

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 203**

51 Int. Cl.:

**C07D 249/18** (2006.01)

**C07D 263/58** (2006.01)

**A61K 31/4192** (2006.01)

**A61K 31/423** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.09.2010 PCT/EP2010/005641**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.04.2011 WO11044978**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.09.2010 E 10754433 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.07.2016 EP 2488504**

54 Título: **Derivados de sulfóxido para el tratamiento de tumores**

30 Prioridad:

**13.10.2009 DE 102009049211**

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

**20.02.2017**

73 Titular/es:

**MERCK PATENT GMBH (100.0%)  
Frankfurter Strasse 250  
64293 Darmstadt, DE**

72 Inventor/es:

**SCHIAMANN, KAI;  
SCHULTZ, MELANIE y  
STAEHLE, WOLFGANG**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 602 203 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Derivados de sulfóxido para el tratamiento de tumores

Fundamentos de la invención

5 La invención basó el objetivo en encontrar compuestos novedosos con propiedades valiosas, en particular aquellos que pueden ser empleados para la producción de medicamentos.

La presente invención se refiere a compuestos y el uso de compuestos para el tratamiento de enfermedades, que están asociadas con un aumento del nivel de ácido lisofosfatídico, además composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos.

10 En detalle, la presente invención se refiere a compuestos que preferiblemente inhiben una o varias enzimas, que regulan y/o modulan los niveles de ácido lisofosfatídico (LPS), composiciones que contienen estos compuestos, así como métodos para su uso para el tratamiento de enfermedades y padecimientos como angiogénesis, cáncer, aparición, crecimiento y propagación de tumores, arteriosclerosis, enfermedades de los ojos, neovascularización corioidea y retinopatía diabética, enfermedades inflamatorias, artritis, neurodegeneración, restenosis, curación de heridas o rechazo de trasplantes. En particular los compuestos de acuerdo con la invención son adecuados para la  
15 terapia o profilaxis de enfermedades de cáncer.

La autotaxina (ATX) es una enzima responsable por el aumento del nivel de ácido lisofosfatídico en ascites y plasma (Xu et al. 1995, Clinical Cancer Research vol. 1, página 1223 y Xu et al. 1995, Biochem. J. vol- 309, página 933). ATX transforma lisofatidilcolina (LPC) hasta ácido lisofosfatídico (Tokumura et al. 2002, J. Biol. Chem., Vol 277, página 39436 y Umezū-Gozo et al. 2002, J. Biol. Chem., vol. 158, página 227) LPS es un medidor lípido  
20 intercelular, que influye en una variedad de procesos biológicos y bioquímicos, como por ejemplo contracción del músculo liso, agregación de trombocitos y apoptosis (Tigyi et al. 2003 Prog. Lipid Res. vol 42 , página. 498 y Mills et al. 2003 Nat. Rev. Cancer vol. 3, página 582 y Lynch et al. 2001 Prost. Lipid Med.Vol.64, página 33). Además, el LPS se encuentra en elevadas concentraciones en plasma y líquido ascítico de pacientes con cáncer de ovario de las fases temprana y posterior. LPA juega un papel en la proliferación de células de tumor y su invasión en tejidos  
25 adyacentes, la cual puede conducir a metástasis (Xu et al. 1995, Clinical Cancer Research vol. 1, página 1223 y Xu et al. 1995, Biochem. J. vol- 309, página 933). Estos procesos están conectados por la activación mediante LPA de proteína G de receptores acoplados (Contos et al. 2000, Mol. Farm. Vol 58, página 1188).

Por esa razón, para el tratamiento de pacientes con tumor es deseable reducir el nivel de LPS. Esto puede ser alcanzado mediante la inhibición de enzimas, que participan en la biosíntesis del LPS, como por ejemplo autotaxina  
30 (ATX, Sano et al. 2002, J. Biol. Chem. vol. 277, página 21197 y Aoki et al. 2003, J. Biol. Chem. vol. 277 página 48737). La autotaxina pertenece a la familia de enzimas de los nucleótidos pirofosfatasas y fosfodiesterasas (Goding et al. 1998, Immunol. Rev. vol. 161, página 11) y representa un importante punto de apoyo en la terapia antitumoral (Mills et al. 2003 Nat. Rev. Cancer vol. 3, página 582 y Goto et al. 2004 J. Cell. Biochem. vol. 92, página 1115), puesto que se expresa fuertemente en tumores y proliferación de células del tumor y su invasión a tejidos  
35 adyacentes, lo cual puede conducir a metástasis (Nam et al. 2000, Oncogene, vol. 19 página 241). Además, la autotaxina junto con otros factores angiogénicos causa una formación de vasos sanguíneos en el marco de la angiogénesis (Nam et al. 2001, Cancer Res. vol. 61 página 6938). La angiogénesis es un evento importante en el crecimiento del tumor, que asegura el abastecimiento de tumor con nutrientes.

40 Por esa razón, la inhibición de la angiogénesis es un punto de apoyo importante en la terapia de cáncer y tumores, en la cual el tumor debería morir por falta de alimento (Folkman, 2007, Nature Reviews Drug Discovery vol. 6, página 273-286).

Además, la autotaxina controla por medio de la transformación de LPC en LPA, la inmigración de células T en órganos linfáticos secundarios. Las células T Naive se mueven en organismos sanos de manera permanente entre la sangre y órganos linfáticos secundarios, los nudos linfáticos. Para entrar a los nudos linfáticos desde la corriente  
45 sanguínea, las células T tienen que superar vasos sanguíneos especializados, denominados vénulas endoteliales altas (HEV). En ese proceso participa la autotaxina. Las células HEV segregan autotaxina en la corriente sanguínea. Esta se une a las células T y transforma en su superficie LPC en LPA. LPA se une nuevamente a receptores específicos en la superficie de las células T y aumenta su capacidad de migrar a los nudos linfáticos. El tratamiento de células T con un mutante de autotaxina, que es enzimáticamente inactivo, reduce su capacidad de  
50 entrar a los nudos linfáticos (Kanda, H., et al., Autotaxin, an ectoenzyme that produces Lysofosfatidic acid, promotes the entry of lymphocytes into secondary lymphoid organs. Nat Immunol, 2008. 9(4): p. 415-23). El tratamiento de las células T con los inhibidores desarrollados, puede asimismo bloquear su migración a los nudos linfáticos. Durante una inflamación, las células T pueden ingresar también a otros tejidos corporales y allí promover la reacción de inflamación, lo cual puede conducir a un deterioro del órgano. En el modelo animal pudo mostrarse que los vasos

sanguíneos en tejidos inflamados comienzan a expresar autotaxina [(Nakasaki, T., et al., Involvement of the lysofosfatidic acid-generating enzyme autotaxin en lymphocyte-endothelial annehmencell interactions. Am J Pathol, 2008. 173(5): p. 1566-76). De allí que es de suponer que durante una inflamación, la autotaxina también puede modular la migración de células T a tejidos corporales. Realmente, en humanos se encuentra también una elevada producción de autotaxina tanto en tejido intestinal inflamado en enfermedades de inflamación crónica del intestino (Wu, F., et al., Genome-wide gene expression differences en Crohn's disease and ulcerative colitis from endoscopic pinch biopsies: insights into distinctive pathogenesis. Inflamm Bowel Dis, 2007. 13(7): p. 807-21) como también en articulaciones afectadas (Nochi, H., et al., Stimulatory role of lysofosfatidic acid en cyclooxygenase-2 induction by synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis en fibroblast-like synovial cells. J Immunol, 2008. 181(7): p. 5111-9.) y fibroblastos sinoviales (Kehlen, A., et al., IL-1 beta- and IL-4-induced down-regulation of autotaxin mRNA and PC-1 en fibroblast-like synoviocytes of patients with rheumatoid arthritis (RA). Clin Exp Immunol, 2001. 123(1): p. 147-54.) de pacientes con artritis. Puesto que la migración de células T a tejidos juega un papel en ambas enfermedades inflamatorias, la inhibición de autotaxina puede prevenir este proceso y así tener una influencia positiva en el transcurso de la enfermedad.

Se encontró de modo sorprendente que los compuestos de acuerdo con la invención provocan una inhibición específica de la familia de enzimas de las nucleótido pirofosfatasas y fosfodiesterasas, en particular autotaxina. Los compuestos de acuerdo con la invención muestran preferiblemente una actividad biológica ventajosa, que es comprobable fácilmente en los ensayos descritos aquí como ejemplo. En tales ensayos los compuestos de acuerdo con la invención muestran y provocan preferiblemente un efecto inhibitorio, el cual usualmente está documentado mediante los valores IC<sub>50</sub> en un intervalo adecuado, preferiblemente en el intervalo micromolar y más preferiblemente en el intervalo nanomolar.

En general, todos los tumores sólidos y no sólidos pueden ser tratados con los compuestos de las fórmulas la a Im, como por ejemplo la leucemia monocítica, carcinoma de cerebro, urogenital, del sistema linfático, del estómago, de laringe y pulmones, Entre ellos adenocarcinoma pulmonar y carcinoma pulmonar de célula pequeña. Entre otros ejemplos se cuentan carcinoma de próstata, de páncreas y de mama.

Como se discutió aquí, para diferentes enfermedades son relevantes los efectos del compuesto de acuerdo con la invención. De modo correspondiente, los compuestos de acuerdo con la invención son útiles en la profilaxis y/o tratamiento de enfermedades, sobre las que puede influirse por una inhibición de una o varias nucleótido pirofosfatasas y/o fosfodiesterasas, en particular autotaxina. Por ello, son objetivo de la presente invención compuestos de acuerdo con la invención, como medicamentos y/o principios activos medicinales para el tratamiento y/o profilaxis de las enfermedades mencionadas y el uso de los compuestos de acuerdo con la invención para la producción de un agente farmacéutico para el tratamiento y/o profilaxis de las mencionadas enfermedades, como también un método para el tratamiento de las mencionadas enfermedades incluyendo la administración de uno o varios compuestos de acuerdo con la invención a un paciente que necesita de tal administración.

Puede mostrarse que los compuestos de acuerdo con la invención, en un modelo de tumor-xenotransplante, exhiben un efecto ventajoso.

El anfitrión o huésped puede pertenecer a toda especie de mamíferos, por ejemplo una especie de primates, en particular humanos; roedores, incluyendo ratones, ratas y hámster; conejos; caballos, bovinos, perros, gatos, etc.. Los modelos de animales son de interés para investigaciones experimentales, en los que ponen a disposición un modelo para el tratamiento de una enfermedad de humanos.

La sensibilidad de una célula determinada frente al tratamiento con los compuestos de acuerdo con la invención, puede ser definida mediante pruebas in vitro. Típicamente, se combina un cultivo de la célula con un compuesto de acuerdo con la invención, a diferentes concentraciones, por una duración de tiempo que es suficiente para hacer posible que el agente activo induzca la muerte celular o inhiba la migración, comúnmente entre aproximadamente unas horas y unas semanas. Para las pruebas in vitro pueden usarse células cultivadas de una muestra de biopsia. Las células que permanecen viables después del tratamiento son entonces contadas.

Las dosificaciones varían dependiendo del compuesto específico usado, la enfermedad específica, del estado del paciente, etc... Típicamente, es suficiente una dosificación terapéutica, para reducir de manera considerable la población de células no deseadas en el tejido objetivo, mientras se mantiene la viabilidad del paciente. En general, se continúa el tratamiento hasta que se presenta una reducción considerable, por ejemplo reducción de por lo menos aproximadamente 50 % de la carga celular, y puede continuarse hasta que esencialmente no pueda detectarse ya ninguna célula no deseada en el cuerpo.

