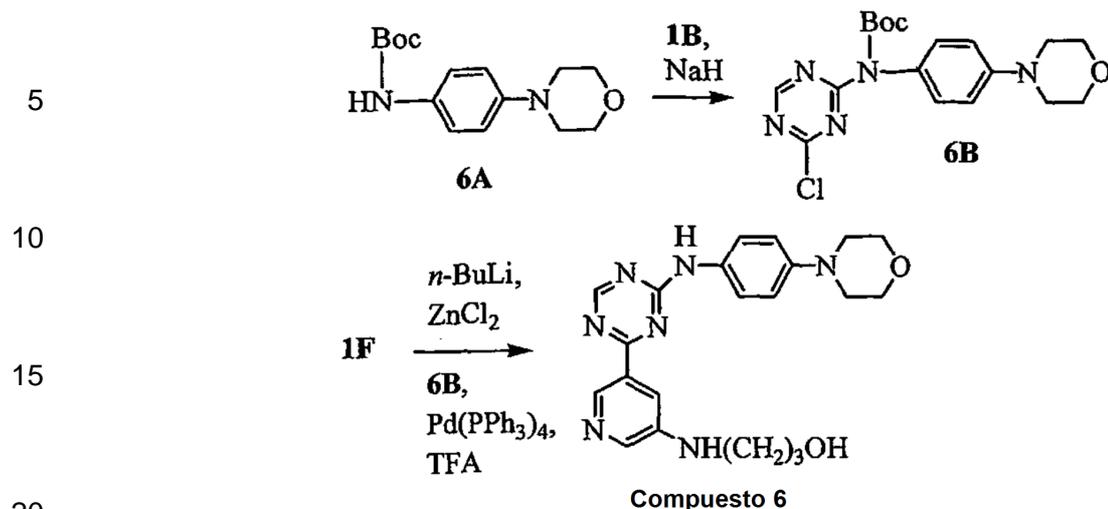
Se añadió *n*-BuLi (3,03 ml, 2,5M, 7,6 mmol) en gotas al Compuesto **1F** (1,71 g, 3,79 mmol) en THF anhidro (12,6 ml) a -78°C y se agitó la mezcla durante 20 min. Se añadió cloruro de cinc anhidro (11,4 ml, 1M en éter, 11,4 mmol) en gotas a la solución de THF que contenía Compuesto **1F** a -78°C y se agitó durante 10 min antes de calentarla hasta 20°C retirando el baño de hielo seco. Se añadió una mezcla del Compuesto **5B** (691 mg, 1,88 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (210 mg, 0,179 mmol) en THF seco (10,5 ml). Tras agitar la mezcla a 20°C durante 10 min, se calentó hasta 70°C durante 6 h. Se retiró el disolvente bajo presión reducida, y se dividió el residuo entre agua y éter. Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con éter (x 3). Se secaron las capas orgánicas combinadas (Na₂SO₄) y se concentraron. Se purificó el producto de acoplamiento mono-Boc-prottegido mediante cromatografía en columna, dando espuma amarilla (294 mg). Se agitó una mezcla de la espuma amarilla y TFA (5 ml) a 20°C durante 1,5 h, y se concentró. Se añadieron NH₄OH y agua hasta que el pH de la capa acuosa alcanzó 10-11. Se recogió el sólido amarillo formado mediante filtración y luego se secó al vacío. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna, dando el Compuesto **5** (31 mg, 43%) en forma de un sólido amarillo. RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,18 (s, 1H), 8,77 (s, 1H), 8,68 (sa, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,68-7,36 (m, 1H), 7,18 (sa, 1H), 6,86 (da, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,17 (sa, 1H), 4,52 (sa, 1H), 4,24 (s, 4H), 3,53 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 1,75 (m, 2H); EM (EN) *m/z*: 381 (M+H⁺). Anal. Calcd. para C₁₉H₂₀N₆O₃•0,2 H₂O: C: 59,43; 15 H: 5,35; N: 21,88; encontrada: C: 59,47; H: 5,36; N: 21,73.

