

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 632 430**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/4188 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.01.2013 PCT/IB2013/050655**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.08.2013 WO13111105**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.01.2013 E 13711952 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.04.2017 EP 2807164**

54 Título: **Compuestos de imidazopirrolidinona**

30 Prioridad:

26.01.2012 US 201261591001 P

10.07.2012 US 201261669902 P

14.12.2012 WO PCT/CN2012/086703

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.09.2017

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**FURET, PASCAL;
GUAGNANO, VITO;
HOLZER, PHILIPP;
KALLEN, JOERG;
LIAO, LV;
MAH, ROBERT;
MAO, LIANG;
MASUYA, KEIICHI;
SCHLAPBACH, ACHIM;
STUTZ, STEFAN y
VAUPEL, ANDREA**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 632 430 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de imidazopirrolidinona

La presente invención se refiere a nuevos compuestos de imidazopirrolidinona, capaces de inhibir la interacción entre p53, o sus variantes, y MDM2 y/o MDM4, o sus variantes, respectivamente, especialmente la unión a MDM2 y/o MDM4, o sus variantes, un procedimiento para la preparación de tales compuestos, preparaciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos, usos y métodos de uso para tales compuestos en el tratamiento (incluyendo terapia y/o profilaxis), y/o materia relacionada como se especifica más adelante. p53 se refiere a todos los genes y/o proteínas codificados de los mismos con los nombres TP53, p53, TP73, p73, TP63, TP73L, p63. MDM2 se refiere a todos los genes y/o proteínas codificados de los mismos con los nombres MDM2, Mdm2, HDM2, Hdm2. MDM4 se refiere a todos los genes y/o proteínas codificados de los mismos con los nombres MDM4, Mdm4, HDM4, Hdm4, MDMX, MdmX, HDMX, HdmX.

La proteína p53 se conoce como una proteína supresora de tumores que ayuda a controlar la integridad celular e impide la proliferación de células dañadas permanentemente iniciando, entre otras respuestas, la detención del crecimiento o la apoptosis (muerte celular controlada). p53 media sus efectos en que es un factor de transcripción capaz de regular un número de genes que regulan, por ejemplo, ciclo celular y apoptosis. De este modo, p53 es un importante inhibidor del ciclo celular. Estas actividades están estrictamente controladas por MDM2, un regulador negativo importante del supresor de tumores p53. "MDM2" (originalmente del oncogén "murino doble minuto 2") se refiere tanto al nombre del gen, así como la proteína codificada por ese gen. La proteína MDM2 funciona tanto como una ligasa de ubiquitina E3 que reconoce el dominio de transactivación N-terminal (TAD) del supresor de tumores p53 y, de este modo, media la degradación dependiente de ubiquitina de p53, y como un inhibidor de la activación transcripcional de p53.

El oncogén de ratón original, que codifica para la proteína MDM2, se clonó originalmente a partir de una línea celular de ratón transformada. El homólogo humano de esta proteína fue identificado más tarde y es a veces también llamado HDM2 (para "humano doble minuto 2"). Además de apoyar el papel de MDM2 como un oncogén, se ha demostrado que varios tipos de tumores humanos y de enfermedades proliferativas tienen niveles aumentados de MDM2, incluyendo, *inter alia*, sarcomas de tejidos blandos, cáncer de hueso, por ejemplo, osteosarcomas, tumores de mama, cáncer de vejiga, síndrome de Li-Fraumeni, tumor cerebral, rhabdomyosarcoma y carcinoma adrenocortical y similares. Otra proteína perteneciente a la familia MDM2 es MDM4, también conocida como MDMX.

La desregulación de la proporción MDM2/p53, por ejemplo, debido a mutaciones, polimorfismos o defectos moleculares en las células afectadas, se puede encontrar de este modo en muchas enfermedades proliferativas. MDM2, en vista de sus efectos mencionados, es capaz de inhibir la actividad de la proteína supresora de tumores p53, dando lugar de este modo a la pérdida de la actividad supresora de tumores p53 y la inhibición de los mecanismos reguladores que impiden las células de la proliferación incontrolada. Como consecuencia, puede tener lugar una proliferación incontrolada, que conduce a cánceres tales como tumores, leucemias u otras enfermedades proliferativas.

El documento US 2003/153580 describe compuestos cis-imidazolina como inhibidores de la interacción MDM2-p53. El documento US 2011/0230457 describe heterociclos bicíclicos que contienen nitrógeno, capaces de inhibir la interacción entre p53 y MDM2 y/o MDM4.

Existe una necesidad de nuevos fármacos que sean capaces de interferir con la interacción entre p53 y MDM2 o especialmente sus variantes oncogénicas y que permitan de este modo que p53 ejerza su efecto beneficioso contra el crecimiento de tumor no controlado, permitiendo, por ejemplo, acumular, detener el ciclo celular y/o provocar la apoptosis de las células afectadas.

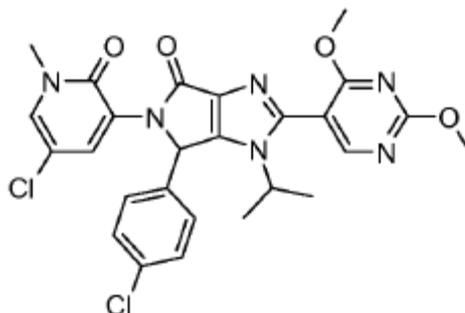
Se ha encontrado ahora que una nueva clase de compuestos de imidazopirrolidinona muestra inhibición de la interacción MDM2/p53 y/o MDM4/p53 (este término incluye en particular la interacción Hdm2/p53 y Hdm4/p53), y en particular la potente inhibición de la interacción MDM2/p53. En particular, los compuestos de la invención en este documento actúan como inhibidores de la interacción MDM2 con p53 por unión a MDM2, y/o actúan como inhibidores de la interacción MDM4 con p53 por unión a MDM4.

Los compuestos correspondientes representan de este modo un nuevo tipo de compuestos que son útiles en el tratamiento de un número de trastornos, tales como enfermedades proliferativas, especialmente cáncer. La invención se refiere por lo tanto a estos compuestos como fármacos, así como a las otras realizaciones de la invención indicadas en este documento.

Los compuestos particularmente interesantes de la invención en este documento son muy potentes en el ensayo de inhibición de p53-Hdm2 (TR-FRET) descrito en este documento. Los compuestos de particular interés poseen

propiedades farmacocinéticas favorables. Deben ser no tóxicos y demostrar pocos efectos secundarios. Además, el fármaco candidato ideal existirá en una forma física estable, no higroscópica y fácilmente formulada.

5 De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) que es 5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrol[3,4-d]imidazol-4-ona

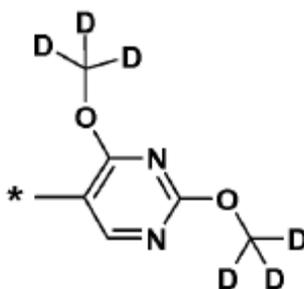


o una sal del mismo.

10 A menos que se especifique lo contrario, los términos "compuestos de la presente invención" o un "compuesto de fórmula (I)" se refieren a compuestos de fórmula (I) y sus subfórmulas, sus sales, hidratos o solvatos de los compuestos o sales, así como todos los estereoisómeros (incluyendo diastereoisómeros y enantiómeros), tautómeros y compuestos marcados isotópicamente (incluyendo sustituciones de deuterio), así como unidades estructurales formadas de forma inherente (por ejemplo, polimorfos, solvatos y/o hidratos).

15 En este documento se describen diversas realizaciones de la invención. Se reconocerá que las características especificadas en cada realización se pueden combinar con otras características especificadas para proporcionar realizaciones adicionales. Para los propósitos de interpretar esta especificación, los términos usados en el singular también incluirán el plural y viceversa.

Como se describe en este documento, los términos "compuestos de la presente invención" o un "compuesto de fórmula (I)" incluyen compuestos marcados isotópicamente, tales como sustituciones de deuterio:



20 La invención incluye enantiómeros o racematos del compuesto. Los "enantiómeros" son un par de estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica". La estereoquímica absoluta se especifica de acuerdo con el sistema R-S de Cahn-Ingold-Prelog. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada carbono quiral se puede especificar por R o S.

25 Dependiendo de la elección de los materiales de partida y procedimientos, los compuestos pueden estar presentes en forma de uno de los isómeros posibles o como mezclas de los mismos, por ejemplo, como isómeros ópticos puros, o como mezclas de isómeros, tales como mezclas de racematos. La presente invención pretende incluir todos estos isómeros posibles, incluyendo mezclas racémicas, y formas ópticamente puras. Los isómeros ópticamente activos (R)- y (S)- se pueden preparar utilizando sintones quirales o reactivos quirales, o se resuelven utilizando técnicas convencionales.

30

Como se usa en este documento, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición de ácido o de adición de base de un compuesto de la invención. Las "sales" incluyen en particular "sales farmacéuticamente aceptables". El término sales farmacéuticamente aceptables se refiere a sales que retienen la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención y que por lo general no son biológicamente o de otro modo indeseables.

5 Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables se pueden formar con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, canforsulfonato, cloruro/clorhidrato, cloroteofilonato, citrato, etandisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato de hidrógeno/dihidrógeno fosfato, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato.

Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares.

15 Los ácidos orgánicos de los que se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido sulfosalicílico y similares. Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables se pueden formar con bases inorgánicas y orgánicas.

20 Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir de una unidad estructural básica o ácido, por métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales se pueden preparar haciendo reaccionar las formas ácidas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tal como hidróxido, carbonato, bicarbonato de Na, Ca, Mg, o K o similares), o haciendo reaccionar las formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Tales reacciones se llevan a cabo por lo general en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos. Generalmente, es deseable, cuando sea posible, el uso de medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetoneitrilo. Se pueden encontrar listas de sales apropiadas adicionales, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); and in "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

30 También se pretende que cualquier fórmula dada en este documento represente formas no marcadas, así como formas marcadas isotópicamente de los compuestos. Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas en este documento excepto que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa seleccionados. Ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I , respectivamente. La invención incluye diversos compuestos marcados isotópicamente como se definen en este documento, por ejemplo, aquellos en los que isótopos radiactivos, tales como ^3H y ^{14}C , o aquellos en los que están presentes isótopos no radiactivos, tales como ^2H y ^{13}C . Tales compuestos marcados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (con ^{14}C), estudios cinéticos de reacción (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), técnicas de detección o de formación de imágenes, tales como tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada de emisión de fotón único (SPECT) incluyendo ensayos de distribución de tejido de fármaco o sustrato, o en el tratamiento radioactivo de pacientes. En particular, un compuesto ^{18}F o marcado puede ser particularmente deseable para estudios PET o SPECT. Los compuestos marcados isotópicamente de fórmula (I) se pueden preparar generalmente por técnicas convencionales conocidas para los expertos en el arte o por procedimientos análogos a los descritos en los ejemplos y preparaciones que se acompañan utilizando reactivos marcados isotópicamente apropiados en lugar del reactivo no marcado empleado previamente.

Además, la sustitución con isótopos más pesados, particularmente deuterio (esto es, ^2H o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, aumento de la semivida in vivo o requisitos de dosis reducidos o una mejora del índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente de un compuesto de fórmula (I). La concentración de dicho isótopo más pesado, específicamente deuterio, puede ser definida por el factor de enriquecimiento isotópico. El término "factor de enriquecimiento isotópico", como se usa en este documento, significa la proporción entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo específico. Si un sustituyente en un compuesto de esta invención se denomina deuterio, tal compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52.5% de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), al menos 4000 (60% de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67.5% de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75% de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82.5% de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90% de

incorporación de deuterio), al menos 6333.3 (95% de incorporación de deuterio), al menos 6466.7 (97% de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99% de incorporación de deuterio), o al menos 6633.3 (99.5% de incorporación de deuterio).

5 Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquellos en los que el solvente de cristalización puede estar sustituido isotópicamente, por ejemplo, D₂O, d₆-acetona, d₆-DMSO.

10 Los compuestos de la invención, es decir, compuestos de fórmula (I) que contienen grupos capaces de actuar como donantes y/o aceptoras para enlaces de hidrógeno, pueden ser capaces de formar cocristales con formadores de cocrystal apropiados. Estos cocristales se pueden preparar a partir de compuestos de fórmula (I) mediante procedimientos de formación de cocrystal conocidos. Tales procedimientos incluyen trituración, calentamiento, cosublimación, combinación o puesta en contacto en compuestos en solución de fórmula (I) con el formador de cocrystal en condiciones de cristalización y cocristales de aislamiento formados de este modo. Los formadores de cocrystal apropiados incluyen los descritos en el documento WO 2004/078163. Por consiguiente, la invención proporciona además cocristales que comprenden un compuesto de fórmula (I).