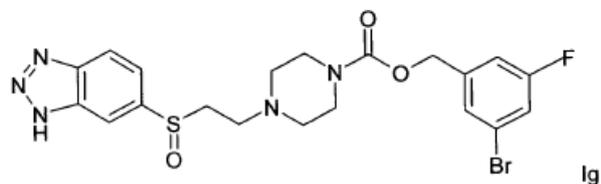
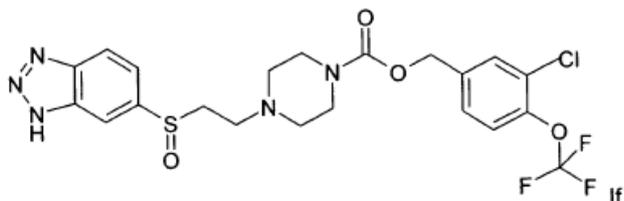
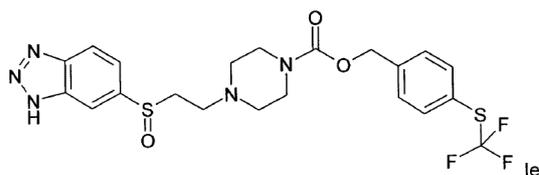
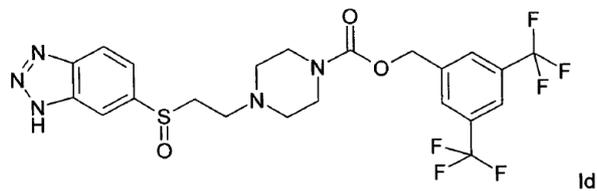
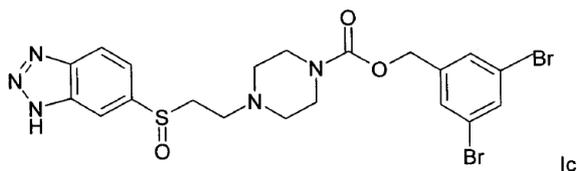
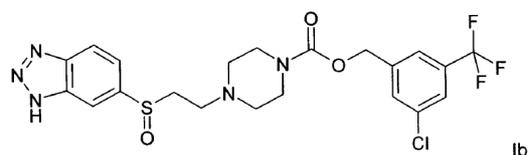
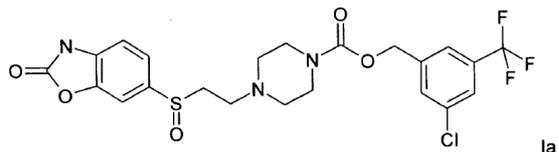
Estado de la técnica

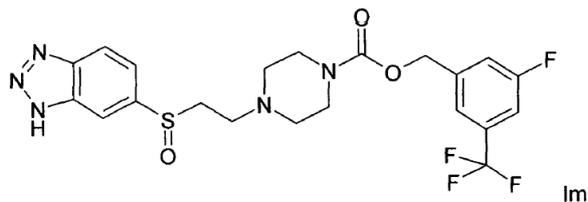
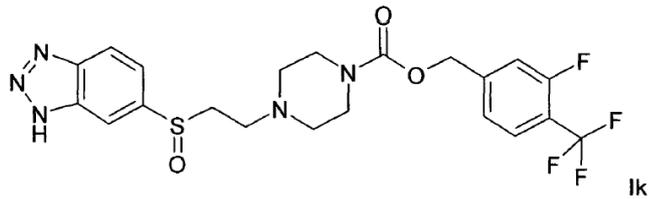
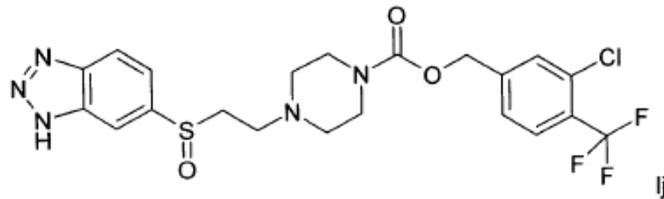
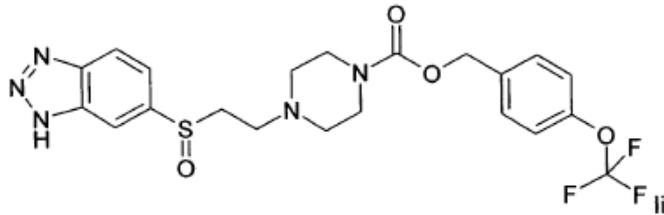
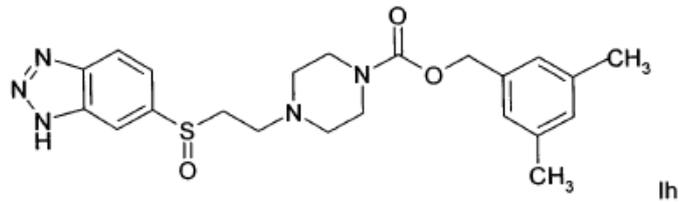
En el documento W02009046841 se describen otros sulfóxidos que son capaces de inhibir la autotaxina.

En los documentos WO 2002085352, WO 2002030422, EP 1002535, WO 9818793, EP 385848, FR 2637286, WO 2005097782, EP 709384, EP 396282, EP 49203 se describen otros derivados heterocíclicos.

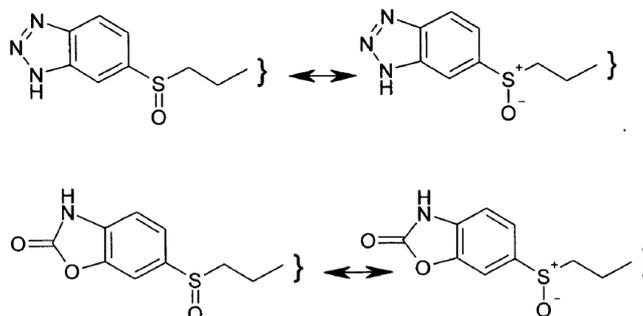
Resumen de la invención

5 Son objetivo de la invención los compuestos de las fórmulas la a Im:

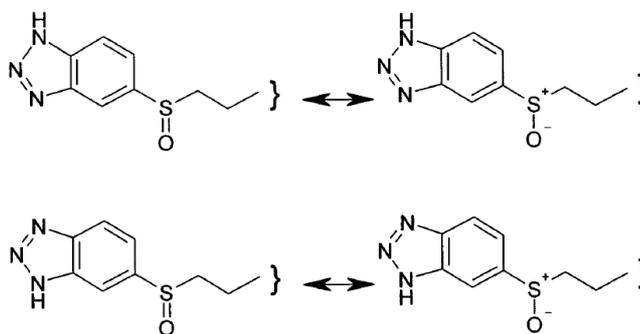




- 5 En el objetivo de la invención están también formas ópticamente activas (estereoisómeros), los enantiómeros y tautómeros como se representan a continuación, los racematos, los diastereoisómeros como las sales, hidratos y solvatos de estos compuestos. Se entiende por solvatos de los compuestos, acumulaciones de moléculas inertes de solvente sobre los compuestos, que se forman debido a su fuerza de atracción recíproca. Son solvatos por ejemplo mono- o dihidratos o alcoholatos. Los sulfóxidos pueden presentarse también como formas bipolares resonantes. De aquí aparece el azufre como centro de quiralidad y con ello la presencia de enantiómeros:
- 10



Tautómeros:



5 Se entiende por derivados farmacéuticamente utilizables por ejemplo las sales de los compuestos de acuerdo con la invención, como también los denominados compuestos promedicamento.

Se entiende por derivados promedicamento los compuestos de la fórmula I modificados por ejemplo con grupos alquilo o acilo, azúcares u oligopéptidos, que son escindidos rápidamente en el organismo hasta dar los compuestos eficaces de acuerdo con la invención.

10 A ellos pertenecen también derivados de polímeros biodegradables de los compuestos de acuerdo con la invención, como se describen por ejemplo en Int. J. Pharm. 115, 61-67 (1995).

La expresión "cantidad eficaz" significa una cantidad de un medicamento o un principio activo farmacéutico, que provoca una respuesta biológica o medicinal en un tejido, sistema, animal o humano, la cual es deseada o buscada por ejemplo por un investigador o médico.

15 Además, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad que, comparada para un sujeto correspondiente que no ha recibido esta cantidad, tiene las siguientes consecuencias:

Tratamiento curativo mejorado, curación, prevención o eliminación de una enfermedad, de unos síntomas, una condición médica, un sufrimiento, un trastorno o de efectos secundarios o también para evitar el progreso de una enfermedad, un sufrimiento o un trastorno.

20 La denominación "cantidad terapéuticamente eficaz" abarca también las cantidades que son efectivas para aumentar la función fisiológica normal.

Es también objetivo de la invención el uso de mezclas de compuestos de acuerdo con la invención, por ejemplo mezclas de dos diastereoisómeros por ejemplo en relaciones 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:10, 1:100 o 1:1000. Se prefieren mezclas de compuestos estereoisoméricos.

25 Los compuestos de las fórmulas la a Im y también los materiales de partida para su producción son, aparte de ello, es que el estrés producidos por métodos de por sí conocidos, como se describen en la literatura (por ejemplo los trabajos estándar como Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, editorial Georg-Thieme, Stuttgart), y concretamente bajo condiciones de reacción que son conocidas y adecuadas para las transformaciones mencionadas. Al respecto pueden usarse también variantes de por sí conocidas no mencionadas aquí en detalle.

30 Los materiales de partida pueden, en caso de desearse, ser formados también in situ, de modo que ellos no se aislan de la mezcla de reacción, sino que son transformados de inmediato nuevamente hasta los compuestos la a

Im de acuerdo con la invención.

Como solventes inertes son adecuados por ejemplo hidrocarburos como hexano, éter de petróleo, benceno, tolueno o xileno; hidrocarburos clorados como tricloroetileno, 1,2-dicloroetano, tetracloruro de carbono, cloroformo o diclorometano; alcoholes como metanol, etanol, isopropanol, n-propanol, n-butanol o tert.-butanol; éteres como dietiléter, diisopropiléter, tetrahidrofurano (THF) o dioxano; glicoléteres como etilenglicolmono-metil- o -monoetiléter (metilglicol o etilglicol), etilen-glicoldimetiléter (diglima); cetonas como acetona o butanona; amidas como acetamida, dimetilacetamida o dimetilformamida (DMF); nitrilos como acetonitrilo; sulfóxidos como dimetilsulfóxido (DMSO); sulfuro de carbono; ácidos carboxílicos como ácido fórmico o ácido acético; nitrocompuestos como nitrometano o nitrobenceno; ésteres como acetato de etilo o mezclas de los solventes mencionados.

10 Se prefieren particularmente acetonitrilo, diclorometano y/o DMF.

Los compuestos de acuerdo con la invención se usan en su forma final no salina disponible. Por otro lado, la presente invención incluye también el uso de estos compuestos en forma de su sal farmacéuticamente inocua, que pueden derivarse de diferentes ácidos y bases orgánicos e inorgánicos, según procedimientos conocidos por los expertos. Las formas salinas farmacéuticamente inocuas de los compuestos la a Im son producidas en su mayor parte de manera convencional. En tanto los compuestos de las fórmulas la a Im contengan un grupo ácido carboxílico, se forma una de sus sales adecuadas mediante la reacción del compuesto con una base adecuada hasta la correspondiente sal básica de adición. Tales bases son por ejemplo hidróxidos de metales alcalinos, entre ellos hidróxido de potasio, hidróxido de sodio e hidróxido de litio; óxidos de metales alcalinotérreos como hidróxido de bario e hidróxido de calcio; alcoholatos de metales alcalinos, por ejemplo etanolato de potasio y propanolato de sodio; así como diferentes bases orgánicas como piperidina, dietanolamina y N-metilglutamina. Las sales de aluminio de los compuestos la a Im se cuentan asimismo entre ellas. Para determinados compuestos de las fórmulas la a Im se forman sales ácidas de adición mediante tratamiento de estos compuestos con ácidos orgánicos e inorgánicos farmacéuticamente inocuos como por ejemplo halogenuro de hidrógeno como cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno o yoduro de hidrógeno, otros ácidos minerales y sus correspondientes sales como sulfato, 25 nitrato o fosfato y similares así como alquil- y monoarilsulfonatos como etanosulfonato, toluenosulfonato y bencenosulfonato, así como otros ácidos inorgánicos y orgánicos y sus correspondientes sales como acetato, trifluoracetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato, ascorbato y similares. De modo correspondiente se cuentan entre sales ácidas de adición farmacéuticamente inocuas de los compuestos de la fórmula I, las siguientes: acetato, adipato, alginato, arginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato (besilato), 30 bisulfato, bisulfito, bromuro, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, caprilato, cloruro, clorobenzoato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dihidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, galacterato (de ácido múcico), galacturonato, glucoheptanoato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, hemisuccinato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hipurato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, yoduro, isotionato, isobutirato, lactato, lactobionato, malato, maleato, malonato, mandelato, metafosfato, metanosulfonato, metilbenzoato, monohidrogenofosfato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, oleato, pamoato, pectinato, 35 persulfato, fenilacetato, 3-fenilpropionato, fosfato, fosfonato, ftalato, lo cual no representa ninguna limitación.

Además, entre las sales básicas de los compuestos de acuerdo con la invención se cuentan sales de aluminio, amonio, calcio, hierro (III), hierro (II), litio, magnesio, manganeso (III), manganeso (II), potasio, sodio y zinc, lo cual sin embargo no debería representar ninguna limitación. Entre las sales mencionadas arriba se prefieren las de amonio; las sales de metales alcalinos sodio y potasio, así como sales de metales alcalinotérreos calcio y magnesio. entre las sales de los compuestos la a Im, que se derivan de bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente inocuas, se cuentan sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, entre ellas también aminas sustituidas de ocurrencia natural, aminas cíclicas así como resinas básicas de intercambio iónico por ejemplo arginina, betaina, cafeína, cloroprocaina, colina, N,N'-dibenciletilendiamina 45 (benzatina), diciclohexilamina, dietanolamina, dietilamina, 2-dietil-aminoetanol, 2-dimetilaminaoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, iso-propilamina, lidocaina, lisina, meglumina, N-metil-D-glucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resina de poliamina, procaina, purinas, teobromina, trietanolamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina así como tris-(hidroximetil)-metilamina (trometamina), lo cual sin embargo no debería representar ninguna limitación.

50 Compuestos de la presente invención que contienen grupos básicos que tienen nitrógeno se dejan transformar en cuaternarios, con agentes como halogenuros de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), por ejemplo cloruro, bromuro y yoduro de metilo, etilo, isopropilo y tert.butilo; sulfatos de dialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), por ejemplo sulfato de dimetilo, dietilo y diamilo; halogenuros de alquilo (C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>), por ejemplo cloruro, bromuro y yoduro de decilo, dodecilo, laurilo, miristilo y estearilo; halogenuros de aril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), por ejemplo cloruro de bencilo y bromuro de fenetilo. Con tales sales 55 pueden producirse compuestos de acuerdo con la invención solubles tanto en agua como en aceite.

Entre las sales farmacéuticas mencionadas arriba que son preferidas, se cuentan acetato, trifluoracetato, besilato,

citrato, fumarato, gluconato, hemisuccinato, hipurato, clorhidrato bromhidrato, isotionato, mandelato, meglumina, nitrato, oleato, fosfonato, pivalato, fosfato de sodio, estearato, sulfato, sulfosalicilato, tartrato, tiomalato, tosilato y trometamina, lo cual sin embargo no debería representar ninguna limitación.