Ejemplo 6

3-((5-(4-((4-(4-Morfolinil)fenil)amino)-1,3,5-triazin-2-il)-3-piridinil)amino)-1-propanol (**Compuesto 6**) *

Se disolvió el 4-morfolinoanilina (5,0 g, 28,0 mmol) en THF (50 ml) a 20°C. Se añadió una solución en THF (10 ml) de Boc₂O (6,1 g, 28,0 mmol) lentamente a la mezcla de 4-morfolinoanilina y THF, y se agitó la mezcla resultante durante 5 h. Tras concentrar la mezcla, se sometió a ultrasonidos en diclorometano, se filtró a través de celite, se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna (EtOAc/Hexano) y se recristalizó en EtOAc, dando el **Compuesto 6A** (6,05 g, 78%) en forma de un sólido blanco. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,26 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,86 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,31 (sa, 1H), 3,85 (t, J = 4,7 Hz, 4H), 3,09 (t, J = 4,8 Hz, 4H), 1,50 (s, 9H); EM (EN) m/z: 279 (M+H⁺). Anal. Calcd. para C₁₅H₂₂CN₂O₃: C: 64,73; H: 7,97; N: 10,06; encontrada: C: 64,73; H: 8,01; N: 9,91. Se añadió THF (50 ml) a una mezcla del **Compuesto 6A** (1,55 mg, 5,57 mmol) y NaH (550 mg, 60% en aceite mineral, 13,9 mmol) a 0°C bajo nitrógeno. Tras agitar la mezcla a 0°C durante 5 min, se calentó hasta 20°C durante 1 h, y luego se volvió a enfriar hasta 0°C. Se añadió **Compuesto 1B** (1,0 mg, 6,68 mmol) y se agitó la mezcla a 20°C durante 20 h. Se añadió NH₄Cl acuoso saturado y se concentró la mezcla. Se extrajo el residuo con EtOAc (x 3). Se secaron los extractos orgánicos (Na₂SO₄) y se concentraron. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna (diclorometano/acetona), dando el **Compuesto 6B** (612 mg, 28%) en forma de un sólido. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,67 (s, 1H), 7,08 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 6,93 (d, J = 6,9 Hz 2H), 3,87 (t, J = 4,8 Hz, 4H), 3,21 (t, J = 4,9 Hz, 4H), 1,48 (s, 9H); EM (EN) m/z: 414 (M+Na). Anal. Calcd. para C₁₈H₂₂N₅O₃Cl: C: 55,17; H: 5,66; N: 17,87; encontrada: C: 55,18; H: 5,69; N: 17,73.

Se añadió *n*-BuLi (1,47 ml, 2,5M, 3,61 mmol) en gotas al **Compuesto 1F** (806 mg, 1,80 mmol) en THF anhidro (6,4 ml) a -78°C y se agitó durante 20 min. Se añadió cloruro de cinc anhidro (5,4 ml, 1M en éter, 5,4 mmol) en gotas a la solución de THF y **Compuesto 1F** a -78°C, y se agitó durante 10 min antes de calentarla hasta 20°C retirando el baño de hielo seco. Se añadió una mezcla del **Compuesto 6B** (475 mg, 1,88 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (70 mg, 0,06 mmol) en THF seco (5 ml). Se agitó la mezcla resultante a 20°C durante 10 min, y luego a 70°C durante 18 h. Se eliminó el disolvente al vacío. Se dividió el residuo entre agua y éter. Se separaron las capas. Se extrajo la capa acuosa con éter (x 3) y se combinaron las capas orgánicas, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. Se purificó el producto de acoplamiento mono-Boc-prottegido mediante cromatografía en columna (diclorometano/acetona), dando espuma amarilla (105 mg). Se agitó una mezcla de la espuma amarilla (105 mg), diclorometano (2 ml) y TFA (0,66 ml) a 20°C durante 5 h y se concentró. Se añadieron NH₄OH y agua hasta que el pH de la capa acuosa alcanzó 10-11. Se recogió el sólido amarillo formado mediante filtración y luego se secó al vacío. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna, dando el **Compuesto 6** (22 mg, 4,5%) en forma de un sólido amarillo. RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,13 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,68 (sa, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,64 (m, 2H), 6,97 (sa, 2H), 6,16 (sa, 1H), 4,53 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 3,75 (t, J = 4,7 Hz, 4H), 3,54 (c, J = 6,0 Hz, 2H), 3,19-3,09 (m, 6H), 1,75 (m, 2H); EM (EN) m/z: 408 (M+H⁺). Anal. Calcd. para C₂₁H₂₅N₇O₂•6 H₂O: C: 60,30; H: 6,31; N: 23,44; encontrada: C: 60,19; H: 6,12; N: 23,28.