15 p53 se refiere a la propia proteína humana como se describe en Matlashewski et al. in EMBO J. 3, 3257-62 (1984) o miembros de la familia relacionados (por ejemplo, p73 como se describe en Kaghad et al. in Cell 90, 809-19 (1997) y p63 como se describe en Yang et al in Mol Cell 2, 305-16 (1998)) (también denominado p53 de tipo salvaje en este documento) o a cualquier variante de la misma (por ejemplo, una variante de empalme, mutante, fragmento o isoforma debido a delección, inserción y/o intercambio de uno o más, por ejemplo, uno a 200, de los aminoácidos) que todavía es capaz de retener preferiblemente al menos 1 %, más preferiblemente al menos 5%, aún más preferiblemente al menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50% o más del 50% de la actividad de p53 en la supresión del crecimiento, por ejemplo, en el ensayo de supresión del crecimiento descrito en Pietenpol et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 91, 1998-2002 (1994) y, si se compara con la secuencia correspondiente de p53 de tipo salvaje, muestra al menos 20%, más preferiblemente al menos 25% de identidad con la secuencia completa, por ejemplo, Al menos 90% de identidad con una secuencia parcial de la misma. Cuando no se menciona de otro modo, p53 se refiere generalmente a TP53, p53, TP73, p73, TP63, TP73L, p63 o sus variantes, respectivamente, tal como se acaba de definir.

30 Como ya se ha indicado anteriormente, MDM2 (especialmente cuando se menciona como MDM2 o sus variantes) se refiere generalmente a todos los genes y/o proteínas codificados de los mismos con los nombres MDM2, Mdm2, HDM2, Hdm2 o una variante de los mismos. MDM4 (especialmente cuando se menciona como MDM4 o sus variantes) se refiere a todos los genes y/o proteínas codificados de los mismos con los nombres MDM4, Mdm4, HDM4, Hdm4, MDMX, MdmX, HDMX, HdmX o una variante de los mismos.

35 MDM2 se refiere específicamente a MDM2 como se describe en EMBO J. 10, 1565-9, Fakharzadeh et al., 1991, una variante de la misma se refiere a una variante de la misma que todavía se une a p53 en el sistema de ensayo descrito a continuación (por ejemplo, un variante de empalme, isoforma, fragmento, mutante u oncogén debido a delección, inserción y/o intercambio de uno o más, por ejemplo, uno a 430, de los aminoácidos), correspondientes a las proteínas de longitud completa tal como se describieron originalmente, preferiblemente al menos con 0.5%, más preferiblemente al menos con 5%, 10%, 20%, 30%, 40% o especialmente 50% o más de la afinidad de MDM2 a p53, y tienen al menos 20%, más preferiblemente al menos 25%, identidad de secuencia a MDM2 o a HDM2 como se describió originalmente o como se menciona más adelante específicamente. Cuando no se menciona de otro modo, MDM2 se refiere generalmente a MDM2, Mdm2, HDM2 o Hdm2, o sus variantes, respectivamente, tal como se acaba de definir.

45 MDM4 se refiere específicamente a MDM4 como se describe en Genomics 43, 34-42, Shvarts et al., 1997, una variante de la misma se refiere a una variante de la misma que todavía se une a p53 en el sistema de ensayo descrito a continuación (por ejemplo, una variante de empalme, Isoforma, fragmento, mutante u oncogén debido a delección, inserción y/o intercambio de uno o más, por ejemplo, uno a 430, de los aminoácidos), correspondientes a las proteínas de longitud completa tal como se describieron originalmente, preferiblemente al menos con 0.5 %, más preferiblemente al menos con 5%, 10%, 20%, 30%, 40% o especialmente 50% o más de la afinidad de MDM4 a p53, y tienen al menos 20%, más preferiblemente al menos 25%, identidad de secuencia a MDM4, a MDMX, a HDM4 o a HDM2 como se describió originalmente o como se menciona más adelante específicamente. Cuando no se menciona de otro modo, MDM4 se refiere generalmente a MDM4, Mdm4, HDM4, Hdm4, MDMX, MdmX, HDMX o HdmX, o sus variantes, respectivamente, tal como se acaba de definir.

55 El porcentaje de identidad de secuencia, a menudo también denominado homología, entre una proteína y una variante de la misma se determina preferiblemente mediante un programa informático comúnmente empleado para este propósito, tal como el programa Gap (Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Reseach Park, Madison Wisconsin, USA, which uses the algorithm of Smith and

Waterman (Adv. Appl. Math. 2: 482-489 (1981), especialmente utilizando una búsqueda de brechas afines con una penalización de apertura de brechas de 12 y una penalidad de extensión de brecha de 1.

"Variantes de los mismos", donde se menciona, significa una o más variantes.

5 Un protooncogén es un gen normal que se puede convertir en un oncogén, ya sea después de mutación o expresión aumentada. Los protooncogenes codifican proteínas que ayudan a regular el crecimiento y la diferenciación celular. Los protooncogenes están implicados a menudo en la transducción de la señal y la ejecución de señales mitogénicas, generalmente a través de sus productos de la proteína. Tras la activación, un protooncogén (o su producto) se convierte en un agente inductor de tumores, un oncogén.

10 Como se usa en este documento, el término "portador farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, revestimientos, surfactantes, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, retardadores de absorción, sales, conservantes, estabilizadores de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, colorantes y similares y combinaciones de los mismos, como serían conocidos para los expertos en el arte (véase por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289- 1329). Excepto en la medida en que cualquier portador convencional es incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

20 El término "una cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, reducción o inhibición de una enzima o una actividad proteica, o mejorar los síntomas, aliviar las condiciones, retardar o retrasar la progresión de la enfermedad, o prevenir una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, es eficaz para (1) al menos parcialmente aliviar, inhibir, prevenir y/o mejorar una condición, o un trastorno o una enfermedad (i) mediada por MDM2 y/o MDM4 o (ii) asociado a la actividad de MDM2 y/o MDM4, o (iii) caracterizado por actividad (normal o anormal) de MDM2 y/o MDM4, o (2) reducir o inhibir la actividad de MDM2 y/o MDM4, o (3) reducir o inhibir la expresión de MDM2 y/o MDM4. En otra realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula, o un tejido, o un material biológico no celular, o un medio, es eficaz para reducir o inhibir al menos parcialmente la actividad de MDM2 y/o MDM4; o reducir o inhibir al menos parcialmente la expresión de MDM2 y/o MDM4.

30 En una realización adicional, los compuestos de fórmula (I) son particularmente útiles para el tratamiento de trastornos de enfermedades asociadas con la actividad de MDM2.

35 Como se usa en este documento, el término "sujeto" se refiere a un animal. Por lo general, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere, por ejemplo, a primates (por ejemplo, humanos, machos o hembras), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un primate. En aún otras realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Como se usa en este documento, el término "inhibir", "inhibición" o "que inhibe" se refiere a la reducción o supresión de una condición dada, síntoma, o trastorno, o enfermedad, o una disminución significativa en la actividad basal de una actividad biológica o procedimiento.

40 Como se usa en este documento, el término "tratar", "que trata" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere en una realización, a mejorar la enfermedad o trastorno (esto es, retardar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o Al menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere al alivio o mejora de al menos un parámetro físico incluyendo aquellos que no pueden ser discernibles por el paciente. En aún otra realización, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a la modulación de la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o ambos. En aún otra realización, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a prevenir o retrasar la aparición o desarrollo o progresión de la enfermedad o trastorno.

Como se usa en este documento, un sujeto está "en necesidad de" un tratamiento si tal sujeto se beneficiaría biológica, médicamente o en calidad de vida a partir de tal tratamiento.

50 Como se usa en este documento, el término "un", "uno", "el" y términos similares usados en el contexto de la presente invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) deben ser interpretados para abarcar tanto el singular como el plural a menos que se indique lo contrario en este documento o claramente contradicho por el contexto.

Todos los métodos descritos en este documento se pueden llevar a cabo en cualquier orden apropiado a menos que se indique lo contrario en este documento o de otro modo claramente contradicho por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o un lenguaje de ejemplo (por ejemplo, "tal como") proporcionado en este documento se limita a ilustrar mejor la invención y no plantea una limitación en el alcance de la invención reivindicada de otro modo.

Cualquier átomo asimétrico (por ejemplo, carbono o similar) del compuesto o compuestos de la presente invención puede estar presente en forma racémica o enantioméricamente enriquecida, por ejemplo, la configuración (R)-, (S)- o (R, S)-. En ciertas realizaciones, cada átomo asimétrico tiene al menos 50% de exceso enantiomérico, al menos 60% de exceso enantiomérico, al menos 70% de exceso enantiomérico, al menos 80% de exceso enantiomérico, al menos 90 % de exceso enantiomérico, al menos 95% de exceso enantiomérico, o al menos 99% de exceso enantiomérico en la configuración (R)- o (S)-. Los sustituyentes en átomos con enlaces dobles insaturados pueden estar, si es posible, presentes en la forma cis- (Z)- o trans- (E).

De acuerdo con lo anterior, como se usa en este documento, un compuesto de la presente invención puede estar en forma de uno de los posibles isómeros, rotámeros, atropisómeros, tautómeros o mezclas de los mismos, por ejemplo, como isómeros geométricos (cis o trans) sustancialmente puros, diastereoisómeros, isómeros ópticos (antípodos), racematos o mezclas de los mismos.

Cualquier mezcla resultante de isómeros se puede separar sobre la base de las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes en isómeros geométricos u ópticos puros o sustancialmente puros, diastereómeros, racematos, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada.

Cualquiera de los racematos resultantes de productos finales o intermedios se puede resolver en los antípodos ópticos por métodos conocidos, por ejemplo, por separación de las sales diastereoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o base ópticamente activo, y liberando el compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, se puede emplear una unidad estructural básica para resolver los compuestos de la presente invención en sus antípodos ópticos, por ejemplo, mediante cristalización fraccionada de una sal formada con un ácido ópticamente activo, por ejemplo, ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido diacetil tartárico, ácido di-O,O'-p-toluil tartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido canfor-10-sulfónico. Los productos racémicos también se pueden resolver por cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía líquida de alta presión (HPLC) utilizando un adsorbente quiral.

Además, los compuestos de la presente invención, incluyendo sus sales, también se pueden obtener en forma de sus hidratos, o incluir otros solventes utilizados para su cristalización. Los compuestos de la presente invención pueden inherentemente o por diseño formar solvatos con solventes farmacéuticamente aceptables (incluyendo agua); por lo tanto, se pretende que la invención abarque tanto formas solvatadas como no solvatadas. El término "solvato" se refiere a un complejo molecular de un compuesto de la presente invención (incluyendo sus sales farmacéuticamente aceptables) con una o más moléculas de solvente. Tales moléculas de solvente son aquellas comúnmente usadas en la técnica farmacéutica, que son conocidas como inocuas para el receptor, por ejemplo, agua, etanol y similares. El término "hidrato" se refiere al complejo donde la molécula de solvente es agua. Los compuestos de la presente invención, incluyendo sales, hidratos y solvatos de los mismos, pueden inherentemente o por diseño formar polimorfos. Los solvatos o hidratos pueden ser útiles en la producción de formas cristalinas de un compuesto de fórmula (I).

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo como se define en este documento, y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo como se define en este documento, y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

La composición farmacéutica se puede formular para rutas particulares de administración tales como administración oral, administración parenteral, administración rectal, etc. Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar formadas en forma sólida (incluyendo sin limitación cápsulas, comprimidos, pastillas, gránulos, polvos o supositorios), o en forma líquida (incluyendo sin limitación soluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas pueden ser sometidas a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes convencionales, agentes lubricantes o agentes reguladores, así como adyuvantes, tales como conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes y soluciones reguladoras, etc. Por lo general, las composiciones farmacéuticas son comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el ingrediente activo junto con

a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;

b) lubricantes, por ejemplo, sílica, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos también

c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona; si se desea

d) desintegrantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico o su sal sódica, o mezclas efervescentes; y/o

e) absorbentes, colorantes, sabores y edulcorantes.

- 5 Los comprimidos pueden estar recubiertos con película o con recubrimiento entérico de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica.

10 Las composiciones apropiadas para administración oral incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención en forma de comprimidos, comprimidos para deshacer en la boca, suspensiones acuosas o aceitosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral se preparan de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y agradables al paladar. Los comprimidos pueden contener el ingrediente activo en mezcla con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables que son apropiados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o goma arábiga; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos no están recubiertos o recubiertos por técnicas conocidas para retardar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y, de este modo, proporcionar una acción sostenida durante un periodo más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

15 Ciertas composiciones inyectables son soluciones o suspensiones acuosas isotónicas, y los supositorios se preparan ventajosamente a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Dichas composiciones se pueden esterilizar y/o contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o soluciones reguladoras. Además, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con los métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen aproximadamente 0.1-75%, o contienen aproximadamente 1-50%, del ingrediente activo.