5 Las sales básicas de adición de las fórmulas la a Im son producidas mediante puesta en contacto de la forma libre de las bases con una cantidad suficiente del ácido deseado, con lo cual se representa de manera común la sal. La base libre se regenera mediante la puesta en contacto de la forma salina con una base y el aislamiento de la base libre de la manera común. Las formas de base libres se diferencian en cierto sentido de sus correspondientes formas salinas, en relación con determinadas propiedades físicas como solubilidad en solventes polares; en el marco de la invención, sin embargo por lo demás las sales corresponden a sus respectivas formas básicas libres.

10 Como se mencionó, se forman las sales básicas de adición farmacéuticamente inocuas de los compuestos de las fórmulas la a Im con metales o aminos como metales alcalinos y metales alcalinotérreos o aminos orgánicas. Son metales preferidos sodio, potasio, magnesio y calcio. Son aminos orgánicas preferidas N,N'-dibenciletildiamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilendiamina, N-metil-D-glucamina y procaina.

15 Las sales básicas de adición de los compuestos ácidos de acuerdo con la invención son producidas mediante puesta en contacto de la forma ácida libre con una cantidad suficiente de la base deseada, con lo que se representa la sal de manera común. El ácido libre se regenera mediante puesta en contacto de la forma salina con un ácido y aislamiento del ácido libre de la forma corriente. Las formas de ácido libre se diferencian en cierto sentido de sus correspondientes formas salinas respecto a determinadas propiedades físicas, como solubilidad en solventes polares; en el marco de la invención, sin embargo las sales corresponden por demás a sus respectivas formas ácidas libres.

20 Si un compuesto de acuerdo con la invención contiene más de un grupo que puede formar tal sal farmacéuticamente inocua, entonces la invención abarca también sales polivalentes. Entre las formas polivalentes típicas de sales se cuentan por ejemplo bitartrato, diacetato, difumarato, dimeglumina, difosfato, disodio y triclorhidrato, lo cual sin embargo no debería representar ninguna limitación.

25 En vista de lo dicho arriba, se ve que en la presente relación bajo la expresión "sal farmacéuticamente inocua" se entiende un principio activo que contiene un compuesto de las fórmulas la a Im en la forma de una de sus sales, en particular entonces cuando ésta forma de sal otorga al principio activo, en comparación con la forma libre del principio activo o cualquier otra forma de sal del principio activo, que fue usado anteriormente, propiedades farmacocinéticas mejoradas. La forma salina farmacéuticamente inocua del principio activo puede impartir también a este principio activo ya una propiedad farmacocinética deseada, de la cual él no disponía antes, y concretamente puede influir positivamente en la farmacodinámica de este principio activo, respecto a su eficacia terapéutica en el cuerpo.

30 Son objetivo de la invención además medicamentos, que contienen por lo menos un compuesto de las fórmulas la a Im y/o sus estereoisómeros farmacéuticamente útiles, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, así como dado el caso vehículos y/o sustancias auxiliares.

35 Las formulaciones farmacéuticas pueden ser dosificadas en forma de unidades de dosificación que contienen una cantidad determinada de principio activo por unidad de dosificación. Una unidad así puede contener por ejemplo 0,5 mg a 1 g, preferiblemente 1 mg a 700 mg, de modo particular preferiblemente 5 mg a 100 mg de un compuesto de acuerdo con la invención, dependiendo del estado de enfermedad que se está tratando, de la ruta de administración y la edad, peso y estado del paciente, o las formulaciones farmacéuticas pueden ser administradas en forma de unidades de dosificación que contienen una cantidad determinada de principio activo por unidad de dosificación. Las formulaciones de unidad de dosificación preferidas son aquellas que contienen una dosificación diaria o dosificación parcial de un principio activo, como se indicó arriba, o una fracción correspondiente de él. Además, tales formulaciones farmacéuticas se producen con uno de los métodos conocidos en general en la especialidad farmacéutica.

40 Las formulaciones farmacéuticas se adaptan para la administración a cualquier ruta adecuada, por ejemplo a rutas oral (incluyendo bucal o bien sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Tales formulaciones pueden ser producidas con todos los métodos conocidos en la especialidad farmacéutica, en lo cual se recuerda por ejemplo el principio activo con el o bien los vehículo o sustancias auxiliares.

45 Las formulaciones farmacéuticas ajustadas a la administración oral pueden ser administradas como unidades separadas, como por ejemplo cápsulas o comprimidos; polvos o granulados; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas comestibles o alimentos en espuma; o emulsiones líquidas aceite en agua o emulsiones líquidas agua en aceite.

De este modo, para la administración oral en forma de un comprimido o cápsula los componentes de principio activo se combinan por ejemplo con un vehículo oral inerte farmacéuticamente inocuo y no tóxico, como por ejemplo etanol, glicerina, agua, entre otros. Se producen polvos, en lo cual el compuesto se desmenuza hasta un tamaño fino adecuado y se mezcla con un vehículo farmacéutico desmenuzado de manera similar, como por ejemplo un hidrato de carbono comestible, como por ejemplo almidón o manitol. Así mismo pueden estar presentes saborizante, agente conservante, agente dispersante y colorante.

Se producen cápsulas, en lo cual se produce una mezcla en polvo como se describió arriba y se llenan con ella envolturas de gelatina moldeadas. Antes de la operación de llenado, a la mezcla en polvo pueden añadirse lubricantes y lubrificantes como ácido silícico altamente disperso, talco, estearato de magnesio, estearato de potasio o polietilenglicol en forma sólida. Así mismo pueden añadirse un agente de explosión o promotor de disolución, como por ejemplo agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio, para mejorar la disponibilidad del medicamento después de la ingesta de la cápsula.

Además, en caso de ser necesario o desearse pueden incorporarse así mismo a la mezcla aglutinantes, lubricantes y desintegrantes así como colorantes adecuados. A los aglutinantes adecuados pertenecen almidón, gelatina, azúcar natural, como por ejemplo glucosa o beta-lactasa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, como por ejemplo acacia, goma tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, entre otros. A los lubricantes usados en estas formas de dosificación pertenecen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio, entre otros. A los lubricantes pertenecen, sin que ello sea limitante, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantano, entre otros. Se formulan comprimidos, en lo cual por ejemplo se produce, granula o comprime en seco una mezcla de polvo, se añaden un agente lubricante y un agente lubricante y se comprime la totalidad hasta dar comprimidos. Se produce una mezcla en polvo, en lo cual un compuesto desmenuzado de manera adecuada se mezcla con un agente diluyente o una base, como se describió arriba, y dado el caso se mezcla con una aglutinante, como por ejemplo carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un agente de retardo de disolución, como por ejemplo parafina, un acelerador de reabsorción, como por ejemplo una sal cuaternaria y/o un agente de absorción, como por ejemplo bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. se transforma en gránulos la mezcla en polvo, en lo cual se humedece con una aglutinante, como por ejemplo jarabe, pasta de almidón, mucosa de Acacia o soluciones de materiales de celulosa o de polímero y se comprimen mediante una criba. Como alternativa a la formación de gránulos, puede pasarse la mezcla en polvo a través de una máquina de formación de comprimidos, con lo cual surgen grumos de forma irregular, que se rompen en granulados. Los granulados pueden ser engrasados por adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral, para impedir la adherencia a los moldes de comprimidos. Entonces se comprime la mezcla engrasada hasta dar comprimidos. Los compuestos de acuerdo con la invención pueden ser combinados también con un vehículo inerte de libre fluidez y entonces, sin realizar la etapa de formación de gránulos o compresión en seco, es comprimida directamente hasta dar comprimidos. Puede estar presente una capa protectora transparente o no transparente, consistente en un sellamiento de goma laca, una capa de azúcar, un material de polímero y una capa brillante de cera. A estos recubrimientos pueden añadirse colorantes, para poder distinguir entre diferentes unidades de dosificación.

Pueden producirse líquidos orales, como por ejemplo solución, jarabe y elixir, en forma de unidades de dosificación, de modo que contienen una cantidad dada de un montante preestablecido del compuesto. Se producen jarabes, en lo cual se disuelve el compuesto en una solución acuosa con saborizante adecuado, mientras se producen elixires usando un vehículo alcohólico no tóxico. Pueden formularse suspensiones mediante la dispersión del compuesto en un vehículo no tóxico. Así mismo, pueden añadirse promotores de disolución y emulsificantes, como por ejemplo isoestearilalcoholes etoxilados y polioxietilensorbitol éter, agentes conservantes, adiciones saborizantes, como por ejemplo aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales.

Las formulaciones de unidades de dosificación para la administración oral pueden, dado el caso, estar incluidas en microcápsulas. También se produce la formulación de modo que se retarda o prolonga la liberación, como por ejemplo mediante el recubrimiento o integración del material en partículas dentro de polímeros, ceras, entre otros.

Los compuestos de las fórmulas la a Im así como sales y derivados de ellos fisiológicamente funcionales son administrados también en forma de sistemas de suministro de liposomas, como por ejemplo pequeñas vesículas de una sola lámina, vesículas grandes de una sola lámina y vesículas de varias láminas. Los liposomas pueden estar formados de diferentes fosfolípidos, como por ejemplo colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Los compuestos de las fórmulas la a Im así como las sales y derivados de ellos fisiológicamente funcionales, pueden ser suministrados también mediante el uso de anticuerpos monoclonales como vehículos individuales, a los cuales están acopladas las moléculas de los compuestos. Los compuestos pueden estar acoplados también con polímeros solubles como vehículos de medicamentos enfocados al objetivo. Tales polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímeros de pirano, poli-hidroxipropilmetacrilamidafenol, polihidroxietilaspirtamidafenol o

5 polietilenoóxido-polilisina, sustituida con radicales de palmitoilo. Además, los compuestos pueden acoplarse a una clase de polímeros que pueden ser degradados biológicamente, que son adecuados para alcanzar una liberación controlada de un medicamento, por ejemplo ácido poliláctico, poliepsilon-caprolactona, ácido polihidroxi-bútrico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidroxipirano, policianoacrilatos y copolímeros de bloque entrecruzados o anfipáticos de hidrogeles.

En la administración transdérmica las formulaciones farmacéuticas ajustadas pueden ser administradas como parches independientes para contacto estrecho más prolongado con la epidermis del receptor. De este modo, por ejemplo puede conducirse el principio activo desde el parche por medio de iontoforesis, como se describe en general en *Pharmaceutical Research*, 3(6), 318 (1986).

10 En la administración tópica, los compuestos farmacéuticos ajustados pueden ser formulados como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, atomizados, aerosoles o aceites.

15 Para los tratamientos de los ojos u otros tejidos externos, por ejemplo boca y piel, se aplican las formulaciones preferiblemente como cremas o pomadas tópicas. Para la formulación para una pomada, el principio activo puede bien sea ser usado con una base de crema parafínica o una miscible con agua. De modo alternativo, el principio activo puede ser formulado hasta una crema con una base de crema aceite en agua o una base agua en aceite.

A las formulaciones farmacéuticas ajustadas a la aplicación tópica en los ojos, pertenecen gotas para los ojos, en las que el principio activo está disuelto o suspendido en un soporte adecuado, en particular un solvente acuoso.

En la aplicación tópica en la boca, las formulaciones farmacéuticas ajustadas incluyen comprimidos para chupar, pastillas y enjuagues bucales.

20 En la administración rectal, las formulaciones farmacéuticas ajustadas pueden suministrarse en forma de supositorios o enemas.

25 En la administración nasal se suministran las formulaciones farmacéuticas ajustadas en las que la sustancia soporte es un sólido, contienen un polvo grueso con un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 20-500 micrómetros, el cual es inhalado del modo y forma como un tabaco para aspiración, es decir mediante inhalación rápida con el polvo por las vías nasales desde un recipiente hermético mantenido en la nariz. Las formulaciones adecuadas para la administración como atomizados para la nariz o gotas para la nariz con un líquido como sustancia vehículo, incluyen soluciones de principio activo en agua o aceite.

30 En la administración mediante inhalación, las formulaciones farmacéuticas ajustadas incluyen polvo o niebla de partícula fina, que pueden ser generados por medio de diferentes clases de dispensadores de dosificación que están supeditados a la presión, con aerosoles, nebulizadores o insufladores.

En la administración vaginal, las formulaciones farmacéuticas ajustadas pueden ser suministradas como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de atomización.

35 A las formulaciones farmacéuticas ajustadas a la administración parenteral pertenecen soluciones acuosas y no acuosas estériles para inyección, que contienen antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos, mediante los cuales la formulación puede ser hecha isotónica con la sangre del receptor que va a ser tratado; así mismo suspensiones estériles acuosas y no acuosas, que pueden contener agentes de suspensión y espesantes. Las formulaciones pueden ser administradas en contenedores de dosificación individual o múltiple, por ejemplo ampollas y frascos sellados y ser almacenadas en estado seco por congelación (liofilizado), de modo que sólo es necesaria la adición de líquidos de soporte estériles, por ejemplo agua para propósitos de inyección, inmediatamente antes del uso. Las soluciones de inyección y suspensiones producidas de acuerdo a la receta pueden ser fabricadas a partir de polvos, granulados y comprimidos estériles.

40 Se entiende que las formulaciones, aparte de los componentes particulares mencionados arriba, pueden contener otros agentes comunes en especialidad, en referencia al respectivo tipo de la formulación; así, por ejemplo para la administración oral de formulaciones adecuadas, pueden contener saborizantes.