Ejemplos biológicos

25 La utilidad de los compuestos para tratar o mejorar un trastorno mediado por quinasas se determinó mediante los siguientes procedimientos.

Ejemplo 1

Análisis de rastreo de CDK1

30 Se preparó una mezcla de reacción de quinasas que contenía Tris-HCl 50mM, pH 8, MgCl₂ 10mM, Na₃PO₄ 0,1mM, DTT 1mM, ATP 10μM, sustrato peptídico de histona H1 biotinilada 0,025μM (también denominado en la presente memoria sustrato péptido para CDK-1, véase la tabla de sustratos) y 0,2 μCuries por pocillo de ³³P-γ-ATP (2000-3000 Ci/mmol). Luego se dispensaron 70 μl de mezcla de reacción de quinasas en el pocillo de una FlashPlate™ revestida de estreptavidina (n.º de cat. SMP103, NEN: Boston, MA). Luego se añadió 1 μl de cultivo patrón de compuesto de prueba en DMSO al 100% a los pocillos, produciendo una concentración final de DMSO al 1% en la reacción con un volumen de reacción final de 100 μl. A continuación, se diluyó proteína CDK1:Ciclina B (New England Biolabs, *infra*) en Tris-HCl 50mM, pH = 8,0, ASB al 0,1% a una concentración de 1 ng por μl, y se añadieron 30 μl (30 ng de enzima por pocillo de prueba) a cada pocillo para iniciar la reacción. Se incubó la reacción durante una hora a 30°C. Al finalizar la incubación de 1 hora, se finalizó la reacción aspirando la mezcla de reacción de la placa y lavando los pocillos dos veces con PBS que contenía EDTA 100mM. El sustrato peptídico de histona H1 biotinilada quedó inmovilizado en la Flashplate™ (Perkin Elmer, NEN Boston, MA) y se midió la incorporación de ³³P-γ-ATP leyendo la placa sobre un contador de centelleo. La inhibición de la actividad enzimática de CDK1 se midió observando una cantidad reducida de ³³P-γ-ATP incorporada al péptido inmovilizado.

Análisis de rastreo de VEGF-R

50 Se preparó una mezcla de reacción de quinasas que contenía Tris-HCl 50mM, pH = 8, MgCl₂ 10mM, Na₃PO₄ 0,1mM, DTT 1mM, ATP 10μM, sustrato peptídico biotinilado 0,025μM (también denominado en la presente memoria sustrato péptido biotinilado de PLC-1 y sustrato del receptor de PDGF, cuya secuencia se proporciona en la tabla de sustratos peptídicos) y 0,8 μCuries por pocillo de ³³P-γ-ATP (2000-3000 Ci/mmol). Luego se dispensaron 70 μl de mezcla de reacción de quinasas en el pocillo de una FlashPlate™ revestida de estreptavidina (n.º de cat. SMP103, NEN: Boston, MA). Después, se añadió 1 μl de cultivo patrón de compuesto de prueba en DMSO al 100% a los pocillos produciendo una concentración final de DMSO al 1% en la reacción con un volumen de reacción final de 100 μl. A continuación, se diluyó tirosina quinasa de VEGF de rata soluble que contenía un marcador 6XHIS N-terminal en Tris-HCl 50mM, pH = 8,0, ASB al 0,1% a una concentración de 5 ng por μl, y se añadieron 30 μl (150 ng de enzima por pocillo de prueba) a cada pocillo para iniciar la reacción. Se incubó la reacción durante una hora a 30°C. Al finalizar la incubación de 1 hora, se finalizó la reacción aspirando la mezcla de reacción de la placa y lavando los pocillos dos veces con PBS que contenía EDTA 100mM. El sustrato peptídico biotinilado de PLC1 quedó inmovilizado en la Flashplate™ y se midió la incorporación de ³³P-γ-ATP leyendo la placa sobre un contador de centelleo. La inhibición de la actividad enzimática de VEGF-R se midió observando una cantidad reducida de ³³P-γ-ATP incorporada al péptido inmovilizado.