20 Las composiciones apropiadas para aplicación transdérmica incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención con un portador apropiado. Los portadores apropiados para administración transdérmica incluyen solventes que se pueden absorber farmacológicamente aceptables para ayudar al paso a través de la piel del huésped. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en forma de un vendaje que comprende un miembro de respaldo, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una barrera de control de la velocidad para suministrar el compuesto de la piel del huésped a una velocidad controlada y predeterminada a lo largo de un periodo de tiempo, y medios para asegurar el dispositivo a la piel.

25 Las composiciones apropiadas para aplicación tópica, por ejemplo, para la piel y los ojos, incluyen soluciones acuosas, suspensiones, ungüentos, cremas, geles o formulaciones pulverizables, por ejemplo, para suministro por aerosol o similar. Dichos sistemas de administración tópica serán en particular apropiados para la aplicación dérmica, por ejemplo, para el tratamiento de cáncer de piel, por ejemplo, para uso profiláctico en cremas solares, lociones, pulverizadores y similares. De este modo, son particularmente apropiados para uso en formulaciones tópicas, incluyendo cosméticas, bien conocidas en la técnica. Tales pueden contener solubilizantes, estabilizadores, agentes potenciadores de la tonicidad, soluciones reguladoras y conservantes.

30 Como se usa en este documento, una aplicación tópica también puede pertenecer a una inhalación o a una aplicación intranasal. Pueden ser suministrados convenientemente en forma de un polvo seco (ya sea solo, como una mezcla, por ejemplo, una mezcla seca con lactosa, o una partícula de componente mixta, por ejemplo, con fosfolípidos) de un inhalador de polvo seco o una presentación de pulverizador en aerosol de un recipiente presurizado, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador, con o sin el uso de un propulsor apropiado.

35 Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, pulverizaciones, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El compuesto activo se puede mezclar en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, solución reguladora o propelente que pueda ser deseable.

Los ungüentos, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de esta invención, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

5 Los polvos y pulverizadores pueden contener, además de un compuesto de esta invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y poliamida en polvo, o mezclas de estas sustancias. Los pulverizadores pueden contener adicionalmente propelentes habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

10 Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicionada de proporcionar suministro controlado de un compuesto de la presente invención al cuerpo. Dichas formas de dosificación se pueden preparar disolviendo o dispersando el compuesto en el medio apropiado. También se pueden usar potenciadores de absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de dicho flujo se puede controlar proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto activo en una matriz polimérica o gel.

También se contemplan formulaciones oftálmicas, ungüentos oculares, polvos, soluciones y similares, que están dentro del alcance de esta invención.

15 La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosificación que comprenden los compuestos de la presente invención como ingredientes activos, ya que el agua puede facilitar la degradación de ciertos compuestos.

20 Las composiciones farmacéuticas anhidras y las formas de dosificación de la invención se pueden preparar utilizando ingredientes que contienen baja humedad o anhidros y condiciones de baja humedad. Una composición farmacéutica anhidra se pueda preparar y almacenar de manera que se mantenga su naturaleza anhidra. De acuerdo con lo anterior, las composiciones anhidras se envasan utilizando materiales conocidos para prevenir la exposición al agua de tal manera que puedan ser incluidos en kits de formularios apropiados. Ejemplos de envases apropiados incluyen, pero no se limitan a láminas selladas herméticamente, plásticos, recipientes de dosis unitaria (por ejemplo, viales), envases blíster y envases de banda.

25 La invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más agentes que reducen la velocidad con la que el compuesto de la presente invención como ingrediente activo se descompondrá. Tales agentes, que se denominan en este documento como "estabilizadores", incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes tales como ácido ascórbico, soluciones reguladoras de pH o soluciones reguladoras de sal, etc.

30 La composición o combinación farmacéutica de la presente invención puede estar en una dosificación unitaria de aproximadamente 1-1000 mg de ingrediente(s) activo(s) para un sujeto de aproximadamente 50-70 kg, o aproximadamente 1-500 mg o aproximadamente 1-250 mg o aproximadamente 1-150 mg o aproximadamente 0.5-100 mg, o aproximadamente 1-50 mg de ingredientes activos. La dosificación terapéuticamente eficaz de un compuesto, de la composición farmacéutica o de sus combinaciones depende de la especie del sujeto, del peso corporal, de la edad y de la afección individual, del trastorno o enfermedad o de la gravedad del mismo que se esté tratando. Un médico, un clínico o un veterinario de experiencia usual pueden determinar fácilmente la cantidad eficaz de cada uno de los ingredientes activos necesarios para prevenir, tratar o inhibir el progreso del trastorno o enfermedad.

40 Las propiedades de dosificación citadas anteriormente son ensayos demostrables in vitro e in vivo utilizando ventajosamente mamíferos, por ejemplo, ratones, ratas, perros, monos u órganos aislados, tejidos y preparaciones de los mismos. Los compuestos de la presente invención se pueden aplicar in vitro en forma de soluciones, por ejemplo, soluciones acuosas, e in vivo bien enteralmente, parenteralmente, ventajosamente por vía intravenosa, por ejemplo, en forma de suspensión o en solución acuosa. La dosificación in vitro puede variar entre concentraciones aproximadamente 10^{-3} molar y 10^{-9} molar. Una cantidad terapéuticamente eficaz in vivo puede variar en función de la ruta de administración, entre aproximadamente 0.1-500 mg/kg, o entre aproximadamente 1-100 mg/kg.

45 La actividad de un compuesto de acuerdo con la presente invención se puede evaluar por los siguientes métodos in vitro e in vivo.

50 Los compuestos de fórmula I en forma libre o en forma de sal exhiben valiosas propiedades farmacológicas, por ejemplo, propiedades moduladoras de MDM2 y/o MDM4, por ejemplo, como se indica en las pruebas proporcionadas en las secciones siguientes, y por lo tanto se indican para terapia.

Teniendo en cuenta su efecto inhibitorio sobre la interacción p53/MDM2 y/o p53/MDM4, los compuestos de fórmula (I) en forma de sal libre o farmacéuticamente aceptable son útiles en el tratamiento de afecciones que están mediadas por la actividad (incluyendo actividad normal o especialmente hiperactividad) de MDM2 y/o MDM4, o sus variantes,

respectivamente, como se describe, tales como afecciones proliferativas y/o inflamatorias, por ejemplo, por activación de la interacción p53/MDM2, y/o que son sensibles (es decir, especialmente de una manera terapéuticamente beneficiosa) a la inhibición de la interacción p53/MDM2, más especialmente una enfermedad o trastorno como se menciona en este documento más adelante.

5 Se cree que los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de una enfermedad basada en la desregulación del ciclo celular, tal como un trastorno o enfermedad proliferativa, por ejemplo, cáncer o enfermedades tumorales. En particular, tales enfermedades o trastornos incluyen tumores benignos o malignos, un sarcoma de tejido blando o un sarcoma tal como liposarcoma, rhabdomyosarcoma o cáncer de hueso, por ejemplo, osteosarcomas, un carcinoma, tal como del cerebro, riñón, hígado, glándula suprarrenal, vejiga, mama, gástrico, ovario, colon, recto, próstata, páncreas, pulmón, vagina o tiroides, un glioblastoma, meningioma, glioma, mesotelioma, un mieloma múltiple, un cáncer gastrointestinal, especialmente carcinoma del colon, adenoma colorrectal, un tumor de cabeza y cuello, un melanoma, una hiperplasia de próstata, una neoplasia, una neoplasia de carácter epitelial, una leucemia tal como una leucemia mieloide aguda o leucemia linfocítica crónica de células B, un linfoma, tal como origen de células B o T y metástasis en otros órganos), infecciones virales (por ejemplo, herpes, papiloma, VIH, Kaposi, hepatitis viral). Los usos particulares son para el tratamiento de tumores benignos o malignos, un sarcoma de tejidos blandos o un sarcoma tal como liposarcoma, rhabdomyosarcoma o cáncer de hueso, por ejemplo, osteosarcomas, un carcinoma, tal como del riñón, hígado, glándula suprarrenal, vejiga, mama, gástrica, ovario, colon, recto, próstata, páncreas, pulmón, vagina o tiroides, mesotelioma, un mieloma múltiple, un cáncer gastrointestinal, especialmente un carcinoma de colon o un adenoma colorrectal, un tumor de cabeza y cuello, un melanoma, una hiperplasia prostática, una neoplasia, una neoplasia de carácter epitelial, una leucemia tal como la leucemia mieloide aguda o una leucemia linfocítica crónica de células B, un linfoma, tal como de origen de células B o T y metástasis en otros órganos.

También se cree que los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de un trastorno o enfermedad que implica el sistema inmune, en particular enfermedades autoinmunes o enfermedades inmunes resultantes del trasplante (tales como artritis reumatoide, enfermedad de injerto contra huésped, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, tiroiditis de Hashimoto, polimiositis), afecciones inflamatorias crónicas, tales como asma, osteoartritis, aterosclerosis, Morbus Crohn o afecciones inflamatorias o alérgicas de la piel, por ejemplo, psoriasis, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, alopecia areata, eritema multiforme, dermatitis herpetiforme, esclerodermia, vitiligo, angitis de hipersensibilidad, urticaria, penfigoide ampolloso, pénfigo, epidermolísis bullosa adquirida u otras condiciones inflamatorias o alérgicas de la piel o trastornos hiperproliferativos (por ejemplo, el síndrome de Li-Fraumeni).

En otra realización se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo como se define en este documento, para uso como un producto farmacéutico.

35 Una realización adicional proporciona un compuesto de fórmula (I) o sal del mismo como se define en este documento, para uso en el tratamiento de un trastorno o una enfermedad mediada por la actividad de MDM2 y/o MDM4.

Una realización adicional describe el uso de un compuesto de fórmula (I) o sal del mismo como se define en este documento, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno o una enfermedad en un sujeto mediado por la actividad de MDM2 y/o MDM4.

40 También se describe el uso de un compuesto de fórmula (I) en terapia. En una realización adicional, la terapia se selecciona de una enfermedad que puede ser tratada por inhibición de la interacción MDM2/p53 y/o MDM4/p53, en particular las enfermedades o trastornos enumerados en este documento. En una realización, la enfermedad o trastorno es una enfermedad proliferativa, en particular el cáncer. Más particularmente, el cáncer es uno de los tipos de cáncer descritos en este documento.

45 Los compuestos de la fórmula (I) tienen propiedades farmacológicas ventajosas y perturban la interacción de unión (también denominada en este documento como interacción p53/MDM2 y p53/MDM4 o únicamente como interacción p53/MDM2) entre p53 por un lado y MDM2 y/o MDM4 o (especialmente oncogénicas) sus variantes que todavía son capaces de unirse a p53, en el otro lado. La interrupción de la formación del complejo p53-MDM2 o p53-MDM4 se debe a que una molécula inhibidora se une al sitio de unión a p53 de MDM2 o MDM4.

50 También se describe el uso de un compuesto de fórmula (I) (o una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I)) en el tratamiento de una o más de las enfermedades mencionadas anteriormente y a continuación donde la(s) enfermedad(es) responde(n) (de una manera beneficiosa, por ejemplo, mediante la eliminación parcial o completa de uno o más de sus síntomas hasta la curación o remisión completa) a una inhibición de la interacción MDM2/p53 y/o MDM4/p53, especialmente donde la MDM2 o MDM4 y/o variante implicada muestra (por ejemplo, en el contexto de otros mecanismos reguladores, debido a la sobreexpresión, a la mutación o similares) actividad inadecuadamente alta o más alta que la normal.