45 Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de las fórmulas la a Im depende de una serie de factores, incluyendo por ejemplo la edad y peso del animal, el estado exacto de la enfermedad, la necesidad de tratamiento, así como su severidad, la naturaleza de la formulación así como la ruta de administración, y es determinada finalmente por el médico o bien veterinario tratante. Sin embargo existe una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la invención para el tratamiento de crecimiento neoplásico, por ejemplo carcinoma de intestino grueso  
50 o mama, en general en el intervalo 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal del receptor (mamífero) por día y en particular típicamente en el intervalo de 1 a 10 mg/kg de peso corporal por día. Con ello para un mamífero enfermo adulto de 70 kg la cantidad real por día comúnmente estaría entre 70 y 700 mg, en la que esta cantidad puede ser dada como

dosificación individual por día, o más comúnmente en una serie de dosificaciones parciales (como por ejemplo dos, tres, cuatro, cinco o seis) por día, de modo que la dosificación total diaria es la misma. Una cantidad eficaz de una sal o solvato o un derivado de ellos fisiológicamente funcional puede ser determinada per se como parte de la cantidad eficaz del compuesto de acuerdo con la invención. Se acepta que son adecuadas dosificaciones similares para el tratamiento de los otros estados de enfermedad mencionados arriba.

5

Además, son objetivo de la invención medicamentos que contienen por lo menos un compuesto de las fórmulas la a Im y/o sales, solvatos, enantiómeros, tautómeros y estereoisómeros, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, y por lo menos otro principio activo medicinal.

Es objetivo de la invención también un conjunto (kit), que consiste en empaques separados de

10 (a) una cantidad eficaz de un compuesto de las fórmulas la a Im y/o sus estereoisómeros farmacéuticamente útiles, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, y

(b) una cantidad eficaz de otro principio activo medicinal.

15 El conjunto contiene un contenedor adecuado, como cajas o cartulinas, frascos individuales, bolsas o ampollas. Por ejemplo, el conjunto puede contener ampollas separadas, en las cuales está presente disuelto o en forma liofilizada en cada caso una cantidad eficaz de un compuesto de las fórmulas la a Im y/o sus estereoisómeros farmacéuticamente útiles, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, y una cantidad eficaz de otro principio activo medicinal.

20 Se prefieren los compuestos la-Im para el uso en enfermedades tumorales como fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomas, rhabdomiomas, carcinoma de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células de placas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, papilocarcinoma, papiloadenocarcinomas, cistadenocarcinomas, carcinoma de médula ósea, carcinoma broncogénico, carcinoma de células de riñón, hepatoma, carcinoma de conductos biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer cervical, carcinoma testicular, carcinoma pulmonar, carcinoma pulmonar de célula pequeña, carcinoma de vejiga, carcinoma de epitelio, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemia, linfoma, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström y enfermedad de cadena pesada.

30 Preferiblemente se combinan los compuestos de las fórmulas la a Im con los agentes contra el cáncer conocidos:

Entre estos agentes contra el cáncer conocidos se cuentan los siguientes: moduladores de receptor de estrógeno, moduladores de receptor andrógeno, moduladores de receptor retinoide, citotóxicos, agentes antiproliferativos, inhibidor de prenil-proteína transferasa, inhibidor de HMG-CoA-reductasa, inhibidor de HIV-proteasa, inhibidor de transcriptasa inversa así como otros inhibidores de angiogénesis. Los presentes compuestos son adecuados en particular para el uso conjunto con radioterapia. Los efectos sinérgicos de la inhibición de VEGF en combinación con radioterapia habían sido descritos en el mundo profesional (véase WO 00/61186). Los "moduladores de receptor de estrógenos" se refieren a compuestos que interfieren en la unión del estrógeno al receptor o la inhiben, y concretamente independientemente de ello, como ocurre. Entre los moduladores de receptor de estrógeno se cuentan por ejemplo Tamoxifen, Raloxifen, Idoxifen, LY353381, LY 117081, Toremifen, Fulvestrant, 4-[7-(2,2-dimetil-1-oxopropoxi-4-metil-2-[4-[2-(1-piperidinil)etoxi]fenil]-2H-1-benzopiran-3-il]fenil-2,2-dimetilpropanoato, 4,4'-dihidroxibenzo-fenon-2,4-dinitrofenilhidrazona y SH646, lo cual sin embargo no debería representar ninguna limitación.

45 "Los moduladores de receptor andrógeno" se refieren a compuestos, que interfieren en la unión del andrógeno al receptor o la inhiben, y concretamente independientemente de ello, como ocurre. Entre los moduladores de receptor andrógeno se cuentan por ejemplo Finasterid y otros inhibidores reductasa 5 $\alpha$ , Nilutamid, Flutamid, Bicalutamid, Liarozol y abirateron-acetato.

50 "Los moduladores de receptor de retinoide" se refieren a compuestos, que interfieren en la unión de retinoides al receptor o la inhiben, y concretamente independientemente de ello, como ocurre. Entre tales moduladores de receptor de retinoide se cuentan por ejemplo Bexaroten, Tretinoin, ácido 13-cis-retinoico, ácido 9-cis-retinoico,  $\alpha$ -difluorometilornitina, ILX23-7553, trans-N-(4'-hidroxi-fenil)retinamida y N-4-carboxifenilretinamida.

"Citotóxico" se refiere a compuestos, que en primera línea mediante acción directa sobre la función celular conducen a la muerte celular o que inhiben la miosis o interfieren en ella, entre ellos agentes de introducción de grupos alquilo, factores de necrosis tumoral, agentes de intercalación, inhibidor de microtubulina e inhibidor de

topoisomerasa.

Entre los citotóxicos se cuentan por ejemplo Tirapazimin, Sertenef, cachectina, Ifosfamid, Tasonermin, Lonidamin, carboplatino, Altretamin, Prednimustin, Dibromdulcit, Ranimustin, Fotemustin, Nedaplatin, Oxaliplatin, Temozolomid, heptaplatino, Estramustin, improsulfan-tosilato, Trofosfamid, Nimustin, cloruro de dibrospidio, Pumitepa, Lobaplatin, 5 Satraplatin, profiromicina, Cisplatin, Irofulven, Dexifosfamid, cis-amindicloro(2-metilpiridin)platino, Bencilguanin, Glufosfamid, GPX100, tetracloruro de (trans,trans,trans)-bis-mu-(hexan-1,6-diamin)-mu-[diamin-platino(II)]bis-[diamin(cloro)platin(I I)], Diarizidinilsperrin, trióxido de arsénico, 1-(11-dodecilamino-10-hidroxiundecil)-3,7-dimetilxantina, Zorubicin, Idarubicin, Daunorubicin, Bisantren, Mitoxantron, Pirarubicin, Pinafid, Valrubicin, Amrubicin, Antineoplaston, 3'-desamino-3'-morfolino-13-desoxo-10-hidroxicarminomicina, annamicina, Galarubicin, Elnafid, 10 MEN10755 y 4-desmetoxi-3-desamino-3-aziridinil -4-metilsulfonil-daunorubicina (véase WO 00/50032), lo cual sin embargo no debería representar ninguna limitación.

Entre los inhibidores de microtubulina se cuentan por ejemplo Paclitaxel, Vindesin-sulfato, 3',4'-dideshidro-4'-desoxi-8'-norvincalécoblastina, Docetaxol, Rhizoxin, Dolastatin, Mivobulin-isotionato, Auristatin, Cemadotin, RPR109881, BMS184476, Vinflunin, Cryptofycin, 2,3,4,5,6-pentafluor-N- (3-fluor-4-metoxifenil)benzolsulfonamida, 15 Anhidrovinblastin, N,N- dimetil-L-valil-L-valil-N-metil-L-valil-L-proliil-L-prolin-t-butilamida, TDX258 y BMS188797.

Son por ejemplo inhibidores de topoisomerasa Topotecan, Hycaptamin, Irinotecan, Rubitecan, 6-etoxipropionil-3',4'-O-exo-benciliden-chartreusina, 9-metoxi-N, N-dimetil-5-nitropirazolo[3 ,4,5-kl]acridin-2- (6H)propanamina, 1-amino-9-etil-5-fluor-2,3-dihidro-9-hidroxi-4-metil-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':b,7]indolizino[1,2b]quinolin-10,(9H,15H) -diona, Lurtotecan, 7-[2-(N-isopropilamino)etil]-(20S)camptotecina, BNP1350, BNPI1100, BN80915, BN80942, 20 etoposid-fosfato, Teniposid, Sobuzoxan, 2'-dimetilamino-2'-desoxi-etoposid, GL331, N-[2- (dimetilamino)etil]-9-hidroxi-5,6-dimetil-6H-pirido[4,3-b]carbazol-1-carboxamida, Asulacrin, (5a,5aB,8aa,9b)-9-[2-[N-[2-(dimetilamino)etil]-N-metilamino)etil]-5-[4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil]-5,5a,6,8,8a,9- hexohidrofuro(3' ,4':6,7)nafto(2, 3-d)-1,3-dioxol-6-ona, 2,3-(metilen-dioxi)-5-metil-7-hidroxi-8-metoxibenzo[c]fenantridinio, 6,9-bis[(2- aminoetil)amino ]benzo[g]isoquinolin-5, 10-diona, 5-(3-aminopropilamino )- 7,10-dihidroxi-2-(2-hidroxi-etilaminometil)-6H-pirazolo[4,5,1-de]-acridin-6-ona, 25 N-[1-[2(dietilamino)etilamino]-7-metoxi-9-oxo-9H-tio-xanten-4-ilmetil]formamida, N-(2-(dimetil-amino)-etil)acridin-4-carboxamida, 6-[[2-(dimetilamino )-etil]amino]-3-hidroxi-7H-indeno[2,1- c]quinolin-7-ona y Dimesna.

Entre los "agentes antiproliferativos" se cuentan oligonucleótidos de ARN y ADN antisentido como G3139, ODN698, RVASKRAS, GEM231 y INX3001, así como antimetabolitos como Enocitabin, Carmofur, Tegafur, Pentostatin, Doxifluridin, Trimetrexat, Fludarabin, Capecitabin, Galocitabin, Cytarabin-ocfosfato, fosteabin de sodio dihidrato, 30 Raltitrexed, Paltitrexid, Emitefur, Tiazofurin, Decitabin, Nolatrexed, Pemetrexed, Nelzarabin, 2'-Desoxi-2'-metilidencitidina, 2'-fluorometilen-2'-desoxicitidina, N-[5-(2,3-Dihidrobenzofuril)sulfonil]-N'-(3,4-diclorofenil) urea, N6-[4-desoxi- 4-[N2-[2(E),4(E)-tetradecaenoil]glicilamino]-L-glicero-B-L-mano-hepto-piranosil]adenina, Aplidin, Ecteinascidin, Troxacitabine, ácido 4-[2-amino-4-oxo-4,6,7,8-tetrahidro-3H-pirimidino[5,4-b][1,4]tiazin-6-il-(S)-etil]-2,5-tienoil-L-glutámico, Aminopterin, 5-fluorouracilo, Alanosin, 11-acetil-8-(carbamoiloximetil)-4-formil-6-metoxi-14-oxa-1, 11-diazatetraciclo-(7.4. 1.0.0)-tetradeca-2,4,6-trien-9-il acetato, Swainsonin, Lometrexol, Dexrazoxan, Metioninase, 2'-cian-2'-desoxi-N4-palmitoil-1-B-D-arabinofuranosilcitosina y 3-aminopiridin-2-carboxaldehido- 35 tiosemicarbazona. los "agentes antiproliferativos" comprenden también otros anticuerpos monoclonales contra factores de crecimiento como ya se mencionó bajo los "inhibidores de angiogénesis", como Trastuzumab, así como genes supresores de tumores, como p53, que pueden ser desencadenados por transferencia de gen promovido por 40 virus recombinante (véase por ejemplo documento de EEUU Nr. 6,069, 134).

En particular se prefiere el uso de compuestos de acuerdo con la invención para el tratamiento y profilaxis de enfermedades tumorales.

El tumor es elegido preferiblemente de entre el grupo de los tumores de epitelio de placas, de vejiga, de estómago, de riñón, de cabeza y cuello, de esófago, de cuello uterino, de glándula tiroides, de intestino, del hígado, de 45 cerebro, de la próstata, del tracto urogenital, de sistema linfático, de estómago, de laringe y/o de los pulmones.

El tumor es elegido además preferiblemente de entre el grupo de adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de célula pequeña, cáncer de páncreas, glioblastoma, carcinoma de colon y carcinoma de mama.

Además se prefiere el uso para el tratamiento de un tumor de sistema sanguíneo e inmune, preferiblemente para el tratamiento de un tumor elegido de entre el grupo de la leucemia mielóctica aguda, de la leucemia mielóctica crónica, leucemia linfática aguda y/o leucemia linfática crónica. 50

Bajo otro aspecto la invención incluye uno para el tratamiento de un paciente que tiene un neoplasma, como un cáncer, mediante administración de un compuesto de las fórmulas la a Im en combinación con un agente antiproliferativo. Los agentes antiproliferativos adecuados incluyen los suministrados en la tabla 1.

Anteriormente y a continuación, todas las temperaturas están indicadas en °C. En los ejemplos siguientes "procesamiento corriente" significa: se añade, en caso de ser necesario, agua además, se ajusta, en caso de ser necesario, dependiendo de la constitución del producto final a valores de pH entre 2 y 10, se realiza extracción con etilacetato o diclorometano, se separa, se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio, se evapora y purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice y/o mediante cristalización.