65 En la Tabla 1, se muestran los datos de CI₅₀ para CDK1 y VEGF-R. Los valores de CI₅₀ que figuran como >10 o >100 indican que no se observó una inhibición del 50% a la dosis más elevada medida ni tampoco se observó una

inhibición máxima. NA significa no analizado.

5

Tabla 1

Comp.	CI ₅₀ de CDK1 (μM)	VEGF-R (μM)
1	0,039	2,56
2	0,016	2,56
3	0,971	12,92
4*	0,766	0,865
5	0,382	10
6	1,24	5,03

10

* = ejemplo de Referencia

15

Ejemplo 2

20

Análisis de selectividad de la quinasa

25

30

35

40

Los análisis de la inhibición de otras quinasa por parte del compuesto de prueba se realizaron usando procedimientos que miden la cantidad de fosforilación de un sustrato peptídico biotinilado. Los sustratos peptídicos biotinilados se seleccionaron de entre los publicados en función de la enzima que se estaba evaluando. El procedimiento general usado para analizar la actividad quinasa es el siguiente: se preparó una mezcla de reacción de quinasa en Tris-HCl 50mM, pH 8, MgCl₂ 10mM, Na₃VO₄ 0,1mM, DTT 1mM, ATP 10μM, sustrato peptídico biotinilado 0,25-1 μM, 0,2-0,8 μCuries por pocillo de ³³P-γ-ATP (2000-3000 Ci/mmol). Las condiciones del análisis variaron ligeramente para cada una de las proteínas quinasa, por ejemplo, el receptor quinasa de insulina requiere MnCl₂ 10mM para tener actividad y la proteína quinasa dependiente de la calmodulina requiere calmodulina y CaCl₂ 2mM. Se dispensó la mezcla de reacción en los pocillos de una placa Flashplate revestida de estreptavidina y se añadió 1 μl de compuesto de prueba en DMSO al 100% a un volumen de reacción de 100 μl, dando como resultado una concentración final de DMSO al 1% en la reacción. Se diluyó la enzima en Tris-HCl 50mM, pH = 0,1, ASB al 0,1% y se añadió a cada pocillo. Se incubó la reacción durante una hora a 30°C en presencia de un compuesto de prueba. Tras una hora, se aspiró la mezcla de reacción de la placa y se lavó la placa con PBS que contenía EDTA 100mM. Se leyó la placa en un contador de centelleo para determinar el ³³P-γ-ATP incorporado al sustrato peptídico inmovilizado. Los compuestos de prueba se analizaron por duplicado a 8 concentraciones (100μM, 10μM, 1μM, 100nM, 10nM, 1nM, 100pM, 10pM). Se determinó una señal máxima y mínima durante el análisis en cada placa. Se calculó la CI₅₀ a partir de una curva de dosis-respuesta del porcentaje de inhibición de la señal máxima del análisis según la fórmula: % de inhibición = ((señal máxima-fondo)/(señal del compuesto de prueba-fondo)) x (100%), en la que el porcentaje de inhibición se comparó con la concentración logarítmica del compuesto de prueba. También se incluyeron en cada placa los compuestos inhibidores conocidos apropiados para la quinasa analizada en cuestión.