- También se describe el uso de un compuesto de fórmula (I) para inducir la desaceleración del ciclo celular o preferiblemente detención y/o apoptosis en células que contienen p53 o sus variantes que son todavía funcionales, para sensibilizar células a uno o más agentes farmacéuticamente activos adicionales, tales como inductores de apoptosis y/o de desaceleración o detención del ciclo celular, y a la quimioprotección de células normales mediante la inducción de la desaceleración o detención del ciclo celular antes del tratamiento con uno o más agentes quimioterapéuticos, al uso en la producción de células resistentes a agentes quimioterapéuticos y/o tratamientos, y/o el uso en la protección de células de efectos secundarios tóxicos de agentes quimioterapéuticos o tratamientos, tales como efectos secundarios que producen mucositis, estomatitis, xerostomía, trastornos gastrointestinales y/o alopecia.
- Un compuesto de fórmula (I) también puede usarse ventajosamente en combinación con otros compuestos antiproliferativos. Tales compuestos antiproliferativos incluyen, pero no se limitan a inhibidores de la aromatasas; antiestrógenos; inhibidores de la topoisomerasa I; inhibidores de la topoisomerasa II; compuestos activos de microtúbulos; compuestos alquilantes; inhibidores de la histona desacetilasa; compuestos que inducen procesos de diferenciación celular; inhibidores de la ciclooxigenasa; inhibidores de MMP; inhibidores de mTOR, tales como RAD001; antimetabolitos antineoplásicos; compuestos de platino; compuestos que dirigen/disminuyen una actividad de una proteína o fosfatasa lipídica; agonistas de gonadorelina; antiandrógenos; inhibidores de metionina aminopeptidasa; bisfosfonatos; modificadores de la respuesta biológica; anticuerpos antiproliferativos, tales como HCD122; inhibidores de heparanasa; inhibidores de isoformas oncogénicas de Ras; inhibidores de la telomerasa; inhibidores de proteasoma; compuestos utilizados en el tratamiento de neoplasias malignas hematológicas, tales como fludarabina; compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de Flt-3, tal como PKC412; inhibidores de Hsp90 tales como 17-AAG (17-alilaminogeldanamicina, NSC330507), 17-DMAG (17-dimetilaminoetilamino-17-demetoxi-geldanamicina, NSC707545), IPI-504, CNF1010, CNF2024, CNF1010 de Conformia Therapeutics y AU922; temozolomida (TEMODAL™); inhibidores de la proteína cinesina en el huso, tales como SB715992 o SB743921 de GlaxoSmithKline, o pentamidina/clorpromazina de CombinatoRx; inhibidores de PI3K, tales como BEZ235; inhibidores RAF, tales como RAF265; inhibidores de MEK tales como ARRY142886 de Array BioPharma, AZD6244 de AstraZeneca, PD181461 de Pfizer, leucovorina, aglutinantes de EDG, compuestos antileucemia, inhibidores de ribonucleótido reductasa, inhibidores de S-adenosilmetionina descarboxilasa, reguladores de apoptosis, anticuerpos antiproliferativos u otros compuestos quimioterapéuticos. Además, alternativamente o adicionalmente se pueden usar en combinación con otros enfoques de tratamiento tumoral, incluyendo cirugía, radiación ionizante, terapia fotodinámica, implantes, por ejemplo, con corticosteroides, hormonas, o pueden ser utilizados como radiosensibilizadores. También, en el tratamiento antiinflamatorio y/o antiproliferativo, se incluye la combinación con fármacos antiinflamatorios. La combinación también es posible con sustancias farmacéuticas antihistamínicas, fármacos broncodilatadores, NSAID o antagonistas de receptores de quimioquinas.
- El término "inhibidor de la aromatasas" como se usa en este documento, se refiere a un compuesto que inhibe la producción de estrógenos, esto es, la conversión de los sustratos de androstenediona y testosterona en estrona y estradiol, respectivamente. El término incluye, pero no se limita a, esteroides, especialmente atamestano, exemestano y formestano y, en particular, no esteroides, especialmente aminoglutetimida, roglitimida, piroglutetimida, trilostano, testolactona, ketokonazol, vorozol, fadrozol, anastrozol y letrozol. El exemestano se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial AROMASIN. El formestano se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial LENTARON. El fadrozol se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial AFEMA. El anastrozol se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial ARIMIDEX. El letrozol se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial FEMARA o FEMAR. La aminoglutetimida se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada ORIMETEN. Una combinación de la invención que comprende un agente quimioterapéutico que es un inhibidor de aromatasas es particularmente útil para el tratamiento de tumores positivos para receptores hormonales, por ejemplo, tumores de mama.
- El término "antiestrógeno" como se usa en este documento se refiere a un compuesto que antagoniza el efecto de los estrógenos en el nivel del receptor de estrógeno. El término incluye, pero no se limita a, tamoxifeno, fulvestrant, raloxifeno y clorhidrato de raloxifeno. El tamoxifeno se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial NOLVADEX. El clorhidrato de raloxifeno se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial EVISTA. El fulvestrant se puede formular como se describe en el documento US 4,659,516 o se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada FASLODEX. Una combinación de la invención que comprende un agente quimioterapéutico que es un antiestrógeno es particularmente útil para el tratamiento de tumores positivos para receptores de estrógenos, por ejemplo, tumores de mama.

El término "antiandrógeno" como se usa en este documento se refiere a cualquier sustancia que sea capaz de inhibir los efectos biológicos de las hormonas androgénicas e incluye, pero no se limita a, bicalutamida (CASODEX™), que se puede formular, por ejemplo, como se describe en el documento US 4,636,505.

5 El término "agonista de gonadorelina" como se usa en este documento incluye, pero sin limitación, abarelix, goserelina y acetato de goserelina. La goserelina se describe en el documento US 4,100,274 y se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial ZOLADEX. El abarelix se puede formular, por ejemplo, como se describe en el documento US 5,843,901.

10 El término "inhibidor de la topoisomerasa I", como se usa en este documento, incluye, pero no se limita a topotecán, gimotecán, irinotecán, camptotecino y sus análogos, 9-nitrocampotecina y el conjugado macromolecular camptotecina PNU-166148 (compuesto A1 en WO99/17804). El irinotecan se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial CAMPTOSAR. El topotecan se puede administrar, por ejemplo, en la forma como se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada HYCAMTIN.

15 El término inhibidor de la topoisomerasa II, como se usa en este documento, incluye, pero no se limita a, antraciclinas tales como doxorubicina (incluyendo formulación liposomal, por ejemplo, CAELYX), daunorubicina, epirubicina, idarrubicina y nemorubicina, las antraquinonas mitoxantrona y losoxantrona y la podofilotoxinas etopósido y tenipósido. El etopósido se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial ETOPOPHOS. Se puede administrar tenipósido, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial VM 26-BRISTOL. La doxorubicina se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial ADRIBLASTIN o ADRIAMYCIN. La epirubicina se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial FARMORUBICIN. La idarubicina se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial ZAVEDOS. La mitoxantrona se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial NOVANTRON.

25 El término "compuesto activo de microtúbulos" se refiere a compuestos estabilizadores de microtúbulos, desestabilizadores de microtúbulos e inhibidores de polimerización de microtubos incluyendo, pero sin limitarse a, taxanos, por ejemplo, paclitaxel y docetaxel, alcaloides vinca, por ejemplo, vinblastina, especialmente sulfato de vinblastina, vincristina especialmente sulfato de vincristina y vinorelbina, discodermólidos, cochicina y epotilonas y sus derivados, por ejemplo, epotilona B o D o sus derivados. El paclitaxel se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, TAXOL™. El docetaxel se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial TAXOTERE. El sulfato de vinblastina se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo el nombre comercial VINBLASTIN R.P. El sulfato de vincristina se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial FARMISTIN. La discodermólida se puede obtener, por ejemplo, como se describe en el documento US 5,010,099. También se incluyen derivados de epotilona que se describen en los documentos WO 98/10121, US 6,194,181, WO 98/25929, WO 98/08849, WO 99/43653, WO 98/22461 and WO 00/31247. Se prefieren especialmente la epotilona A y/o B.

40 El término "compuesto alquilante" como se usa en este documento incluye, pero no se limita a, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán o nitrosourea (BCNU o Gliadel). La ciclofosfamida se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial CYCLOSTIN. La ifosfamida se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial HOLOXAN.

45 El término "antimetabolito antineoplásico" incluye, pero no se limita a, 5-Fluorouracilo o 5-FU, capecitabina, gemcitabina, compuestos desmetilantes de ADN, tales como 5-azacitidina y decitabina, metotrexato y edatrexato y antagonistas de ácido fólico tales como pemetrexed. La capecitabina se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial XELODA. La gemcitabina se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada GEMZAR.

50 El término "compuesto de platino" como se usa en este documento incluye, pero no se limita a, carboplatino, cisplatino, cisplatino y oxaliplatino. El carboplatino se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial CARBOPLAT. El oxaliplatino se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial registrada ELOXATIN.

El término "compuestos que dirigen/disminuyen una actividad de proteína o de quinasa lipídica"; o una "actividad de proteína o fosfatasa lipídica"; o "compuestos antiangiogénicos adicionales", como se usa en este documento, incluye, pero no se limita a, inhibidores de la proteína tirosina quinasa y/o serina y/o inhibidores de la treonina quinasa o inhibidores de la quinasa lipídica, por ejemplo,

- a) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de los receptores de factor de crecimiento derivados de plaquetas (PDGFR), tales como compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de PDGFR, especialmente compuestos que inhiben el receptor de PDGF, por ejemplo, un derivado de N-fenil-2-pirimidina-amina, por ejemplo, imatinib, SU101, SU6668 y GFB-111;
- 5 b) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de los receptores de factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR);
- c) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad del receptor de factor de crecimiento de tipo insulina I (IGF-IR), tales como compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de IGF-IR, especialmente compuestos que inhiben la actividad quinasa del receptor de IGF1, tales como los compuestos descritos en WO 02/092599, o anticuerpos que se dirigen al dominio extracelular del receptor de IGF-I o sus factores de crecimiento;
- 10 d) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de la tirosina quinasa del receptor Trk, o inhibidores de ephrin B4;
- e) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de tirosina quinasa del receptor Axl;
- f) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de la tirosina quinasa del receptor Ret;
- 15 g) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de la tirosina quinasa del receptor kit/SCFR, esto es, tirosina quinasas del receptor c-Kit- (parte de la familia PDGFR), tales como compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de tirosina quinasa del receptor c-Kit, especialmente compuestos que inhiben el receptor c-Kit, por ejemplo, imatinib;
- 20 h) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de miembros de la familia c-Abl, sus productos de fusión génica (por ejemplo, quinasa BCR-Abl) y mutantes, tales como compuestos que disminuyen o inhiben la actividad de los miembros de la familia c-Abl y sus productos de fusión génica, por ejemplo, un derivado de N-fenil-2-pirimidina-amina, por ejemplo, imatinib o nilotinib (AMN107); PD180970; AG957; NSC 680410; PD173955 de ParkeDavis; o dasatinib (BMS- 354825);
- 25 i) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de miembros de la proteína quinasa C (PKC) y de la familia Raf de serina/treonina quinasas, miembros de la MEK, SRC, JAK, FAK, PDK1, PKB/Akt, y miembros de la familia Ras/MAPK y/o miembros de la familia de cinasas dependientes de ciclina (CDK) y son especialmente aquellos derivados de estaurosporina descritos en el documento US 5,093,330, por ejemplo, midostaurina; ejemplos de otros compuestos incluyen por ejemplo, UCN-01, safingol, BAY 43-9006, Bryostatin 1, Perifosine; Ilmofofosine; RO 318220 and RO 320432; GO 6976; Isis 3521; LY333531/LY379196; compuestos de isocinolina tales como los descritos en el documento WO 00/09495; FTIs; BEZ235 (un inhibidor de P13K) o AT7519 (inhibidor de CDK);
- 30 j) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de inhibidores de la proteína tirosina quinasa, tales como compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de los inhibidores de la proteína tirosina quinasa incluyen mesilato de imatinib (GLEEVECTM) o tirfostina. Una tirfostina es preferiblemente un compuesto de bajo peso molecular (Mr <1500), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, especialmente un compuesto seleccionado entre la clase de bencilidenmalonitrilo o la clase de compuestos de S-arilbencenomalonitrilo o bis-substrato quinolina, más especialmente cualquier compuesto seleccionado del grupo que consistente en Tyrphostin A23/RG-50810; AG 99; Tyrphostin AG 213; Tyrphostin AG 1748; Tyrphostin AG 490; Tyrphostin B44; enantiómero Tyrphostin B44 (+); Tyrphostin AG 555; AG 494; Tyrphostin AG 556, AG957 y adafostina (adamantil éster del ácido 4-[(2,5- dihidroxifenil)metil]amino}-benzoico; NSC 680410, adafostina);
- 35 k) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de la familia del factor de crecimiento epidérmico de tirosina quinasas receptoras (EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4 como homo- o heterodímeros) y sus mutantes, tales como compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de receptores del factor de crecimiento epidérmico son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben miembros de la familia de tirosina quinasa del receptor EGF, por ejemplo, receptor de EGF, ErbB2, ErbB3 y ErbB4 o se unen a EGF o ligandos relacionados con EGF, y son en particular aquellos compuestos, proteínas o anticuerpos monoclonales descritos genéricamente y específicamente en el documento WO 97/02266, por ejemplo, el compuesto del ej. 39, o en los documentos EP 0 564 409, WO 99/03854, EP 0520722, EP 0 566 226, EP 0 787 722, EP 0 837 063, US 5,747,498, WO 98/10767, WO 97/30034, WO 97/49688, WO 97/38983 y, especialmente, WO 96/30347 (por ejemplo, compuesto conocido como CP 358774), WO 96/33980 (por ejemplo, compuesto ZD 1839) y WO 95/03283 (por ejemplo, compuesto ZM105180); por ejemplo, trastuzumab (HerceptinTM), cetuximab (ErbixTM), Iressa, Tarceva, OSI-774, CI-1033, EKB-569, GW-2016, E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 o E7.6.3, y derivados 7H-pirrololo[2,3-d]pirimidina que se describen en el documento WO 03/013541, también ; y
- 50

l) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad del receptor c-Met, tales como compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de c-Met, especialmente compuestos que inhiben la actividad quinasa del receptor c-Met, o anticuerpos que se dirigen al dominio extracelular de c-Met o se unen a HGF;

m) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de PI3K, tales como BEZ235 o BKM120;

- 5 n) compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de la familia de quinasas dependientes de ciclina, tal como PD 0332991.