5

Espectrometría de masas (MS):

El (ionización por colisión de electrones)  $M^+$

FAB (bombardeo atómico rápido)  $(M+H)^+$

ESI (ionización por electroatomización)  $(M+H)^+$

10 APCI-MS (ionización química a presión atmosférica -espectrometría de masas)  $(M+H)^+$

Método LC/MS:

Solvente A: Agua + 0,1 % TFA

Solvente B: Acetonitrilo + 0,1 % TFA Flujo: 2,4 ml/min

Gradiente: 0,0 min 4 % de B

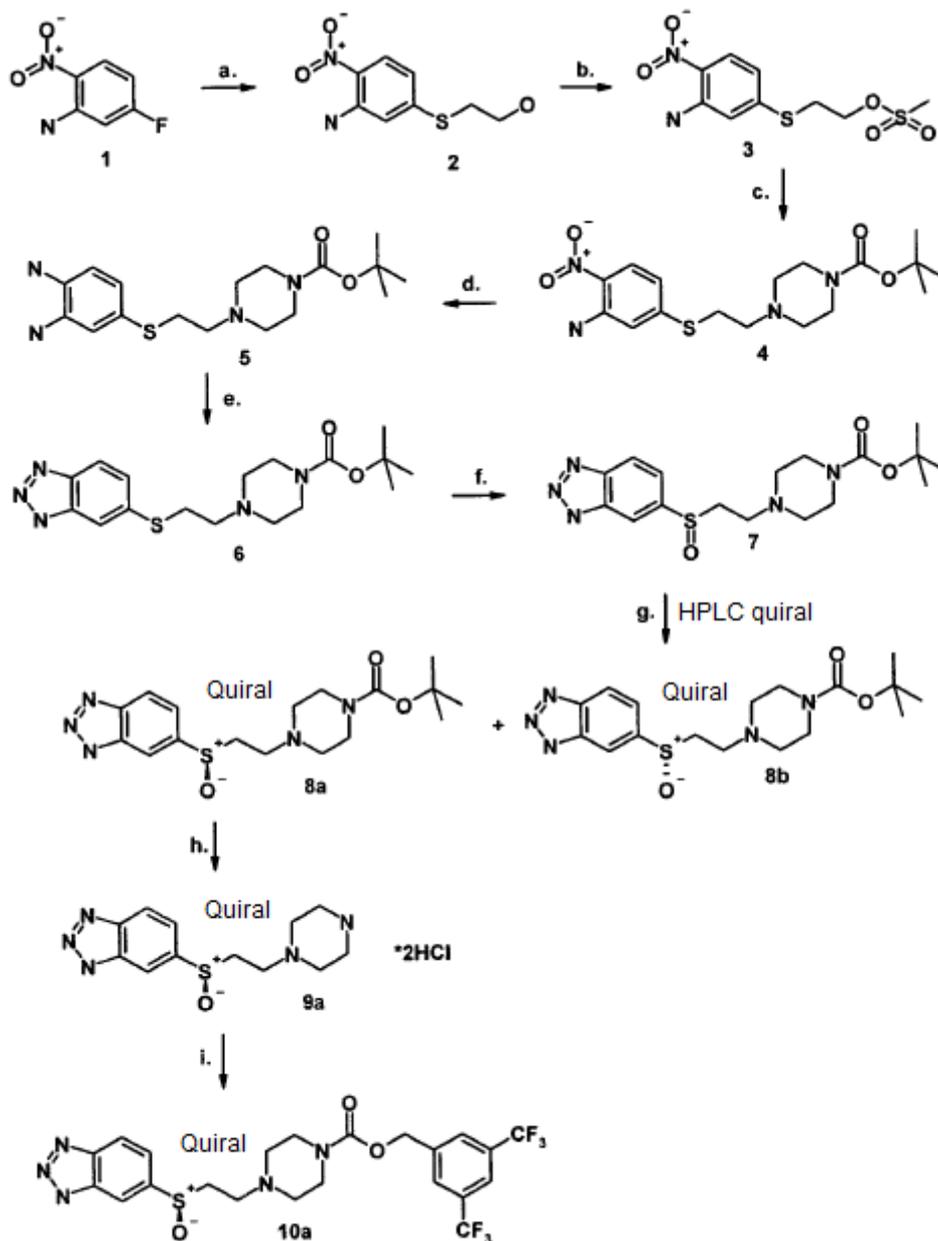
15 2,6 min 100 % de B

Columna: Chromolith Speed ROO RP-18e 50-4, 6 mm

Se sintetizaron y caracterizaron las siguientes sustancias. Sin embargo, la producción y caracterización de las sustancias pueden ser realizadas también por otras vías por los expertos.

Ejemplo 1

20 Síntesis de 4-[2-(3H-benzotriazol-5-(R)sulfinil)-etil]-piperazin-1- carboxilato de 3,5-difluorometilbencilo 10<sup>a</sup>



- 5 a. Se suspenden 5-fluoro-2-nitrofenilamina 1 (33,6 g, 213 mmol, al 90%) y carbonato de cesio (77,1 g, 237 mmol) en 400 ml de acetonitrilo (suspensión rojiza). A esta suspensión se agrega 2-mercaptoetanol (18,5 g, 237 mmol) a temperatura ambiente, en lo cual la mezcla de reacción toma de inmediato color amarillo. Se agita a continuación por 18 h a 60°C. Se filtra la mezcla, el residuo se lava adicionalmente con acetonitrilo y se evapora el filtrado hasta sequedad. Se obtiene un sólido naranja amarillento, el cual viene a ser el Compuesto 2 y se hace reaccionar nuevamente sin purificación adicional.
- 10 b. Se suspende el Compuesto 2 (45,5 g, 212 mmol) en 250 ml de acetonitrilo. A esta suspensión rojo profundo se agrega a temperatura ambiente trietilamina (22,6 g, 223 mmol) y a continuación se agita por 30 min a temperatura ambiente. Se añade gota a gota lentamente cloruro de metanosulfonilo (25,5 g, 223 mmol) como solución en 20 ml de diclorometano a temperatura ambiente (reacción exotérmica) y a continuación se agita adicionalmente por 3 h a temperatura ambiente, en lo que el producto precipita como un precipitado amarillo. Se enfría la mezcla por 2 h en hielo, se separa por filtración el precipitado amarillo y se lava adicionalmente con abundante acetonitrilo. Se combinan el filtrado y el licor de lavado y se concentran. Así mismo, se enfría entonces la solución concentrada y se precipita más producto con el doble de cantidad de metil-tert.butiléter. Este es así mismo separado por filtración y lavado adicionalmente con acetonitrilo. Se purifican los dos residuos de filtro y se seca al vacío. Se obtiene un
- 15

sólido amarillo del Compuesto 3, el cual se hace reaccionar nuevamente sin purificación adicional.

5 c. Se suspenden el Compuesto 3 (61,9 g, 212 mmol) y Boc-piperazina (47,0 g, 250 mmol) en 400 ml de THF. A esta suspensión amarilla se agrega lentamente gota a gota una solución de 25,7g (254 mmol) de trietilamina en 20 ml de THF. Después de terminada la adición, se agita la mezcla por 15 h a 70°C. Se separa por filtración el precipitado formado, se lava con THF y se descarta. Se combinan el filtrado y licor de lavado y se evapora hasta sequedad. Se recibe este residuo en etilacetato, se lava varias veces con agua y con solución de NaCl, se seca con sulfato de sodio, se filtra y se evapora hasta sequedad. Se hace reaccionar el producto 4 amarillo sin purificación adicional.

10 d. Se disuelve el Compuesto 4 (40,1 g, 105 mmol) en 540 ml de THF, se le adiciona catalizador de esponja de níquel (húmedo en agua, 10 g) y se agita por 15 h bajo presión normal de hidrógeno a temperatura ambiente. Se añaden otros 10 g de catalizador y se agita por otras 17 h en atmósfera de nitrógeno. Se separa por filtración el catalizador, se evapora el filtrado hasta sequedad. Este residuo negro oleoso es recibido en etilacetato, se lava tres veces con agua y una vez con solución de NaCl, se seca con sulfato de sodio, se filtra y se lleva al evaporador rotativo. El aceite de rojo oscuro del Compuesto 5 es procesado sin purificación adicional.

15 e. Se disuelve el Compuesto 5 (32,5 g, 92,2 mmol) en ácido acético glacial (320 ml) y se agrega nitrito de sodio (6.4 g, 92,8 mmol). Se agita por 2 h a temperatura ambiente. Entonces se diluye con agua y se realiza extracción varias veces a la solución de reacción con etilacetato. Se lava la fase orgánica con solución de NaHCO<sub>3</sub> y solución de NaCl, se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se evapora hasta sequedad. El aceite resinoso oscuro del Compuesto 6 es procesado sin purificación adicional

20 f. Se disuelve el Compuesto 6 (27,1 g, 74,5 mmol) en 320 ml de ácido acético glacial y se añaden gota a gota bajo agitación 15,5 ml de peróxido de hidrógeno (al 30% en agua). Se agita la mezcla a temperatura ambiente por 15 h, se diluye con agua y etilacetato y entonces de inmediato se neutraliza bajo agitación con NaHCO<sub>3</sub> sólido, entonces con solución de NaHCO<sub>3</sub>. Se aísla la fase orgánica y se lava con agua y con solución de NaCl, se seca con sulfato de sodio, se filtra y se evapora hasta sequedad. El cristalizado amorfo oscuro es identificado como Compuesto 7 y sin otra purificación es separado en los enantiómeros.

25 g. Se disuelve el Compuesto 7 (21,0 g, 44,3 mmol) en 250 ml de metanol. Se separa la solución en la SFC preparativa (cada 8 ml por ejercicio) sobre columna Chiralpak AD-H 3x20 cm 5 µm y CO<sub>2</sub> (80 ml) y metanol (16 ml). Se toman 2 fracciones y se concentran en cada caso hasta sequedad. La fracción 1 contiene 6,9 g (18.2 mmol, 41%) de un sólido incoloro, al cual aleatoriamente se asigna la estructura absoluta 8b. La estructura 8a se asigna al sólido incoloro de la fracción 2.

30 h. Se disuelve el compuesto enantiomérico puro 8a (7,00 g, 18.4 mmol) en 80 ml de isopropanol, se agregan bajo agitación 80 ml de HCl 5-6 N en isopropanol a temperatura ambiente y se agita por otras 15 h a temperatura ambiente. Se evapora la mezcla al vacío hasta sequedad, se disuelve en poco dioxano, se mezcla con agua, se congela y liofiliza. Se obtiene un sólido incoloro de mayor pureza, el cual puede clasificar al compuesto 9a como diclorhidrato. El material es usado nuevamente sin purificación adicional.

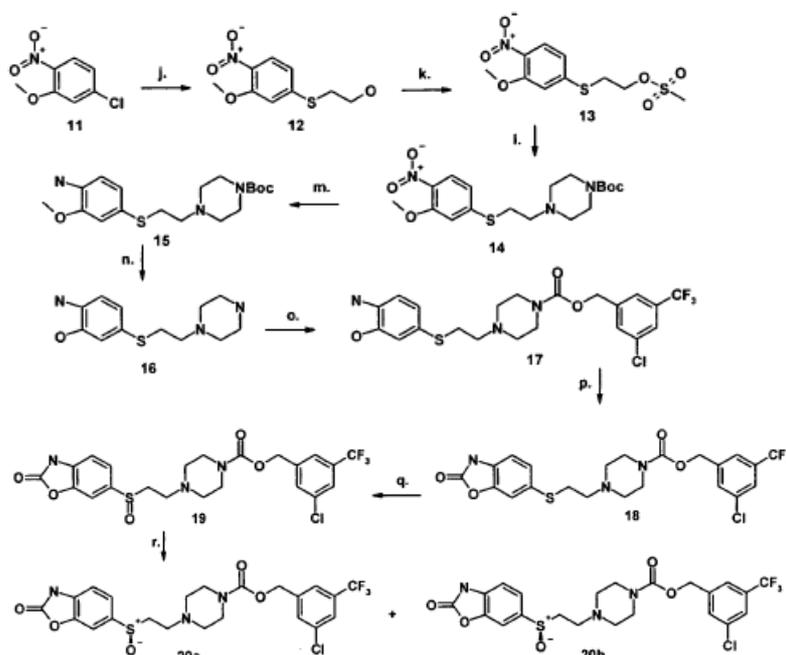
35 i. Se disuelve el Compuesto 9a (175 mg, 0,50 mmol) en 2 ml de DMF y se agrega la trietilamina 151 µL, 1,09 mmol). En un recipiente separado se pesan 3,5-bis- trifluorometilbencilalcohol (124 mg, 0,50 mmol, al 98%) y 1,1'-carbonildiimidazol (80,6 mg, 0,50 mmol), se disuelven en 3 ml de DMF y se agita por una hora a temperatura ambiente. A esta mezcla se añade la solución preparada anteriormente de Compuesto 9a y se agita durante la noche la totalidad de la solución a temperatura ambiente. Se evapora la mezcla hasta sequedad, se recibe el residuo en diclorometano, se lava con agua y NaCl, se seca con sulfato de sodio, se filtra y evapora nuevamente hasta sequedad. Se purifica el residuo por columna de cromatografía (etilacetato/MeOH). Se obtiene el compuesto 40 10 a como sólido incoloro.

De modo análogo a las especificaciones h. e i. descritas, se transforma también el enantiómero 8b en las correspondientes antípodas del compuesto 10a.