45

Definición y origen de las enzimas quinasa

50

55

60

65

La forma de VEGF-R (receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular) usado fue una proteína de fusión que contenía un marcador de polihistidina en el extremo N-terminal seguido de los aminoácidos 786-1343 del dominio de la quinasa VEGF-R2 de rata (n.º de acceso del GenBank U93306). La forma de la CDK1 usada (quinasa 1 dependiente de la ciclina) se aisló de células de insecto que expresaban tanto la subunidad catalítica de CDK1 humana como su subunidad reguladora positiva ciclina B (proteína CDK1:ciclina B, New England Biolabs, Beverly, MA, n.º de cat. 6020). La forma de CDK4 (quinasa 4 dependiente de la ciclina) usada contiene los aminoácidos 769 a 921 de la proteína R6 murina encontrada en el constructo proteico de GST-retinoblastoma (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA; n.º de cat. SC-4112). La forma de EGF-R1 (receptor 1 del factor de crecimiento epidérmico) usada se purificó de membranas de células A431 humanas (Sigma, St. Louis, MO, n.º de cat. E3641). La forma de proteína quinasa A usada fue la subunidad catalítica de la proteína quinasa A dependiente de AMPc purificada de corazón bovino (Upstate Biotech, Lake Placid, NY, n.º de cat. 14-114). La forma de PKC (proteína quinasa C) usada fue la isoforma γ o β-2 de la proteína humana producida en células de insecto (BIOMOL, Plymouth Meeting, PA, n.º de cat. SE-143). La forma de caseína quinasa 1 usada fue una porción truncada en el aminoácido 318 de la parte C-terminal de la isoforma delta de CK1 de rata producida en *E. coli* (New England Biolabs, Beverly, MA, n.º de cat. 6030). La forma de caseína quinasa 2 usada incluye las subunidades alfa y beta de la proteína CK2 humana producidas en *E. coli* (New England Biolabs, Beverly, MA, n.º de cat. 6010). La forma de la calmodulina quinasa (proteína quinasa 2 dependiente de la calmodulina) usada era una versión truncada de la subunidad alfa de la proteína de rata producida en células de insecto (New England Biolabs, Beverly, MA, n.º de cat. 6060). La forma de GSK-3 (glucógeno sintasa quinasa 3) usada fue la isoforma beta de la enzima de conejo producida en *E. coli* (New England Biolabs, Beverly, MA, n.º de cat. 6040). La forma de la MAP quinasa ERK-2 usada fue la isoforma de ERK-2 de rata que contenía un marcador de polihistidina en el extremo N terminal producida en *E. coli*, y se activó mediante fosforilación con MEK1 antes de su purificación (BIOMOL, Plymouth Meeting, PA, n.º de cat. SE-137). La

forma de receptor quinasa de insulina usada consiste en los residuos 941-1313 del dominio citoplasmático de la subunidad beta del receptor humano de la insulina (BIOMOL, Plymouth Meeting, PA, n.º de cat. SE-195). La forma de PDGF-R (receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas) usada fue una proteína de fusión que contenía un marcador de polihistidina en el extremo N-terminal seguido de los nucleótidos 1874-3507 del dominio quinasa de la subunidad beta de PDGF-R de ser humano (n.º de acceso M21616).

Sustratos peptídicos enumerados según el tipo de análisis enzimático enumerado a continuación

10	VEGF-R	(Biotina)KHKKLAEGSAYEEV-Amida
	CDK1	(Biotina)KTPKKAKKPKTPKKAKKL-Amida
	CDK4	Constructo proteico de GST-Retinoblastoma (<i>supra</i>)
	EGF-R1	(Biotina)DRVYIHPF-Amida
	Proteína quinasa A	(Biotina)GRTGRRNSI-Amida
15	PKC γ	(Biotina)RFARKGSLRQKNV-NH ₂
	PKC β -2	(Biotina)RFARKGSLRQKNV-NH ₂
	Caseína quinasa 1	(Biotina)KRRRALS(fosfo)VASLPGL-Amida
	Caseína quinasa 2	(Biotina)RREEETEEE-Amida
	Calmodulina quinasa	(Biotina)KKALRRQETVDAL-Amida
20	GSK-3	(Biotina)KRREILSRRP(fosfo)SYR-Amida
	MAP quinasa ERK-2	(Biotina)APRTPGGRR-Amida
	Receptor quinasa de insulina	(Biotina)TRDIYETDYRK-Amida
	PDGF-R	(Biotina)KHKKLAEGSAYEEV-Amida

25 En la Tabla 2, se muestran los datos de CI₅₀ (en μ M) para diversas quinasas. Los valores de CI₅₀ que figuran como >10 o >100 indican que no se observó una inhibición del 50% a la dosis más elevada medida ni tampoco se observó una inhibición máxima. NA significa no analizado.