Otros compuestos anti-angiogénicos incluyen compuestos que tienen otro mecanismo para su actividad, por ejemplo, no relacionado con la inhibición de la proteína o la quinasa lipídica, por ejemplo, Talidomida (THALOMID) y TNP-470.

- 10 Los compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de una proteína o fosfatasa lipídica son, por ejemplo, Inhibidores de la fosfatasa 1, fosfatasa 2A o CDC25, por ejemplo, ácido okadaico o un derivado del mismo.

Los compuestos que inducen procesos de diferenciación celular son, por ejemplo, Ácido retinoico, α - γ o δ -tocoferol o α - γ o δ -tocotrienol.

- 15 El término inhibidor de la ciclooxigenasa, como se usa en este documento, incluye, pero no se limita a, por ejemplo, inhibidores de Cox-2, ácido 2-arilaminofenilacético sustituido con 5-alquilo y derivados, tales como celecoxib (CELEBREXTM), rofecoxib (VIOXXTM), etoricoxib, valdecoxib o un ácido 5-alquil-2-arilaminofenilacético, por ejemplo, ácido 5-metil-2-(2'-cloro-6'-fluoroanilino) fenilacético, lumiracoxib.

- 20 El término "bifosfonatos" como se usa en este documento incluye, pero no se limita a, ácido etridrónico, clodrónico, tiludrónico, pamidrónico, alendrónico, ibandrónico, risedrónico y zoledrónico. El "ácido etridrónico" se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial DIDRONEL. El "ácido clodrónico" se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial BONEFOS. El "ácido tiludrónico" se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial SKELID. Se puede administrar "ácido pamidrónico", por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial AREDIA. El "ácido alendrónico" se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial FOSAMAX. El "ácido ibandrónico" se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial BONDRANAT. El "ácido risedrónico" se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial ACTONEL. El "ácido zoledrónico" se puede administrar, por ejemplo, en la forma en que se comercializa, por ejemplo, bajo la marca comercial ZOMETA.

- 30 El término "inhibidores de mTOR" se refiere a compuestos que inhiben el objetivo mamífero de rapamicina (mTOR) y que poseen actividad antiproliferativa tal como sirolimus (RapamuneTM), everolimus (CerticanTM o AfinitorTM), CCI-779 y ABT578.

El término "inhibidor de heparanasa" como se usa en este documento se refiere a compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la degradación del sulfato de heparina. El término incluye, pero no se limita a, PI-88.

- 35 El término "modificador de la respuesta biológica" como se usa en este documento se refiere a una linfoquina o interferones, por ejemplo, interferón γ .

El término "inhibidor de isoformas oncogénicas Ras", por ejemplo, H-Ras, K-Ras o N-Ras, como se usa en este documento, se refiere a compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad oncogénica de Ras, por ejemplo, un "inhibidor de farnesil transferasa" por ejemplo, L-744832, DK8G557 o R115777 (Zarnestra).

- 40 El término "inhibidor de la telomerasa" como se usa en este documento se refiere a compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de la telomerasa. Los compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de la telomerasa son especialmente compuestos que inhiben el receptor de la telomerasa, por ejemplo, telomestatina.

- 45 El término "inhibidor de metionina aminopeptidasa" como se usa en este documento se refiere a compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de metionina aminopeptidasa. Los compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de metionina aminopeptidasa son, por ejemplo, bengamida o un derivado de la misma.

El término "inhibidor de proteasoma" como se usa en este documento se refiere a compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad del proteasoma. Los compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad del proteasoma incluyen, por ejemplo, Bortezomid (VelcadeTM) y MLN 341.

- 5 El término "inhibidor de metaloproteinasas de matriz" o (inhibidor de "MMP") como se usa en este documento incluye, pero no se limita a, inhibidores de colágeno peptidomiméticos y no peptidomiméticos, derivados de tetrazolilo, por ejemplo, inhibidor peptidomimético de hidroxamato, batimastat y su análogo marimastat oralmente biodisponible (BB-2516), prinomastat (AG3340), metastat (NSC 683551) BMS-279251, BAY 12-9566, TAA211, MMI270B o AAJ996.
- 10 El término "compuestos utilizados en el tratamiento de enfermedades malignas hematológicas" como se usa en este documento incluye, pero no se limita a, inhibidores de la tirosina quinasa similares a FMS, por ejemplo, por ejemplo, compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de receptores de tirosina quinasa similares a FMS (Flt-3R); interferón, 1-b-D-arabinofuransilcitosina (ara-c) y bisulfán; y los inhibidores de ALK, por ejemplo, compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la linfoma quinasa anaplásica.
- Los compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de receptores de tirosina quinasa similares a FMS (Flt-3R) son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben miembros de la familia de receptores de quinasa Flt-3R, por ejemplo, PKC412, TKI258, midostaurina, un derivado de estaurosporina, SU11248 y MLN518.
- 15 El término "inhibidores de HSP90", como se usa en este documento, incluye, pero no se limita a, compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad ATPasa intrínseca de HSP90; degradan, dirigen, disminuyen o inhiben las proteínas cliente HSP90 a través de la vía del proteosoma ubiquitina. Los compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad ATPasa intrínseca de HSP90 son especialmente compuestos, proteínas o anticuerpos que inhiben la actividad ATPasa de HSP90, por ejemplo, 17-alilamino, 17-demetoxigeldanamicina (17AAG), un derivado de geldanamicina; Otros compuestos relacionados con la geldanamicina; radicicol e inhibidores de HDAC. Un ejemplo de inhibidor HSP90 es AUY922.
- 20 El término "reguladores de la apoptosis" como se usa en este documento incluye, pero no se limita a, compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de miembros de la familia Bcl2 (tales como ABT-263) y miembros de la familia IAP (tales como AEG40826); o inducen la apoptosis por mecanismos de acción conocidos o desconocidos (por ejemplo, anticuerpo TRAIL, anticuerpo DR5).
- 25 El término "anticuerpos antiproliferativos" como se usa en este documento incluye, pero sin limitación, trastuzumab (Herceptin™), Trastuzumab-DM1, erbitux, bevacizumab (Avastin™), rituximab (Rituxan™), PRO64553 (anti-CD40), Anticuerpo 2C4 y anticuerpo HCD122 (anti-CD40). Por anticuerpos se entiende, por ejemplo, anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos formados a partir de al menos 2 anticuerpos intactos y fragmentos de anticuerpos siempre que exhiban la actividad biológica deseada.
- 30 Para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (AML), los compuestos de la fórmula (I) se pueden usar en combinación con terapias de leucemia estándar, especialmente en combinación con terapias usadas para el tratamiento de la AML. En particular, los compuestos de fórmula (I) se pueden administrar en combinación con, por ejemplo, inhibidores de farnesil transferasa y/u otros fármacos útiles para el tratamiento de AML, tales como Daunorubicina, Adriamicina, Ara-C, VP-16, Tenipósido, Mitoxantrona, Idarrubicina, Carboplatino y PKC412.
- 35 El término "compuestos antileucémicos" incluye, por ejemplo, Ara-C, un análogo de pirimidina, que es el derivado 2'-alfa-hidroxi ribosa (arabinósido) de desoxicitidina. También se incluye el análogo de purina de hipoxantina, 6-mercaptopurina (6-MP) y fosfato de fludarabina.
- 40 Los compuestos que dirigen, disminuyen o inhiben la actividad de los inhibidores de la histona desacetilasa (HDAC) tales como el butirato de sodio y el ácido hidroxámico de suberoilánilida (SAHA) inhiben la actividad de las enzimas conocidas como histona desacetilasas. Los inhibidores de HDAC específicos incluyen MS275, SAHA, FK228 (antes FR901228), Tricostatina A, LDH589 descrita en el documento WO 02/22577 y los compuestos descritos en US 6,552,065, en particular, N-hidroxi-3-[4-[[2--metil-1H-indol-3-il]-etil]-amino]-metil] fenil]-2E-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y N-hidroxi-3-[4-[(2-hidroxi-etilo){2-(1H-indol-3-il) etil]-amino]metil]fenil]-2E-2-propenamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, especialmente la sal de lactato.
- 45 Los antagonistas de los receptores de somatostatina, como se usan en este documento, se refieren a compuestos que dirigen, tratan o inhiben el receptor de somatostatina, tal como octreotida, y SOM230 (pasireótido).
- 50 Los enfoques dañinos de células tumorales se refieren a enfoques tales como radiación ionizante. El término "radiación ionizante" mencionado anteriormente y en adelante significa radiación ionizante que se produce como rayos electromagnéticos (tales como rayos X y rayos gamma) o partículas (tales como partículas alfa y beta). La radiación ionizante se proporciona en, pero no se limita a, terapia de radiación y es conocida en la técnica. Véase Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, in Principles and Practice of Oncology, Devita et al., Eds., 4th Edition, vol. 1, págs. 248-275 (1993).

El término "aglutinantes EDG" como se usa en este documento se refiere a una clase de inmunosupresores que modula la recirculación de linfocitos, tal como FTY720.

El término "inhibidores del ribonucleótido reductasa" se refiere a análogos de nucleósidos de pirimidina o purina incluyendo, pero no limitados a, fludarabina y/o arabinósido de citosina (ara-C), 6-tioguanina, 5-fluorouracilo, cladribina, 6-mercaptopurina (especialmente en combinación con ara-C contra ALL) y/o pentostatina. Los inhibidores del ribonucleótido reductasa son especialmente derivados de hidroxiaurea o 2-hidroxi-1H-isoindol-1,3-diona, tales como PL-1, PL-2, PL-3, PL-4, PL-5, PL-7 o PL-8 mencionadas en Nandy et al., *Acta Oncologica*, Vol. 33, No. 8, págs. 953-961 (1994).

El término "inhibidores de la S-adenosilmetionina descarboxilasa" como se usa en este documento incluye, pero no se limita a los compuestos descritos en el documento US 5,461,076.

Los compuestos, proteínas o anticuerpos monoclonales de VEGF se describen en el documento WO 98/35958, por ejemplo, 1-(4-cloroanilino)-4-(4-piridilmetil) ftalazina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por ejemplo, el succinato, o en los documentos WO 00/09495, WO 00/27820, WO 00/59509, WO 98/11223, WO 00/27819 y EP 0 769 947; descrito por Prewett et al., *Cancer Res*, Vol. 59, págs. 5209-5218 (1999); Yuan et al., *Proc Natl Acad Sci. U.S A*, Vol. 93, págs. 14765-14770 (1996); Zhu et al., *Cancer Res*, Vol. 58, páginas 3209-3214 (1998); y Mordenti et al., *Toxicol Pathol*, vol. 27, No. 1, págs. 14-21 (1999); en los documentos WO 00/37502 y WO 94/10202; ANGIOSTATINA, descrita por O'Reilly et al., *Cell*, Vol. 79, págs. 315-328 (1994); ENDOSTATINA, descrita por O'Reilly et al., *Cell*, vol. 88, págs. 277-285 (1997); amidas de ácido antranílico; ZD4190; ZD6474; SU5416; SU6668; bevacizumab; o anticuerpos anti-VEGF o anticuerpos del receptor anti-VEGF, por ejemplo, rhuMAb y RHUFab, aptámero de VEGF por ejemplo, Macugon; inhibidores de FLT-4, inhibidores de FLT-3, anticuerpo IgG1 de VEGFR-2, Angiozyme (RPI 4610) y Bevacizumab (Avastin™), axitinib, (N-metil-2-[[3-[[E] 2-iletetil]-1H-indazol-6-il] sulfanil] benzamida, también conocida como AG013736, y descrita en la Publicación PCT No. WO 01/002369), Alaninato de Brivanib ((S)-((R)-1-4-(4-fluoro-2-metil-1H-indol-5-iloxi)-5-metilpirrolo [2,1-f] [1,2,4] triazin-6-iloxi) propan-2-il)2-aminopropanoato, también conocido como BMS-582664), motesanib (N-(2,3-dihidro-3,3-dimetil-1H-indol-6-il)-2-[(4-piridinilmetil)amino]-3-piridincarboxamida, y descrito en la Publicación PCT No. WO 02/066470), pasireotide (también conocido como SOM230, y descrito en la Publicación PCT No. WO 02/010192), sorafenib (vendido bajo el nombre comercial Nexavar®).