45 Así mismo, se transforma el racemato 7 mediante las especificaciones h. e i. en la mezcla racémica de 10a. De modo análogo a g. puede ocurrir también en esta etapa la separación en las antípodas.

#### Ejemplo 2

Síntesis de 4-[2-(2-oxo-2,3-dihidro-benzooxazolil-6(R)-sulfinil)-etil]-piperazin-1-carbonsaure-3-cloro-5-trifluoro metilbenciléster 20a



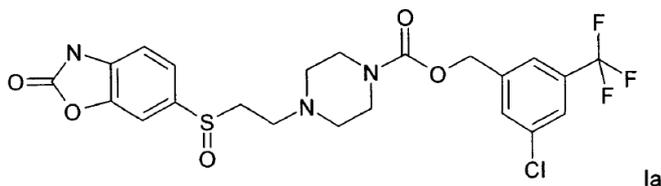
- 5 j. Se disuelve 5-cloro-2-nitroanisol (48,3 g, 0,25 mol) en 300 ml de acetonitrilo. Se agrega con agitación una solución de 2-mercaptoetanol (17,8 ml, 0,25 mol) en 100 ml de acetonitrilo y carbonato de potasio (69,1 g, 0,5 mol) y se agita durante la noche en reflujo. Se enfría la mezcla de reacción, se añade a 500 ml de agua helada y se realiza entonces extracción dos veces con 400 ml de acetato de etilo. Se lava la fase orgánica con solución 0,2 N de NaOH y después con agua, se seca sobre sulfato de magnesio, se separa por filtración y se concentra en el evaporador rotativo. Por cristalización con dietiléter se obtienen cristales beige del Compuesto 12.
- 10 k. Se suspende Compuesto 12 (48,0 g, 0,209 mol) en 50 ml de diclorometano y se le agrega trietilamina (19 ml, 0,209 mol). Se añade gota a gota bajo agitación a máximo 15° C de temperatura interior, cloruro de metanosulfonilo (16,2 ml, 0,209 mol). Se agita aún por otra hora a temperatura ambiente, se agrega entonces la mezcla de reacción sobre 300 ml de agua helada y se realiza extracción dos veces con 200 ml de diclorometano. Se seca la fase orgánica con sulfato de magnesio, se separa por filtración y se concentra en el evaporador rotativo. Se obtiene Compuesto 13 como residuo oleoso.
- 15 l. Se disuelven Compuesto 13 (57 g, 0,185 mol), piperazin-1-carboxilato de tert.-butilo (34,5 g, 0,185 mol), y carbonato de cesio (60,1 g, 0,185 mol) en 300 ml de acetonitrilo y se agita durante la noche a 60° C. Se añaden 400 ml de agua y 400 ml de diclorometano y se separa la fase orgánica. Se la seca con sulfato de magnesio, se separa por filtración y se concentra en el evaporador rotativo. Se purifica el residuo sobre una columna de gel de sílice con acetato de etilo como fase móvil. Se obtiene Compuesto 14 como sustancia sólida amorfa.
- 20 m. Al Compuesto 14 (6,3 g, 15,8 mmol) en 85 ml de tetrahidrofurano se añaden 3,15 g de Pd-C al 5% y se efectúa hidrogenación a temperatura ambiente por 16 horas. Se separa por filtración el catalizador. Después de concentrar la solución se obtiene el Compuesto 15 como sustancia sólida.
- 25 n. Se disuelve el Compuesto 15 (5,5 g, 0,015 mol) en 70 ml de ácido bromhídrico al 47% y se agita por 8 horas a 150 ° C. Después se enfría la mezcla de reacción y se hace succión a los cristales precipitados. Se lavan con agua y se secan. Se obtiene el Compuesto 16.
- 30 o. Se disuelven Compuesto 16 (1,18 g, 3,0 mmol), 1,1-carbonildiimidazol (0,486 g, 3,0 mmol) 3-cloro-5-trifluorometilbencilalcohol (0,63 g, 3,0 mmol) y trietilamina (0,42 ml, 3,0 mmol) en 20 ml de DMF y se agita durante la noche a temperatura ambiente. Se concentra la mezcla de reacción y se recibe en 50 ml de agua y 100 ml de acetato de etilo. Se separa la fase orgánica, se seca con sulfato de magnesio, se separa por filtración y se concentra en el evaporador rotativo. Se purifica el residuo sobre una columna de gel de sílice con acetato como fase móvil. Se obtiene Compuesto 17 como sustancia sólida.
- 35 p. Se agitan Compuesto 17 (0,8 g, 1,63 mmol) y 1,1-carbonildiimidazol (0,265 g, 1,63 mmol) en 10 ml de THF por 3 horas a temperatura ambiente. Después se recibe la carga en 100 ml de agua y se realiza extracción dos veces con 100 ml de acetato de etilo. Se seca la fase orgánica con sulfato de magnesio, se separa por filtración y se concentra en el evaporador rotativo. La cristalización con etanol da Compuesto 18 como cristales marrón claro.

q. Se disuelve Compuesto 18 (0,72 g, 1,4 mmol) en 8 ml de acetato. Después se añade peróxido de hidrógeno (al 30% en agua, 0,29 ml 2,8 mmol) y se agita por 3 horas a temperatura ambiente. Después se añaden a la carga 100 ml de agua helada y se neutraliza con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub>. Se realiza extracción dos veces con 50 ml de acetato de etilo. Se seca la fase orgánica con sulfato de magnesio, se separa por filtración y se concentra en el evaporador rotativo. La cristalización con etanol da Compuesto 19 como cristales claros.

r. Se separa el racemato 19 (0,35 g, 0,66 mmol) por medio de HPLC preparativa en Chiralpak AD (5x40 cm, 20 μm) con metanol/etanol (25/75) (flujo: 100 ml/min). Se obtienen los dos enantiómeros 20a y 20b como sustancia sólida amorfa.

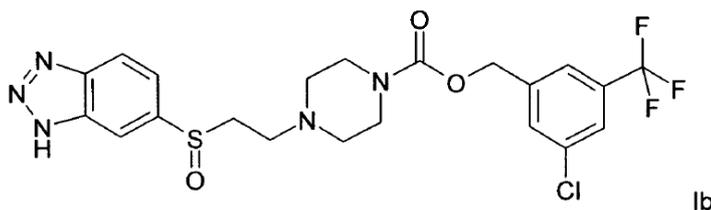
Los siguientes compuestos pueden ser producidos de manera análoga a las representadas en los Ejemplos 1 y 2:

10 4-[2-(2-oxo-2,3-dihidro-benzooxazol-6(R)-sulfinil)-etil]-piperazin-1-carboxilato de 3-cloro-5-trifluorometil-bencilo (1a)



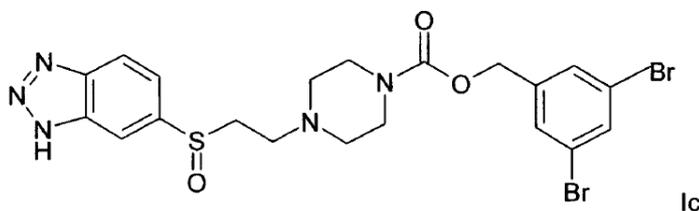
15 Racemato: 1H RMN (500 MHz, DMSO) δ = 12.02 (m, <1H), 7.81 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.62 (d, J=1.5, 1H), 7.47 (dd, J=8.1, 1.5, 1H), 7.25 (d, J=8.1, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.45 - 3.30 (m, 4H), 3.14 - 3.07 (m, 1H), 3.00 - 2.90 (m, 1H), 2.75 - 2.68 (m, 1H), 2.47 - 2.27 (m, 5H), tr[*min*] 1,80,

4-[2-(3H-benzotriazol-5(R)-sulfinil)-etil]-piperazin-1- carboxilato de 3- cloro-5-trifluorometil -bencilo (1b)



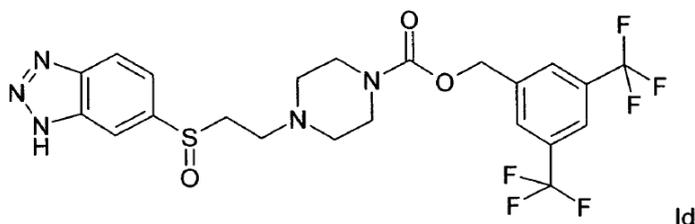
1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 15.87 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.09 (d, J = 8.7, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.78 - 7.67 (m, 3H), 5.15 (s, 2H), 3.55 - 3.14 (m, 5H), 3.07 - 2.91 (m, 1H), 2.81 - 2.72 (1H), 2.48 - 2.28 (m, 5H), tr[*min*] 1,79,

20 4-[2-(3H-benzotriazol-5(R)-sulfinil)-etil]-piperazin-1- carboxilato de 3,5- dibromo-bencilo (1c)



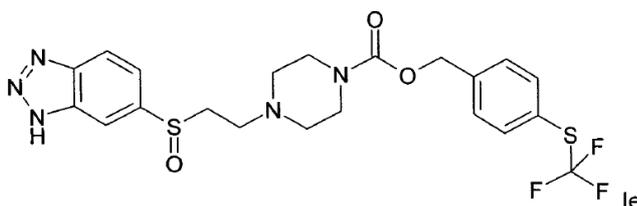
1H RMN (500 MHz, DMSO) δ = 16.03 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.10 (d, J=8.6, 1H), 7.79 (t, J=1.6, 1H), 7.74 (d, J=8.5, 1H), 7.58 (d, J=1.6, 2H), 5.06 (s, 2H), 3.52 - 3.17 (m, 5H), 3.06 - 2.96 (m, 1H), 2.81 - 2.74 (m, 1H), 2.50 - 2.28 (m, 5H), tr[*min*] 1,76,

25 4-[2-(3H-benzotriazol-5(S)-sulfinil)-etil]-piperazin-1-carboxilato de 3,5-bis- trifluorometil-bencilo (1d)



1H RMN (400 MHz, DMSO)  $\delta$  = 15.98 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.15 - 8.00 (m, 4H), 7.74 (d, J=8.6, 1H), 5.25 (s, 2H), 3.40 - 3.14 (m, 5H), 3.10 - 2.92 (m, 1H), 2.85 - 2.68 (m, 1H), 2.49 - 2.24 (m, 5H), tr[*min*] 1,85,

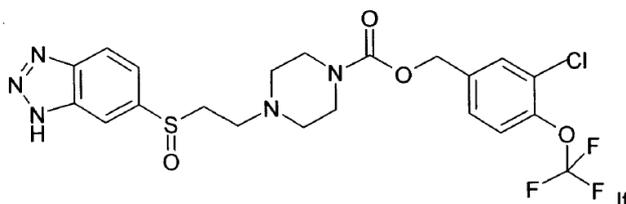
4-[2-(3H-Benzotriazol-5( R)-sulfinil)-etil]-piperazin-1-carboxilato de 4- trifluorometilsulfanil-bencilo (1e)



5

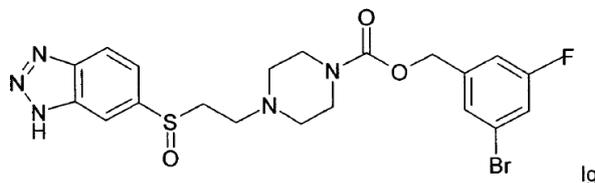
1H RMN (400 MHz, DMSO)  $\delta$  = 16.02 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.10 (d, J=8.6, 1H), 7.76 - 7.70 (m, 3H), 7.50 (d, J=8.3, 2H), 5.14 (m, 2H), 3.47 - 3.15 (m, 5H), 3.08 - 2.94 (m, 1H), 2.81 - 2.72 (m, 1H), 2.48 - 2.27 (m, 5H), tr[*min*] 1,85,

4-[2-(3H-benzotriazol-5(R)-sulfinil )-etil]-piperazin-1-carboxilato de 3-cloro- 4-trifluorometoxi-bencilo (1f)



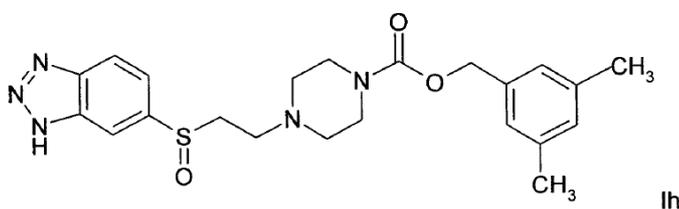
10 1H RMN (500 MHz, DMSO)  $\delta$  = 16.08 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.09 (d, J=8.6, 1H), 7.73 (dd, J=8.6, 1.1, 1H), 7.67 (d, J=2.0, 1H), 7.57 (dd, J=8.6, 1.1, 1H), 7.45 (dd, J=8.5, 2.0, 1H), 5.07 (s, 2H), 3.35 - 3.15 (m, 5H), 3.07 - 2.95 (m, 1H), 2.80 - 2.72 (m, 1H), 2.48 - 2.30 (m, 5H), tr[*min*] 1,80,

4-[2-(2-oxo-2,3-dihidro-benzooxazol -6(R)-sulfinil)-etil]-piperazin-1- carboxilato de 3-bromo-5-fluorometil-bencilo