30 **Tabla 2**

	Análisis	Comp. 1*	Comp. 2*
	VEGF-R	2,56	2,57
	CDK1	0,039	0,016
	CDK4	1,35	NA
35	EGF-R1	>100	>100
	Proteína quinasa A	>100	>100
	PKC γ	>100	NA
	PKC β -2	>100	NA
	Caseína quinasa 1	0,115	1,41
40	Caseína quinasa 2	0,926	>100
	Calmodulina quinasa	54,2	>10
	GSK-3	0,005	0,017
	(MAP quinasa ERK-2	>100	>10
45	Receptor quinasa de insulina	de18,2	>10
	PDGF-R	1,18	>100

50 Ejemplo 3

Ensayo para medir la inhibición de la proliferación celular

La capacidad de un compuesto de prueba para inhibir la proliferación del crecimiento celular se determinó midiendo la incorporación de timidina marcada con ¹⁴C al ADN recién sintetizado en las células. Este procedimiento se usó en líneas celulares derivadas de carcinomas procedentes de varios tejidos tales como adenocarcinoma cervical HeLa (Colección americana de cultivos tipo (ATCC), Virginia, n.º de cat. CCL-2), carcinoma de colon HCT-116 (CCL-247), MDA-MB-231 (Xenogen Corp.), adenocarcinoma de próstata PC-3 (ATCC CRL-1435) y melanoma maligno A375 (ATCC CRL-1619).

60 Con este procedimiento, se puede determinar el efecto de un compuesto sobre el crecimiento de células con muchos fenotipos diferentes. Se tripsinizaron las células y se contaron, y se añadieron 3.000-8.000 células a cada pocillo de una microplaca de centelleo tratada con cultivo de tejidos CytoStar de 96 pocillos (Amersham n.º RPNQ0160) en medio completo en un volumen de 100 μ l. Se incubaron las células durante 24 horas en medio completo a 37°C en una atmósfera que contenía CO₂ al 5%. Luego se añadió 1 μ l de compuesto de prueba en DMSO al 100% a los pocillos de la placa. Se añadió DMSO solo a los pocillos control. Se incubaron las células durante 24 horas más en

medio completo a 37°C en una atmósfera que contenía CO₂ al 5%. Se diluyó metil timidina-¹⁴C (56 mCi/mmol) (NEN n.º NEC568 o Amersham n.º CFA532) en medio completo y se añadieron 0,2 µCi/pocillo a cada pocillo de la placa CytoStar en un volumen de 20 µl. Se incubó la placa durante 24 horas a 37°C más CO₂ al 5% en fármaco más timidina-¹⁴C. Se descargó el contenido de la placa en un recipiente de residuos radiactivos de ¹⁴C invirtiendo la placa, y se lavó la placa dos veces con 200 µl de PBS. Luego se añadieron 200 µl de PBS a cada pocillo. Se selló la parte superior de la placa con un sellador de placas transparente y se aplicó un sellador blanco de refuerzo (Packard n.º 6005199) en el fondo de la placa. El grado de incorporación de metil timidina-¹⁴C se cuantificó en un Top Count de Packard.

En la Tabla 3, se muestran los datos de CI₅₀ (en µM) para un compuesto analizado en el modelo del Ejemplo 3. NA significa no analizado.