La terapia fotodinámica, como se usa en este documento, se refiere a la terapia que utiliza ciertos productos químicos conocidos como compuestos fotosensibilizantes para tratar o prevenir cánceres. Ejemplos de terapia fotodinámica incluyen el tratamiento con compuestos, tales como, por ejemplo, VISUDYNE™ y porfimer sódico.

Los esteroides angiostáticos, como se usa en este documento, se refieren a compuestos que bloquean o inhiben la angiogénesis, tales como, por ejemplo, anecortavo, triamcinolona. La hidrocortisona, 11- α -epihidrocortisol, cortexolona, 17- β -hidroxiprogesterona, corticosterona, desoxicorticosterona, testosterona, estrona y dexametasona.

Los implantes que contienen corticosteroides se refieren a compuestos, tales como, por ejemplo, fluocinolona, dexametasona.

"Otros compuestos quimioterapéuticos" incluyen, pero no se limitan a, alcaloides vegetales, compuestos hormonales y antagonistas; modificadores de la respuesta biológica, preferiblemente linfoquinas o interferones; oligonucleótidos antisentido o derivados de oligonucleótidos; ARNsh o ARNsi; o compuestos diversos o compuestos con otro mecanismo de acción desconocido.

La estructura de los compuestos activos identificados por los números de código, nombres genéricos o nombres comerciales se pueden tomar de la edición real del compendio estándar "The Merck Index" o de bases de datos, por ejemplo, Patentes Internacional (por ejemplo, IMS World Publications).

Ninguna de las citas de referencias hechas dentro de la presente divulgación se debe entender como una admisión que las referencias citadas son técnicas anteriores que afectarían negativamente a la patentabilidad de la presente invención.

Los compuestos anteriormente mencionados, que se pueden usar en combinación con un compuesto de fórmula (I), se pueden preparar y administrar como se describe en la técnica, tal como en los documentos citados anteriormente.

Un compuesto de la fórmula (I) se puede administrar solo o en combinación con uno o más otros compuestos terapéuticos, una posible terapia de combinación que toma la forma de combinaciones fijas o la administración de un compuesto de la invención y uno o más otros compuestos terapéuticos (incluyendo profilácticos) que se escalonan o administrados independientemente uno de otro, o la administración combinada de combinaciones fijas y uno o más otros compuestos terapéuticos. Un compuesto de la fórmula (I) puede además o además ser administrado

especialmente para terapia tumoral en combinación con quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia, fototerapia, intervención quirúrgica o una combinación de éstos. La terapia a largo plazo es igualmente posible como es la terapia adyuvante en el contexto de otras estrategias de tratamiento, como se describió anteriormente. Otros tratamientos posibles son la terapia para mantener el estado del paciente después de la regresión del tumor, o incluso terapia quimiopreventiva, por ejemplo, en pacientes en riesgo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo como se define en este documento, en combinación con uno o más agentes terapéuticamente activos. En particular, el otro agente terapéutico se selecciona de uno o más de los asociados de combinación descritos en este documento.

El compuesto de la presente invención se puede administrar simultáneamente con, o antes o después, uno o más agentes terapéuticos. El compuesto de la presente invención se puede administrar por separado, por la misma o diferente ruta de administración, o juntos en la misma composición farmacéutica que los otros agentes.

En una realización, la invención proporciona un producto que comprende un compuesto de fórmula (I) y al menos un otro agente terapéutico como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en terapia. En una realización, la terapia es el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la inhibición de la interacción MDM2/p53 y/o MDM4/p53. Los productos suministrados como una preparación combinada incluyen una composición que comprende el compuesto de fórmula (I) y el otro agente o agentes terapéuticos juntos en la misma composición farmacéutica, o el compuesto de fórmula (I) y el otro agente o agentes terapéuticos en forma separada, por ejemplo, en forma de un kit.

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) y otro agente o agentes terapéuticos. Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable, como se ha descrito anteriormente.

En una realización, la invención proporciona un kit que comprende dos o más composiciones farmacéuticas separadas, al menos una de las cuales contiene un compuesto de fórmula (I). En una realización, el kit comprende medios para retener por separado dichas composiciones, tales como un envase, una botella dividida o un paquete de hoja dividida. Un ejemplo de dicho kit es un envase blíster, como se usa por lo general para el envasado de comprimidos, cápsulas y similares.

El kit de la invención se puede utilizar para administrar diferentes formas de dosificación, por ejemplo, oral y parenteral, para administrar las composiciones separadas a diferentes intervalos de dosificación, o para titular las composiciones separadas entre sí. Para ayudar al cumplimiento, el kit de la invención comprende por lo general instrucciones para la administración.

En las terapias de combinación de la invención, el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico pueden fabricarse y/o formularse por el mismo o diferentes fabricantes. Además, el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico pueden ser reunidos en una terapia de combinación: (i) antes de la liberación del producto combinado a los médicos (por ejemplo, en el caso de un kit que comprende el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico); (ii) por el propio médico (o bajo la dirección del médico) poco antes de la administración; (iii) en el propio paciente, por ejemplo, durante la administración secuencial del compuesto de la invención y el otro agente terapéutico.

La invención también proporciona un compuesto de fórmula (I) para uso en un método de tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la inhibición de la interacción MDM2/p53 y/o MDM4/p53, en la que el compuesto de fórmula (I) es preparado para administración con otro agente terapéutico. La invención proporciona también otro agente terapéutico para uso en un método de tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la inhibición de la interacción MDM2/p53 y/o MDM4/p53, en la que el otro agente terapéutico se prepara para la administración con un compuesto de fórmula (I). La invención también proporciona un compuesto de fórmula (I) para uso en un método de tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la inhibición de la interacción MDM2/p53 y/o MDM4/p53, en la que el compuesto de fórmula (I) se administra con otro agente terapéutico. La invención proporciona también otro agente terapéutico para uso en un método de tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la inhibición de la interacción MDM2/p53 y/o MDM4/p53, en el que el otro agente terapéutico se administra con un compuesto de fórmula (I). En particular, la enfermedad o afección mediada por la inhibición de la interacción MDM2/p53 y/o MDM4/p53 es una enfermedad proliferativa, preferiblemente cáncer, más preferiblemente uno de los tipos de cáncer descritos en este documento.

También se describe el uso de un compuesto de fórmula (I) para tratar una enfermedad o afección

mediada por la inhibición de la interacción MDM2/p53 y/o MDM4/p53, en la que el paciente se ha tratado previamente (por ejemplo, dentro de 24 horas) con otro agente terapéutico. La invención también describe el uso de otro agente terapéutico para tratar una enfermedad o afección mediada por la inhibición de la interacción MDM2/p53

y/o MDM4/p53, en la que el paciente se ha tratado previamente (por ejemplo, dentro de 24 horas) con un compuesto de fórmula (I).

Métodos de síntesis

- 5 Por lo general, los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar de acuerdo con los esquemas, procedimientos intermedios y ejemplos proporcionados a continuación. El experto en la materia es consciente de que tales métodos se pueden modificar utilizando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la separación quiral puede tener lugar antes o después en una ruta. Los reactivos, o cantidades de ellos, pueden ser intercambiados u optimizados, y las reacciones pueden ser modificadas para permitir reacciones en un solo recipiente.

Abreviaturas

10	Ac	acetilo
	AcOH	ácido acético
	AlCl ₃	tricloruro de aluminio
	Aq.	acuoso
	API	ionización por presión atmosférica
15	Boc	tert-butoxicarbonilo
	salmuera	Solución saturada de cloruro de sodio (a temperatura ambiente)
	Bs	singlete ancho
	ⁿ BuOH	n-butanol
	^t Bu	tert-butilo
20	CDI	carbonil diimidazol
	Celite	marca registrada de Celite Corp., (World Minerals Inc.), Santa Barbara, CA, EE.UU., para auxiliar de filtración basada en sílica gel
	CH ₃ CN	acetonitrilo
	Conc.	concentrado
25	d	doblete
	DCM	diclorometano
	DEA	dietilamina
	DIEIA	N, N-dietil-isopropilamina
	DMAP	4-dimetilaminopiridina
30	DMF	N, N-dimetilformamida
	DMSO	dimetilsulfóxido
	ES-MS	espectrometría de masas por electroaspersión
	Et	etílico
	Et ₃ N	trietilamina
35	Et ₂ O	éter dietílico

	EtOAc	acetato de etilo
	EtOH	etanol
	equiv	equivalentes
	h	hora(s)
5	HATU	O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N, N, N', N'-tetrametiluronio-hexafluorofosfato
	HBr	bromuro de hidrógeno
	HCl	cloruro de hidrógeno
	HOAt	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
	HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
10	IPAm	isopropilamina
	IPr	isopropilo
	K ₂ CO ₃	carbonato de potasio
	KHMDS	hexametildisilazida de potasio
	KOtBu	tert-butoxilato de potasio
15	KOH	hidróxido de potasio
	K ₃ PO ₄	fosfato de potasio
	LAH	hidruro de litio y aluminio
	LC	cromatografía líquida
	LDA	diisopropilamida de litio
20	LiOH	hidróxido de litio
	Me	Metilo
	MeI	yoduro de metilo
	MeOH	metanol
	MgSO ₄	sulfato de magnesio
25	M	multiplete
	min	minuto(s)
	mL	mililitro(s)
	MS	espectrometría de masas
	MsCl	cloruro de metanosulfonilo
30	Ms ₂ O	anhídrido de ácido metanosulfónico
	NaH	hidruro de sodio
	NaHCO ₃	bicarbonato de sodio

	Na ₂ CO ₃	carbonato de sodio
	NaOH	hidróxido de sodio
	NaOMe	metóxido de sodio
	NaOEt	etóxido de sodio
5	NaO ^t Bu	tert-butóxido de sodio
	Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
	NBS	N-bromosuccinimida
	NCS	N-clorosuccinimida
	n.d.	no determinado
10	NH ₄ Cl	cloruro de amonio
	NH ₄ OH	hidróxido de amonio
	NIS	N-yodosuccinimida
	NMM	4-N-metilmorfolina
	RMN	resonancia magnética nuclear
15	Ph	fenilo
	POCl ₃	oxicloruro de fósforo (III)
	rt (o RT)	temperatura ambiente
	R _f	factor de retención TLC
	s	singlete
20	ScCO ₂	CO ₂ super crítico
	sep	Septeto
	t	triplete
	TBAF	fluoruro de tetrabutilamonio
	TBAHS	sulfato de hidrógeno de tetrabutilamonio
25	TBME	tert-butilmetiléter
	TBTU	O-(benzotriazol-1-il)-N, N, N', N'-tetrametilamonio tetrafluoroborato
	TEA	trietilamina
	TFA	ácido trifluoroacético
	TFAA	anhídrido trifluoroacético
30	THF	tetrahidrofurano
	TLC	cromatografía en capa fina
	TMS	trimetilsililo

TMSCI	cloruro de trimetilsililo
t_R	tiempo de retención
TsCl	cloruro de p-toluenosulfonilo
TsOH	ácido p-toluenosulfónico
5 UV	ultravioleta

Las mediciones de ^1H -RMN se realizaron en un espectrómetro *Bruker Ultrashield™ 400* (400 MHz), *Bruker Ultrashield™ 600* (600 MHz) o un *500 MHz DRX Bruker Cryo-Probe* (500 MHz), utilizando o no trimetilsilano como patrón interno. Los desplazamientos químicos (valores δ) se reportan en ppm campo bajo a partir del tetrametilsilano, las constantes de acoplamiento (J) se dan en Hz, el patrón de división de espectros se designa como singlete (s), doblete (d), doblete de doblete (dd), cuadruplete (q), multiplete o más señales superpuestas (m), señal ancha (br). Los solventes se indican entre paréntesis.

La TLC se realizó con placas de vidrio 60 F₂₅₄ de recubiertas previamente con sílica gel (Merck, Darmstadt, Alemania) utilizando los respectivos sistemas solventes nombrados. La visualización se realizó generalmente por luz UV (254 nm).

15 Condiciones de HPLC:

LC-MS 1:

Columna: Ascentis Express C18 2.1 x 30 mm, 2.7 μm . Flujo: 1.2 mL/min. Temperatura de columna: 50°C. Gradiente: 2% a 98% de B en 1.4 min, 98% de B, durante 0.75 min, 98% a 2% de B en 0.04 min, 98% de B, durante 0.01 min; A = agua + 0.05% de ácido fórmico + 0.05% acetato de amonio, B = acetonitrilo + 0.04% de ácido fórmico

20 Detección de escaneado completo: 215-350 nM

LC-MS 2:

Columna: Acquity HSS T3 2.1 x 50 mm, 1.8 μm .