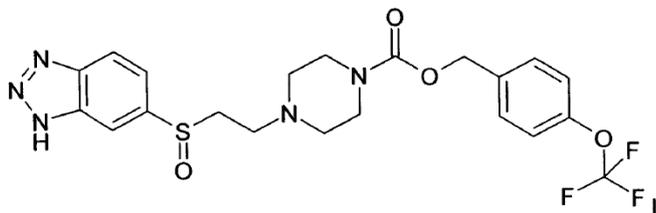
15 1H RMN (500 MHz, DMSO)  $\delta$  = 16.10 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.10 (d, J=8.6, 1H), 7.74 (d, J=8.6, 1H), 7.55 - 7.46 (m, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.24 (d, J=9.2, 1H), 5.08 (s, 2H), 3.32 - 3.14 (m, 5H), 3.09 - 2.94 (m, 1H), 2.81 - 2.74 (m, 1H), 2.50 - 2.27 (m, 5H), tr[*min*] 1,63,

4-[2-(3H-benzotriazol-5(R)-sulfinil )-etil]-piperazin-1-carboxilato de 3,5- dimetil-bencilo (1h)



<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO)  $\delta$  = 15.91 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.09 (d, J=8.6, 1H), 7.73 (dd, J=8.6, 1.1, 1H), 6.93 (s, 3H), 4.97 (s, 2H), 3.35 - 3.13 (m, 5H), 3.07 - 2.93 (m, 1H), 2.80 - 2.71 (m, 1H), 2.50 - 2.29 (m, 6H), 2.25 (s, 5H), tr[*min*] 1,62,

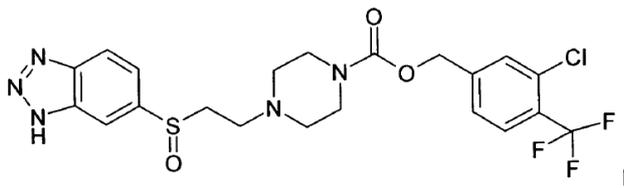
4-[2-(3H-benzotriazol-5(R)-sulfinil)-etil]-piperazin-1-carboxilato de 4-trifluorometoxi-bencilo (li)



5

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO)  $\delta$  = 15.99 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.09 (d, J=8.6, 1H), 7.79 - 7.69 (m, 1H), 7.48 (d, J=8.3, 2H), 7.36 (d, J=8.3, 2H), 5.09 (s, 2H), 3.29 - 3.14 (m, 5H), 3.08 - 2.94 (m, 1H), 2.82 - 2.70 (m, 1H), 2.49 - 2.25 (m, 5H), tr[*min*] 1,62,

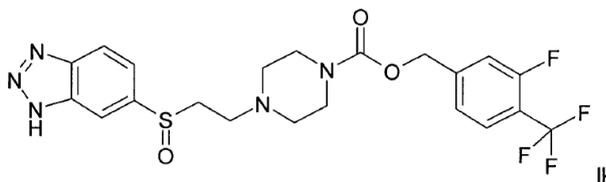
4-(2-(3H-benzotriazol-5(R)-sulfinil)-etil)-piperazin-1-carboxilato de 3-cloro-4-trifluorometil-bencilo (lj)



10

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO)  $\delta$  = 16.01 (s, 0.5 H), 8.26 (s, 1H), 8.10 (d, J=8.6, 1H), 7.87 (d, J=8.1, 1H), 7.74 (d, J=8.6, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.52 (d, J=8.1, 1H), 5.21 (m, 2H), 3.29 - 3.16 (m, 5H), 3.07 - 2.94 (m, 1H), 2.84 - 2.70 (m, 1H), 2.50 - 2.30 (m, 5H), tr[*min*] 1,75,

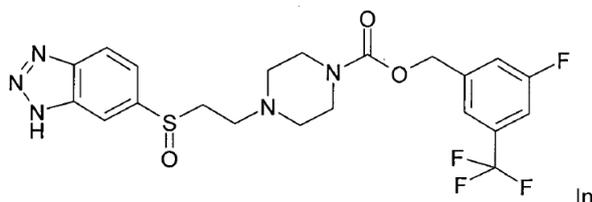
4-[2-(3H-benzotriazol-5(R)-sulfinil)-etil]-piperazin-1-carboxilato de 3-fluoro-4-trifluorometil-bencilo



15

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO)  $\delta$  = 15.92 (m, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.10 (d, J=8.6, 1H), 7.80 (t, J=7.8, 1H), 7.74 (d, J=8.7, 1H), 7.48 (d, J=11.8, 1H), 7.39 (d, J=8.0, 1H), 5.17 (s, 2H), 3.28 - 3.15 (m, 5H), 3.08 - 2.96 (m, 1H), 2.82 - 2.74 (m, 1H), 2.49 - 2.25 (m, 5H), tr[*min*] 1,69,

4-[2-(2-oxo-2,3-dihidro-benzooxazol-6(R)-sulfinil)-etil]-piperazin-1-carboxilato de 3-fluoro-5-trifluorometil-bencilo



20

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO)  $\delta$  = 15.60 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.08 (d, J=8.6, 1H), 7.72 (d, J=8.7, 1H), 7.61 (d, J=8.6, 1H), 7.58 - 7.48 (m, 2H), 5.16 (s, 2H), 3.36 - 3.14 (m, 5H), 3.07 - 2.93 (m, 1H), 2.81 - 2.74 (m, 1H), 2.49 - 2.27 (m, 5H), tr[*min*] 1,69.

Ejemplo A: prueba de autotaxina (prueba de enzima)

25 Descripción de la prueba

Se mide la actividad de la autotaxina indirectamente con el reactivo Rojo Amplex. Para ello se mide el Rojo Amplex como indicador fluorogénico para el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formado. En detalle, la autotaxina transforma el sustrato de lisofosfatidilcolina (LPC) hasta fosfocolina y ácido lisofosfatídico (LPS). Después de esta reacción se transforma la fosfocolina con fosfatasa alcalina en el fosfato inorgánico y colina. En el siguiente paso se oxida la colina mediante colina-oxidasa hasta betaina, en el que surge H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reacciona en presencia de peroxidasa (peroxidasa de rábano picante) con el reactivo Rojo Amplex en una estequiometría 1:1 y forma la resorufina altamente fluorescente. La fluorescencia es medida en un modo cinético dependiente de la reacción, con ello se corrige la señal fluorescente de otras posibles sustancias fluorescentes, que no participan en la reacción.

#### Ejecución de la prueba

Se incuban previamente 1,5 µl de una solución estándar o de las sustancias de prueba (sustancias con los nombres con A(n)) en concentraciones individuales disueltas en Hepes 20mM pH 7.2 con máximo 7.7% de DMSO, junto con 10 µl (16 ng) de autotaxina recombinante altamente purificada, en una placa negra de microtitulación dotada con 384 depresiones, por 30 min a 22°C. Después de ello se inicia la reacción mediante adición de 5 µl de L-α-lisofosfatidilcolina (LPC), en la que la concentración final de LPC es de 75 µM. Se incuba la mezcla por 90 min. a 37 °C. Después de la incubación se añade el reactivo Rojo Amplex, peroxidasa (peroxidasa de rábano picante) y colina-oxidasa y de inmediato se mide la fluorescencia a 612 nm para una excitación de 485 nm en un aparato de lectura "Tecan Ultra multimode". Se calcula indirectamente la actividad de la autotaxina mediante la detección del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formado.

#### Material

Placa de microtitulación: microplaca PS, 384 depresiones, volumen pequeño, Coning negra, Cat # 857120P

Proteína: Autotaxina recombinante (expresión Hi5 baculoviral)

Sustrato: L-α-lisofosfatidilcolina (embrión de pollo), Avanti Polar Lipids # 830071P

Estándar: C14 LPA Avanti Polar Lipids Cat # 857120P.

Reactivo de comprobación: reactivo rojo Amplex; Invitrogen # A 12222; disuelto en 1.923 ml de DMSO, peroxidasa tipo VI-A (rábano picante) de Sigma # P6782; disuelta en 7,45 ml de tampón de prueba, colina-oxidasa; Sigma # C5896; disuelta en 2,47 ml de tampón de prueba

Mezcla de reactivo de comprobación: dilución 1:100 de reactivo Rojo Amplex en tampón de prueba

Tampón de prueba: Tris-HCl 200 mM, Merck, Cat # 1.08219, pH 7.9,

BSA 0.1 %, libre de lípidos, Roche Cat#775835

Los valores IC<sub>50</sub> de todos los compuestos descritos son < 1µM en este ensayo.

Los siguientes ejemplos se refieren a medicamentos:

Ejemplo B: recipientes de vidrio para inyección

Se ajusta una solución de 100 g de un principio activo de la fórmula I y 5 g de hidrogenofosfato de disodio en 3 litros de agua destilada dos veces, con ácido clorhídrico 2 N a pH 6,5, se filtra en condiciones estériles, se empaca en recipientes para inyección, se liofiliza bajo condiciones estériles y se cierra en condiciones estériles. Cada frasco de inyección contiene 5 mg de principio activo.

Ejemplo C: Supositorios

Se funde una mezcla de 20 g de un principio activo de la fórmula I con 100 g de lecitina de soja y 1400 g de manteca de cacao, se vierte en moldes y se deja enfriar. Cada supositorio contiene 20 mg de principio activo.

Ejemplo D: Solución

Se prepara una solución de 1 g de un principio activo de la fórmula I, 9,38 g de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O, 28,48 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12 H<sub>2</sub>O y 0,1 g de cloruro de benzalconio en 940 ml de agua destilada dos veces. Se ajusta el pH a 6,8, se llena hasta 1 litro y se esteriliza mediante irradiación. Esta solución puede ser usada en forma de gotas para los ojos.

Ejemplo E: Pomada

## ES 2 602 203 T3

Se mezclan 500 mg de un principio activo de la fórmula I con 99,5 g de vaselina bajo condiciones asépticas.

Ejemplo F: Comprimidos

- 5 Se comprime de la manera convencional hasta dar comprimidos, una mezcla de 1 kg de principio activo de la fórmula I, 4 kg de lactosa, 1,2 kg de almidón de patata, 0,2 kg de talco y 0,1 kg de estearato de magnesio, de modo que cada tableta contiene 10 mg de principio activo.

Ejemplo G: Grageas

De modo análogo al Ejemplo E se comprimen comprimidos, que a continuación se recubren de la manera corriente con un recubrimiento de sacarosa, almidón de patata, talco, tragacanto y colorante.

Ejemplo H: Cápsulas

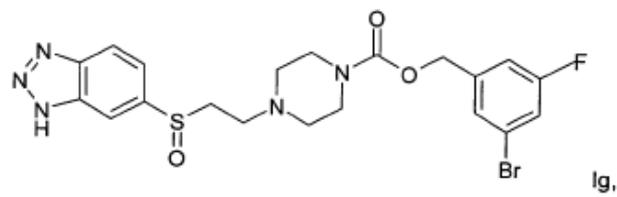
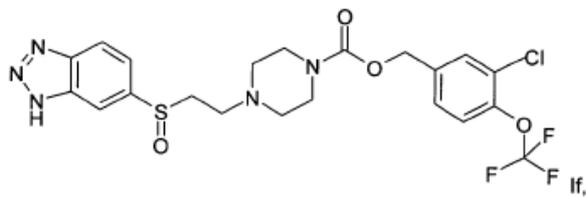
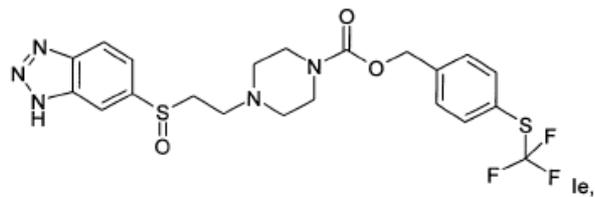
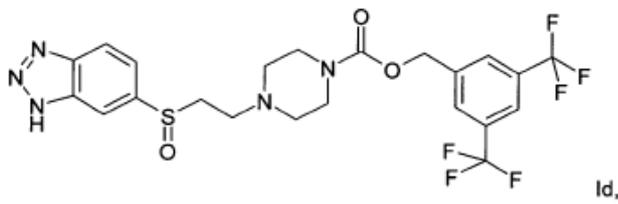
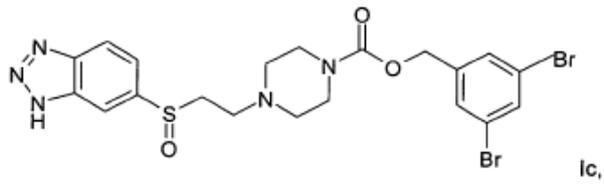
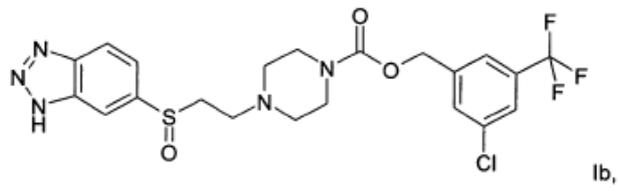
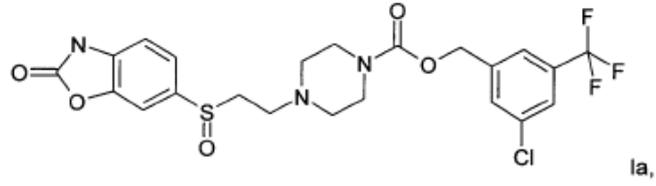
- 10 Se llenan de manera corriente cápsulas de gelatina dura con 2 kg de principio activo de la fórmula I, de modo que cada cápsula contiene 20 mg de principio activo.