Tabla 3
Inhibición de la proliferación celular (CI₅₀ en µM)

Línea celular	Comp. 1*	Comp. 2*
HeLa	0,298	0,105
HCT-116	0,278	0,048
MDA-MB-231	0,330	NA
PC-3	0,259	NA
A375	NA	0,080

Ejemplo 4

Modelos *in vivo* – Inhibición del crecimiento tumoral

El efecto *in vivo* de un compuesto sobre el crecimiento de células tumorales humanas se puede evaluar implantando células tumorales humanas procedentes de una variedad de diferente tipos de tumores (tales como células de melanoma humano A375) en el flanco trasero de ratones atímicos y administrando un compuesto de prueba a los ratones.

Animales y tamaño de los tumores

Se implantó subcutáneamente 1 mm³ de fragmentos de melanoma A375 en el flanco de ratones atímicos hembra. Se controlaron los tumores dos veces a la semana y luego diariamente a medida que los neoplasmas iban alcanzando el intervalo de tamaños deseado (aproximadamente 75 mg). Se aparearon los animales el Día 1 cuando los tumores estaban en el intervalo de los 62-144 mg, y el tamaño medio de los tumores del grupo era de 76-77 mg. Se calculó el peso tumoral estimado usando la siguiente fórmula (en la que A = Anchura y l = longitud en mm de un tumor de melanoma A375):

$$\text{Peso del tumor (mg)} = \frac{(A^2) (l)}{2}$$

Administración de los compuestos de prueba

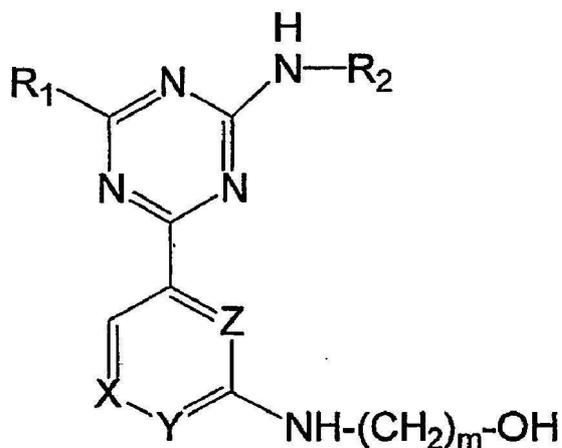
El Compuesto 2 se preparó para una administración i.p. (intraperitoneal) en un vehículo que contenía PEG-2000 al 1% en agua. El Compuesto 2 se administró (i.p.) a 150, 125 y 100 mg/kg una vez al día durante 32 días consecutivos (q.d. x 32). En la prueba, se incluyeron un grupo control sin tratamiento (grupo de control del crecimiento incluido para descontar cualquier efecto que pudiera haber de la administración del vehículo de PEG sobre el crecimiento tumoral) y un grupo control de vehículo de PEG (i.p., q.d. hasta el final). Todos los tratamientos se iniciaron el Día 1 y el estudio finalizó el Día 57.

Análisis de los resultados

En este estudio, se usó el procedimiento de retardo del crecimiento tumoral (RCT). En el procedimiento de RCT, los animales son sometidos a eutanasia cuando el neoplasma A375 ha alcanzado un tamaño de 2,0 g. Para todos los grupos se calcularon los valores del número medio de días de supervivencia (DMS). Se comparó el "aumento de la supervivencia" medio ejercido por el tratamiento de diversos grupos entre sí y con los tiempos de supervivencia medios de los ratones que recibieron vehículo. Los valores de DMS calculados para cada grupo en base al día calculado de la muerte de cada ratón se determinan mediante la siguiente fórmula.

Reivindicaciones

1. Un compuesto de fórmula (I):



Formula (I)

en la que:

X, Y y Z son independientemente CH o N;

m es un número entero de 2 a 5;

X, Y y Z incluyen al menos un átomo de CH y al menos un átomo de N;

un átomo de N sólo puede ocupar simultáneamente las dos posiciones de X y Z;

R₁ es Hidrógeno₂; y

R₂ es fenilo (en el que el fenilo está sustituido con un sustituyente de halógeno o heterociclilo) o 1,4-benzodioxinilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

para su uso en un procedimiento para tratar un trastorno seleccionado de cáncer, proliferación anormal de células, vascularización tumoral, angiopatía, angiogénesis, alopecia inducida por quimioterapia, restenosis, aterosclerosis, una vasculopatía inducida por trasplante, formación de neointima, papiloma, fibrosis pulmonar, glomerulonefritis, glomeruloesclerosis, displasia renal multiquística congénita, fibrosis renal, retinopatía diabética, psoriasis o artritis reumatoide, mediante la inhibición de la actividad de una quinasa dependiente de ciclina o una glucógeno sintasa quinasa.