Flujo: 1.2 mL/min. Temperatura de columna: 50°C. Gradiente: 2% a 98% de B en 1.4 min, 98% de B, durante 0.75 min, 98% a 2% de B en 0.04 min, 2% de B, durante 0.01 min; A = agua + 0.05% de ácido fórmico + 3.75 mM acetato de amonio, B = acetonitrilo + 0.04% de ácido fórmico

25 Detección de escaneado completo: 215-350 nM

LC-MS 3:

Columna: Acquity HSS T3 2.1 x 50 mm, 1.8 μm .

Flujo: 1.2 mL/min. Temperatura de columna: 50°C. Gradiente: 2% a 98% de B en 1.4 min, 98% de B, durante 0.75 min, 98% a 2% de B en 0.04 min, 2% de B, durante 0.01 min; A = agua + 0.05% de ácido fórmico + 0.05% acetato de amonio, B = acetonitrilo + 0.04% de ácido fórmico

30 Detección de escaneado completo: 215-350 nM

LC-MS 4:

Columna: Acquity HSS T3 2.1 x 50 mm, 1.8 μm .

Flujo: 1.0 mL/min. Temperatura de columna: 60°C. Gradiente: 5% a 98% de B en 1.4 min, 98% de B, durante 0.75 min, 98% a 2% de B en 0.04 min, 2% de B, durante 0.01 min; A = agua + 0.05 % de ácido fórmico + 3.75 mM acetato de amonio, B = acetonitrilo + 0.04% de ácido fórmico

35 Detección de escaneado completo: 215-350 nM

Métodos de HPLC:

40 HPLC 1:

Columna: Waters Chromolith Performance RP-18e 100-4,6. Flujo: 2 mL/min. Temperatura de columna: Rt. Gradiente: 2% de B, durante 1 min, 2% a 100% de B en 8 min, 100% de B, durante 2min, A = 0.1 % de HCOOH en agua, B = acetonitrilo 0.1 % de HCOOH

HPLC 2:

5 Columna: Nucleosil 100-3 C18 HD, 4.0 x 70 mm.

Flujo: 1 mL/min. Temperatura de columna: 30°C. Gradiente: 2% a 100% de B en 5 min, 100% de B, durante 1.5 min, 100% a 2% de B en 0.5 min; A = 0.01% de TFA in agua, B = 0.01% de TFA en acetonitrilo

Métodos de MS:

MS 1:

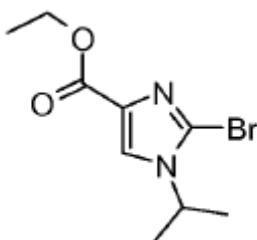
10 Espectros de masas de ionización por electroaspersión. Alternante positivo y negativo.

DAD-UV 210-400 nm.

Rango de barrido 100-1600 Da en 0.4 segundos

A menos que se indique otra cosa, todas las reacciones se realizan bajo una atmósfera inerte (argón).

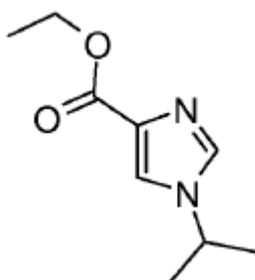
Intermedio A: éster etílico del ácido 2-bromo-1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico



15 Se adicionó NBS (38.9 g, 218 mmol) a una solución de éster etílico del ácido 1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico (etapa A1; 30.6 g, 168 mmol) en THF (500 ml) y se agitó, durante 18 h a rt. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó dos veces con Na₂S₂O₃ aq. al 30% y agua y se vuelve a extraer con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron y evaporaron. El producto en bruto restante se purificó por cromatografía instantánea (sílica gel, heptanos/ EtOAc, 100:0 → 25:75). t_R: 0.81 min (LC-MS 2); ESI-MS: 261.3/263.3 [M+H]⁺ (LC-MS 2); ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ (ppm) 8.20 (s, 1H), 4.46 (sep, 1H), 4.23 (q, 2H), 1.42 (d, 6H), 1.26 (t, 3H).

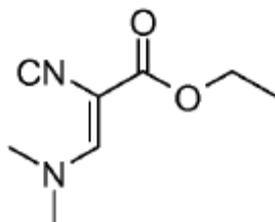
20

Etapas A1: éster etílico del ácido 1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico



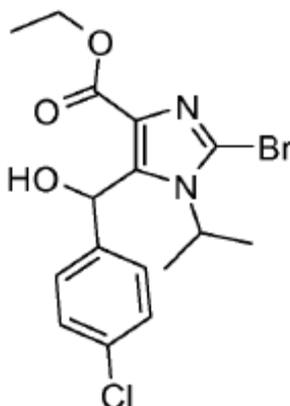
25 Se adicionó propano-2-amina (161 ml, 189 mmol) a una solución de ((Z)-2-N,N-dimetilamino-1-etoxicarbonil-vinil)-metilidino-amonio (etapa A2; 32 g, 189 mmol) en n-BuOH (250 ml) y se agitó, durante 15 h a 130°C. El solvente se evaporó bajo presión reducida y el material en bruto restante se purificó por cromatografía instantánea (heptanos/EtOAc, 100:0 → 20:80). ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ (ppm) 7.96 (s, 1 H), 7.81 (s, 1 H), 4.44 (sep, 1 H), 4.19 (q, 2H), 1.40 (d, 6H), 1.23 (t, 3H).

Etapa A2: éster etílico del ácido (Z)-3-Dimetilamino-2-isociano-acrílico



5 A una solución de etil-2-isocianato (575 g, 5083 mmol) en EtOH (6.5 L) a 0°C se le adicionó gota a gota 1,1-dietoxi-N,N-dimetanamina (1.2 L, 6608 mmol). La mezcla se agitó a rt, durante 30 h. La mezcla de reacción se diluyó con TBME (1.5 L), se fijó sobre sílica gel y se filtró. El licor madre se concentró. El residuo se purificó por HPLC (Columna 880 x 150 mm, 7 kg de sílica gel, Flujo 1000 mL/min, heptano/EtOAc, 85:15 → 0:100). t_R : 0.74 min (LC-MS 2); ESI-MS: 169.1 [M+H]⁺ (LC-MS 2); ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm) 7.15 (s, 2H), 4.18 (q, 2H), 3.20 (bs, 6H), 1.26 (t, 3H).

Intermedio B: éster etílico del ácido 2-bromo-5-[(4-clorofenil)-hidroximetil]-1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico

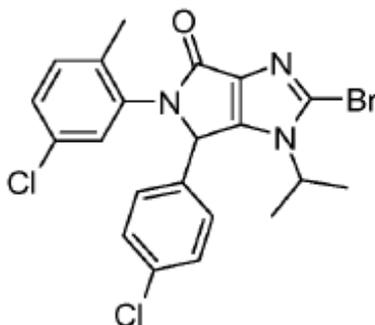


10 Se adicionó lentamente (en 30 min) LDA (63 mL, solución 2M en THF, 126 mmol) a una solución de éster etílico del ácido 2-bromo-1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico (intermedio A; 11.0 g, 42.1 mmol) en THF (200 mL) a -78°C. Después de 2 h a -78°C, una solución de 4-clorobenzaldehído (8.9 g, 63.2 mmol) en THF (10 mL) se adicionó lentamente y la mezcla de reacción se dejó calentar a -20°C, durante 30 min. La mezcla de reacción se inactivó a -20°C con 6 ml de ácido acético, se concentró y se recogió en EtOAc/agua, se extrajo dos veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. El material en bruto se purificó por cromatografía (hexano/EtOAc, 60:40) para proporcionar una espuma de color naranja. Esta se trató con 100 ml de 10% de Et₂O/hexano durante la noche y el sólido resultante se filtró y se aclaró con hexano para dar el compuesto base como un sólido de color blanco. ESI-MS: 403.1 [M+H]⁺ (LC-MS 2); ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 0.90 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H) 1.26 (t, *J*=7.04 Hz, 3 H) 1.45 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H) 4.25 (qd, *J*=7.04, 3.13 Hz, 2 H) 4.69 (quin, *J*=7.04 Hz, 1 H) 6.73 (d, *J*=4.30 Hz, 1 H) 6.83 (d, *J*=4.30 Hz, 1 H) 7.27 (m, *J*=8.60 Hz, 2 H) 7.41 (m, *J*=8.60 Hz, 2 H); R_f=0.15 (hexano/EtOAc, 60:40)

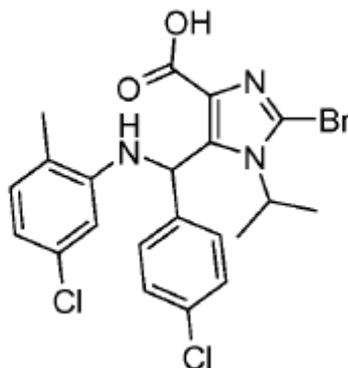
15

20

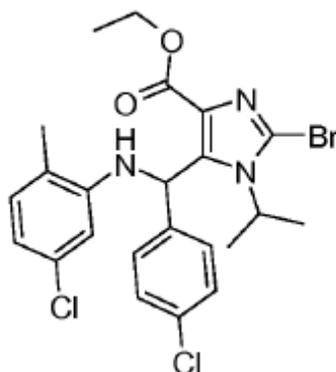
Intermedio E: 2-Bromo-5-[(5-cloro-2-metil-fenil)-6-(4-cloro-fenil)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrolol[3,4-d]imidazol-4-ona



- 5 Ácido 2-bromo-5-[(4-cloro-fenil)-5-cloro-2-metil-fenilamino]-1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico (etapa E1; 4.7 g, 9.4 mmol), TBTU (3.6 g, 11.3 mmol), DIEA (3.6 g, 28.2 mmol) se disolvieron en DMF (50 mL) y se agitó a 80°C, durante 7 h. La mezcla de reacción se diluyó en EtOAc/agua, se extrajo dos veces con EtOAc y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. El material en bruto se purificó por cromatografía instantánea (sílica gel, hexanos/EtOAc, 100:0 → 40:60) para proporcionar el compuesto base como un sólido de color blanco; ESI-MS: 479.2 [M+H]⁺ (LCMS 2); ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 0.74 (d, *J*=6.65 Hz, 3 H) 1.25 (d, *J*=6.65 Hz, 1 H) 1.30-1.46 (m, 3H) 1.84 (br. s., 2 H) 4.52 (dt, *J*=13.39, 6.79 Hz, 1 H) 6.55 (br. s., 1 H) 7.03-7.30 (m, 4 H) 7.36 (d, *J*=7.82 Hz, 2 H) 7.72 (d, *J*=1.56 Hz, 1 H).
- 10 Etapa E1: ácido 2-bromo-5-[(4-cloro-fenil)-5-cloro-2-metil-fenilamino]-1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico

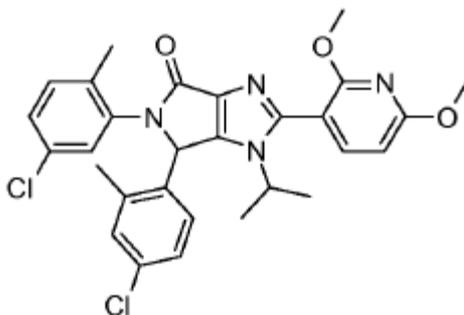


- 15 Se adicionó NaOH (100 mL, solución acuosa 2M, 200 mmol) a una solución de éster etílico del ácido 2-bromo-5-[(4-clorofenil)-5-cloro-2-metil-fenilamino]-1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico (etapa E2; 5.0 g, 9.6 mmol) en THF (100 mL) y MeOH (100 mL) a rt y los reactivos se agitaron a rt, durante 2 h. Se evaporaron THF y MeOH, a continuación, la mezcla se diluyó en EtOAc/H₂O y el pH se ajustó a 5 con HCl diluido. La capa acuosa se extrajo una vez con EtOAc. El extracto orgánico se secó (Na₂SO₄) y se concentró para proporcionar una espuma de color blanco crema; ESI-MS: 598.2 [M+H]⁺ (LC-MS 2); ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 1.20 (d, *J*=18.38 Hz, 3 H) 1.44 (d, *J*=6.65 Hz, 3 H) 2.16 (s, 3 H) 4.97 (d, *J*=7.04 Hz, 1 H) 6.62 (dd, *J*=7.82, 1.95 Hz, 2 H) 6.78 (d, *J*=2.35 Hz, 1 H) 7.03 (d, *J*=7.82 Hz, 1 H) 7.27 (m, 2 H) 7.42 (m, *J*=8.60 Hz, 2 H).
- 20 Etapa E2: éster etílico del ácido 2-bromo-5-[(4-cloro-fenil)-5-cloro-2-metil-fenilamino]-1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico