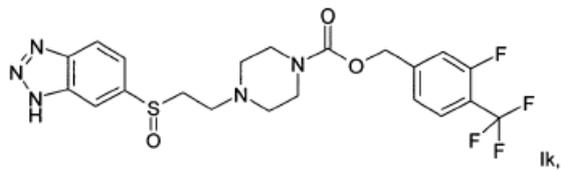
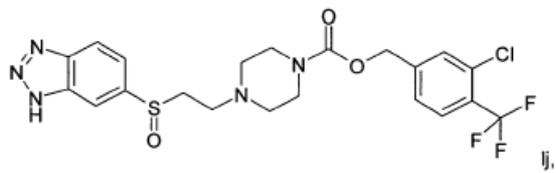
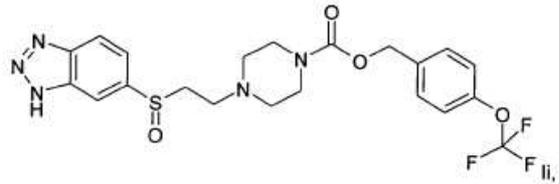
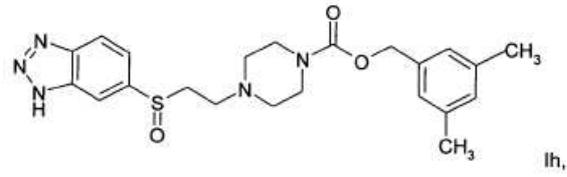
Ejemplo I: Ampollas

- 15 Se filtra en condiciones estériles una solución de 1 kg de principio activo de la fórmula I en 60 litros de agua destilada dos veces, se empaca en ampollas, se liofiliza bajo condiciones estériles y se cierra en condiciones estériles. Cada ampolla contiene 10 mg de principio activo.

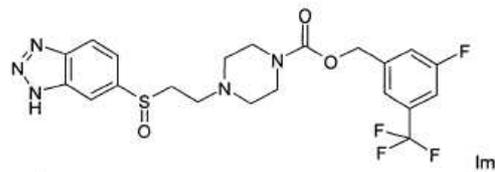
REIVINDICACIONES

1. Los compuestos la a lm





y



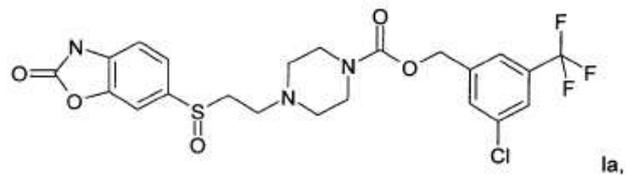
5

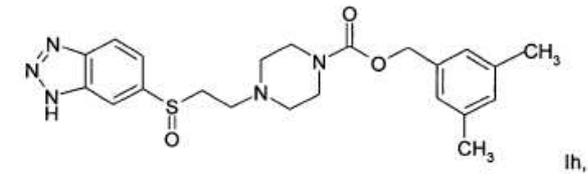
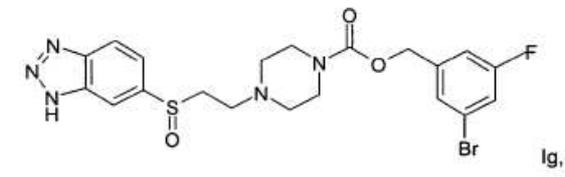
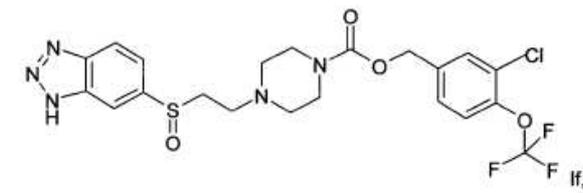
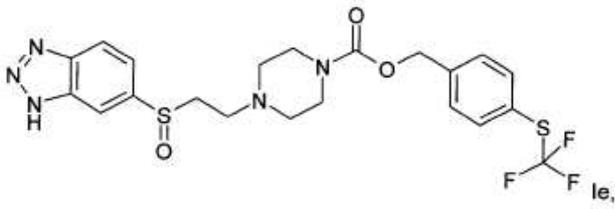
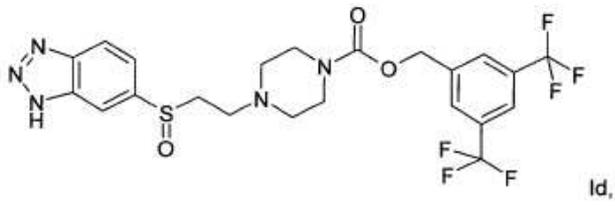
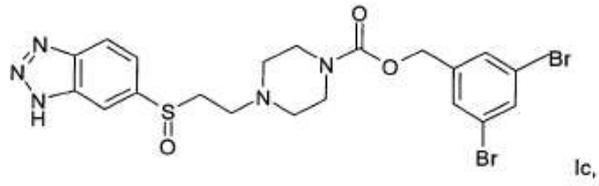
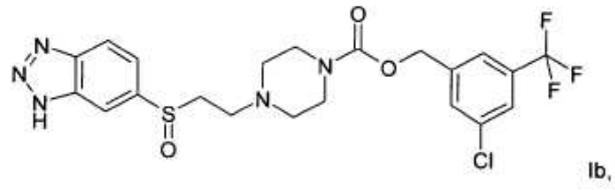
así como sus sales, solvatos, enantiómeros, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente útiles, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones.

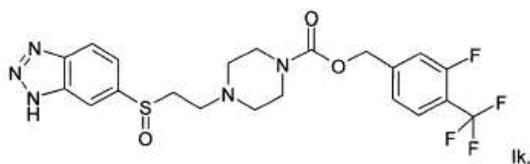
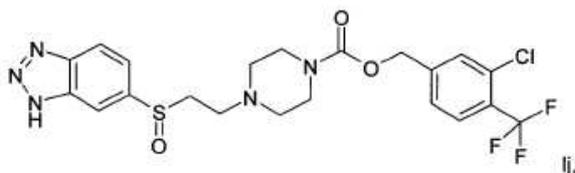
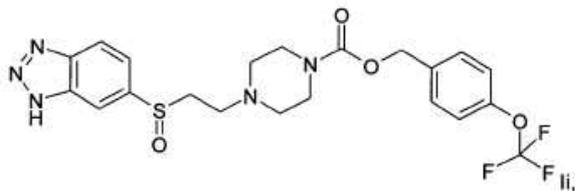
2. Medicamentos que contienen por lo menos un compuesto según la reivindicación 1 y/o sus sales, solvatos, enantiómeros, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente útiles, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, así como dado el caso vehículos y/o sustancias auxiliares.

10

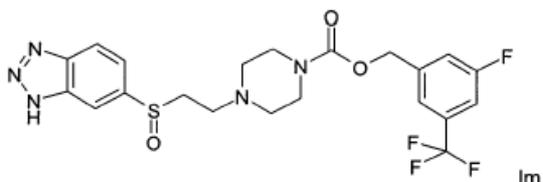
3. Uso de los compuestos elegidos de entre el grupo



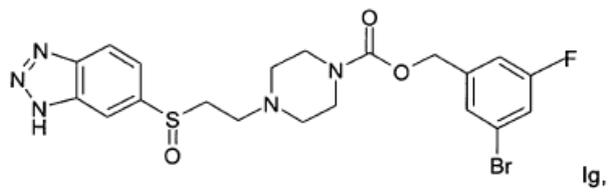
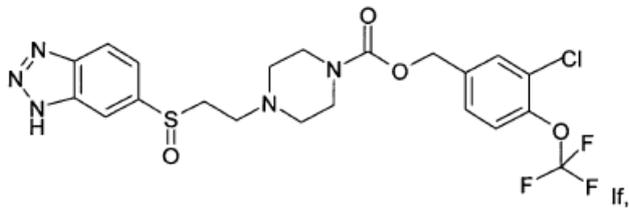
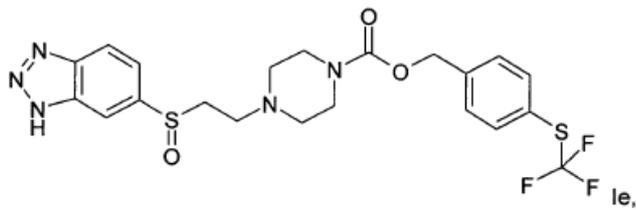
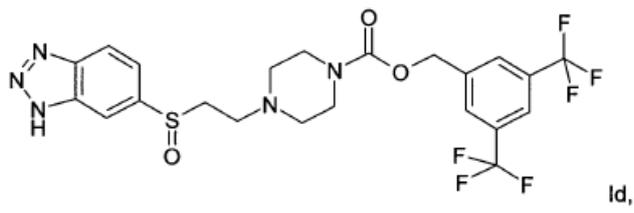
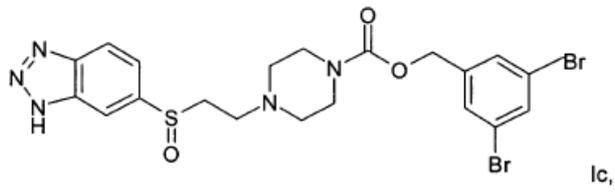
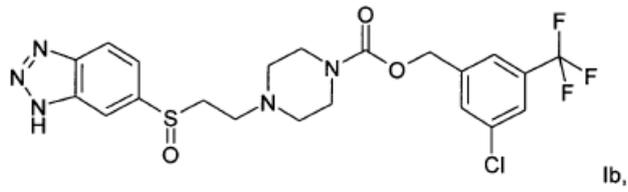
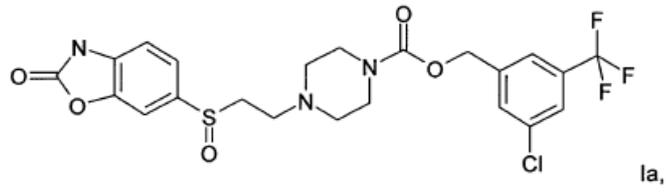


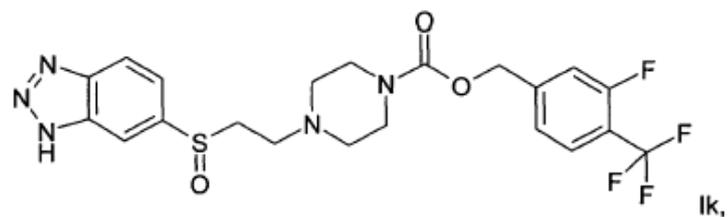
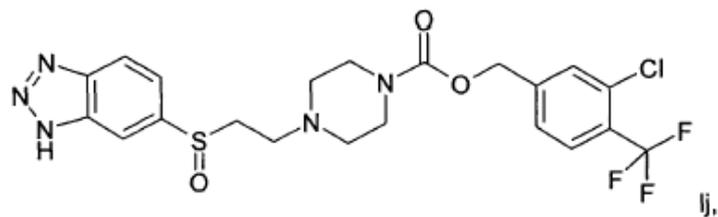
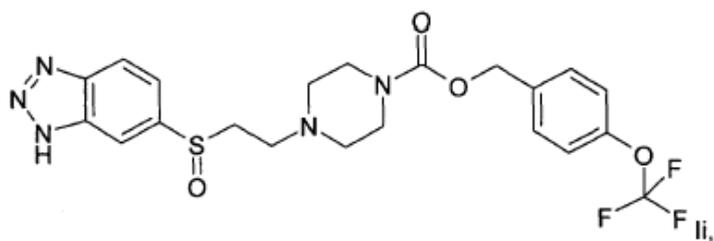
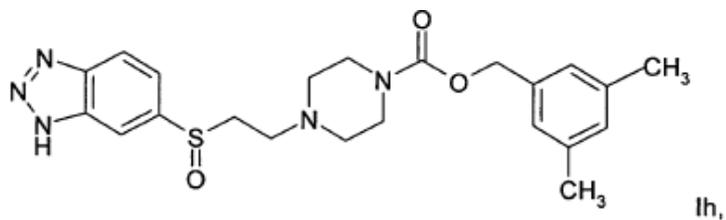


y/o

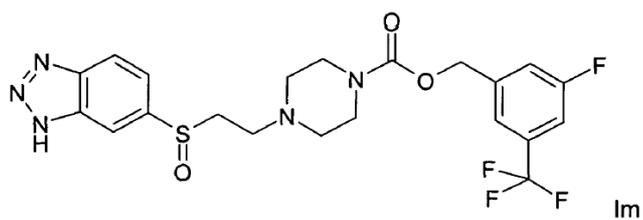


- 5 así como sus sales, solvatos, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente útiles, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, para la producción de un medicamento para el tratamiento o prevención de enfermedades tumorales.
4. Uso según la reivindicación 3, en la que las enfermedades tumorales son fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomas, rhabdomyosarcoma, carcinoma de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células de placas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, papilocarcinomas, papiloadenocarcinomas, cistadenocarcinomas, carcinoma de médula ósea, carcinoma broncogénico, carcinoma de células de riñón, hepatoma, carcinoma de conductos biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer cervical, tumor testicular, carcinoma pulmonar, carcinoma pulmonar de célula pequeña, carcinoma de vejiga, carcinoma de epitelio, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemia, linfoma, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström y enfermedad de cadena pesada.
5. Medicamento que contiene uno o varios compuestos según la reivindicación 1 y/o sus sales, solvatos, enantiómeros, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente útiles, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones, y por lo menos otro principio activo medicinal.
6. conjunto (Kit), consistente en empaques separados
- (a) de una cantidad efectiva de los compuestos





y/o



5

y/o sus sales, solvatos, enantiómeros, tautómeros y estereoisómeros farmacéuticamente útiles, incluyendo sus mezclas en todas las relaciones,

y

(b) una cantidad eficaz de otro principio activo medicinal.