2. El compuesto para su uso como se reivindica en la reivindicación 1 en el que el cáncer es un cáncer de glioma, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, cáncer gástrico, cáncer de esófago, leucemia o linfoma

3. El compuesto para su uso como se reivindica en la reivindicación 1 en el que la restenosis es estenosis en el stent, restenosis vascular del injerto, hiperplasia de la íntima o inflamación de paredes de vasos.

4. El compuesto de Fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 para su uso en un procedimiento para inhibir la proliferación celular en un tumor, mediante la inhibición de la actividad de la quinasa dependiente de la ciclina en el tumor.

5. El compuesto para su uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en el que la quinasa dependiente de la ciclina es quinasa-1 dependiente de la ciclina o quinasa-2 dependiente de la ciclina, preferiblemente quinasa-1 dependiente de la ciclina.

6. Un compuesto de Fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 para su uso en un procedimiento para tratar alopecia inducida por quimioterapia.

7. El compuesto para su uso en cualquiera de las reivindicaciones 1-6 en el que:

X, Y y Z son independientemente CH o N;

m es 3;

X, Y y Z incluyen al menos un átomo de CH y al menos un átomo de N;
 un átomo de N sólo puede ocupar simultáneamente las dos posiciones de X y Z;
 el anillo de heteroarilo así formado es un anillo de piridinilo o pirazinilo;
 el piridinilo está unido al anillo de triazina en la posición 3 ó 4 del anillo de piridina; y
 el pirazinilo está unido al anillo de triazina en la posición 6 del anillo de pirazina.

8. El compuesto para su uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-6 en el que R₂ es fenilo (en el que el fenilo está sustituido con un sustituyente de cloro o 4-morfolino) o 1,4-benzodioxinilo.

9. El compuesto para su uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-6 en el que m es 3; y X, Y, Z, R₁ y R₂ se seleccionan dependientemente entre:

X	Y	Z	R ₁	R ₂
N	CH	CH	H	3-Cl-Ph;
CH	N	CH	H	3-Cl-Ph;
N	CH	N	H	3-Cl-Ph
N	CH	CH	H	2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-ilo;
o				
N	CH	CH	H	4-(4-morfolinil)Ph.

10. Una composición que comprende un compuesto de Fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente apropiado, para su uso en un procedimiento definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

11. La composición para su uso como se reivindica en la reivindicación 10, que está adaptada para proporcionar una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de 0,001 mg/kg/día a 300 mg/kg/día.

12. Un dispositivo médico intraluminal, como un catéter de balón o un stent, que tiene una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 recubierta sobre él para su uso en un método de tratar o reducir la restenosis inhibiendo la actividad de una quinasa dependiente de la ciclina.

13. Una preparación combinada para su uso en un procedimiento definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-6, la preparación combinada comprendiendo un compuesto de Fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 o la composición como se define en la reivindicación 10 ó 11 y al menos un agente quimioterapéutico para la administración combinada, simultánea o secuencial.

14. La preparación combinada para su uso como se reivindica en la reivindicación 13, en la que el agente terapéutico es un agente quimioterapéutico para tratar el cáncer, un agente antiangiogénico, un agente antitumoral, un agente citotóxico o un inhibidor de la proliferación celular.

15. La preparación combinada para su uso como se reivindica en la reivindicación 13 o la reivindicación 14 en la que la cantidad de agente quimioterapéutico se reduce en comparación con la cantidad que se daría en ausencia del compuesto de una cualquiera de Fórmula (I) como se define en la reivindicación 1.