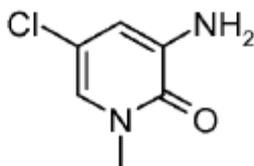
5 Ms₂O (3.6 g, 20.9 mmol) se adicionó a una solución agitada de éster etílico del ácido 2-bromo-5-[(4-clorofenil)-hidroxi-metil]-1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico (intermedio B; 4.2 g, 20.9 mmol) y TEA (5.3 g, 52.0 mmol) en DCM (80 mL) a 5°C y la mezcla de reacción se agitó a 5°C, durante 15 min. A continuación, se adicionó 5-cloro-2-metil anilina (2.2 g, 15.7 mmol). La mezcla de reacción se les dejó alcanzar rt en 45 min y se agitó a rt, durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó en DCM/agua, se extrajo dos veces con DCM y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea (sílica gel, EtOAc/hexanos 2:8) para proporcionar el compuesto base como una espuma de color blanco; ESI-MS: 526.2 [M+H]⁺ (LC-MS 2); ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm 1.15 (dd, *J*=9.97, 4.11 Hz, 2 H) 1.15 (s, 1 H) 1.24 (t, *J*=7.23 Hz, 3 H) 1.45 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H) 2.17 (s, 3 H) 4.24 (quin, *J*=6.74 Hz, 2 H) 4.83-5.04 (m, 1 H) 5.92 (d, *J*=5.47 Hz, 1 H) 6.47 (bs, 1 H) 6.63 (dd, *J*=7.82, 1.95 Hz, 1 H) 6.79 (bs, 1 H) 7.04 (d, *J*=8.21 Hz, 1 H) 7.26 (m, *J*=8.60 Hz, 2 H) 7.43 (m, *J*=8.60 Hz, 2 H).

Ejemplo 29: 5-(5-cloro-2-metil-fenil)-6-(4-cloro-2-metil-fenil)-2-(2,6-dimetoxi-piridin-3-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrol[3,4-d]imidazol-4-ona (Ejemplo de referencia)



15 El complejo PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂ (33.1 mg, 0.041 mmol) se adicionó a una mezcla caliente (80°C) de 2-bromo-5-(5-cloro-2-metil-fenil)-6-(4-cloro-2-metil-fenil)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrol[3,4-d]imidazol-4-ona_ (200 mg, 0.405 mmol) y K₃PO₄ (344 mg, 1.62 mmol) en dioxano (3 mL) y agua (1 mL), bajo argón. La temperatura se aumentó a 100°C y se adicionó ácido 2,6-dimetoxipiridin-3-il borónico (89 mg, 0.487 mmol). La mezcla de reacción se agitó, durante 15 min a 100°C, se dejó enfriar a rt, se diluyó con EtOAc/agua, y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró, y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 3:1), seguido por trituración en Et₂O/hexano (4:1), para proporcionar 85 mg del compuesto base. *t*_R: 1.40 min (LC-MS 2); ESI-MS: 551.3/553.3 [M+H]⁺ (LC-MS 2); *R*_f: 0.31 (hexano/EtOAc, 3:1).

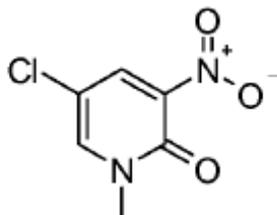
Etapa 100.4: 3-Amino-5-cloro-1-metil-1H-piridin-2-ona



25

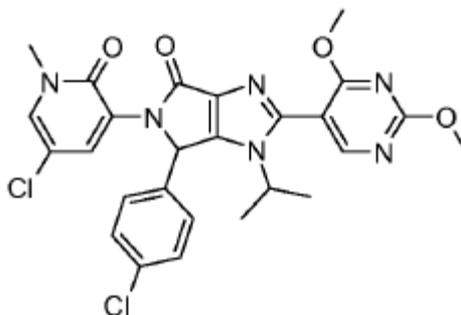
5 Una mezcla del compuesto preparado en la etapa 100.5 (1.7 g, 9 mmol) y níquel Raney (300 Mg) en MeOH (100 mL) y THF (30 mL) se agitó, durante 16.5 h a rt, bajo una atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró mediante una almohadilla de celite, y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 30:70) para proporcionar el compuesto base. t_R : 0.52 min (LC-MS 2); ESI-MS: 159.1/161.1 $[M+H]^+$ (LC-MS 2), R_f = 0.22 (hexano/EtOAc, 3:7).

Etapa 100.5: 5-cloro-1-metil-3-nitro-1H-piridin-2-ona



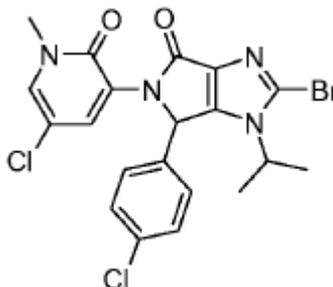
10 Una mezcla de NaH (577 mg, 14.4 mmol) y 5-cloro-2-hidroxi-3-nitropiridina (2.1 g, 12.0 mmol) en DMF (21 mL) se agitó, durante 1 h a 5°C. Se adicionó yoduro de metilo (1.1 mL, 18.0 mmol). La mezcla resultante se dejó calentar a rt, se agitó durante la noche, se enfrió a 0°C, se inactivó mediante la adición de agua, y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró, y se concentró. El residuo se utilizó sin una purificación adicional. t_R : 0.61 min (LC-MS 2); ESI-MS: 189.1/191.1 $[M+H]^+$ (LC-MS 2).

Ejemplo 101: 5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrolol[3,4-d]imidazol-4-ona



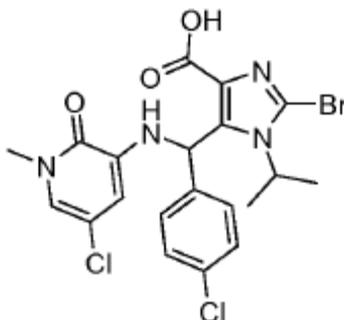
15 El compuesto base se preparó en analogía al procedimiento descrito para el ejemplo 29 pero utilizando el producto de la etapa 101.1 y ácido 2,4-dimetoxipirimidin-5-il borónico. La reacción se realizó a 110°C. El residuo se purificó por cromatografía instantánea ($CH_2Cl_2/MeOH$, 95:5) a continuación se purificó por HPLC preparativa (Columna: Sunfire C18, 30 x 100 mm, 5 μm . Flujo: 30 mL/min. Gradiente 30-80% de B en 20 min; A = 0.1 % de TFA en agua, B = CH_3CN) para proporcionar el compuesto base. t_R : 1.05 min (LC-MS 2); ESI-MS: 555.3/557.2 $[M+H]^+$ (LC-MS 2); R_f =0.19 ($CH_2Cl_2/MeOH$, 95:5).

20 Etapa 101.1: 2-Bromo-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrolol[3,4-d]imidazol-4-ona



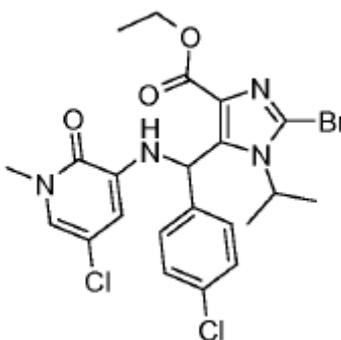
El compuesto base se preparó en analogía al procedimiento descrito para el intermedio E pero utilizando el producto de la etapa 101.2. Después de la extracción, el residuo se trituro en EtOAc para proporcionar el compuesto base. t_R : 1.07 min (LC-MS 2); ESI-MS: 495.0/497.1/499.0 $[M+H]^+$ (LCMS 2).

- 5 Etapa 101.2: ácido 2-bromo-5-[(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-ilamino)-(4-cloro-fenil)-metil]-1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico



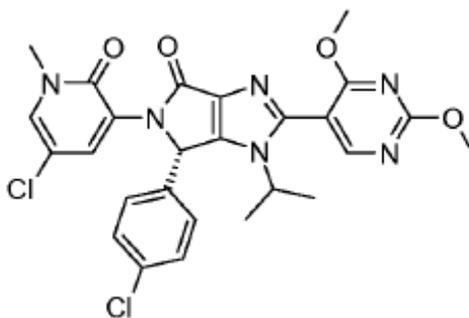
El compuesto base se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa E1, pero utilizando el producto de la etapa 101.3. El residuo se trituro en Et₂O para proporcionar el compuesto base. t_R : 1.05 min (LC-MS 2); ESIMS: 513.2/515.1/517.1 $[M+H]^+$ (LC-MS 2).

- 10 Etapa 101.3: éster etílico del ácido 2-bromo-5-[(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-ilamino)-(4-cloro-fenil)-metil]-1-isopropil-1H-imidazol-4-carboxílico



El compuesto base se preparó en analogía al procedimiento descrito para la etapa E2, pero utilizando el producto de la etapa 100.4. Después de la extracción, el residuo se trituro en EtOAc para proporcionar el compuesto base. t_R : 1.27 min (LC-MS 2); ESI-MS: 541.1/543.1/545.1 $[M+H]^+$ (LC-MS 2).

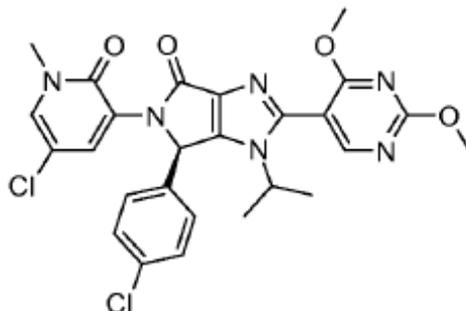
- 15 **Ejemplo 102:** (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrolo[3,4-d]imidazol-4-ona



- 20 El compuesto base se obtuvo después de la separación HPLC quiral preparativa del producto racémico del ejemplo 101. (Columna: Chiralpak AD, 76.5 x 390 mm. Flujo 120 mL/min. hexano/EtOH/MeOH 50:25:25). t_R : 5.5 min (Columna: Chiralpak AD, 4.6 x 250 mm. Flujo 1 mL/min. hexano/EtOH/MeOH 50:25:25); ¹H-RMN (DMSO-d₆, 400

MHz) δ ppm 8.49 (s, 1H), 7.92 (d, 1H), 7.51 (d, 1H), 7.41 (m, 2H), 7.33 (m, 2H), 6.71 (s, 1 H), 4.10 (m, 1 H), 3.97 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.43 (s, 3H), 1.33 (d, 3H), 0.51 (d, 3H).

Ejemplo 103: (R)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrol[3,4-d]imidazol-4-ona



5

El compuesto base se obtuvo después de la separación HPLC quiral preparativa del producto racémico de ejemplo 101. (Columna: Chiralpak AD, 76.5 x 390 mm. Flujo 120 mL/min. hexano/EtOH/MeOH 50:25:25). t_R : 10.9 min (Columna: Chiralpak AD, 4.6 x 250 mm. Flujo 1 mL/min. hexano/EtOH/MeOH 50:25:25). $^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ ppm 8.49 (s, 1H), 7.93 (d, 1H), 7.50 (d, 1H), 7.43 (m, 2H), 7.31 (m, 2H), 6.71 (s, 1 H), 4.11 (m, 1 H), 3.97 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.43 (s, 3H), 1.33 (d, 3H), 0.51 (d, 3H).

10

Los compuestos seleccionados se han cristalizado y caracterizado adicionalmente. Los procedimientos experimentales y la descripción del instrumento y método se describen a continuación:

Nombre del instrumento: Difractómetro de rayos X

Modelo: D8 Advance

15 Fabricante: Bruker AXS GMBH

Longitud de onda: 1.5406 Å (Cu)

Ajuste del generador: 30 Kv; 40 mA

Detector monocromador: PSD-Lynx Eye

Método del experimento:

20 2-Theta inicio: 2.0 grados

2-Theta final: 40.0 grado

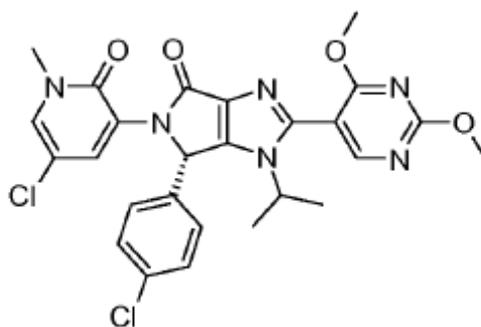
Tamaño de la etapa de integración: 0.0157 grados

Tiempo de barrido: 13.02 min

Temperatura: temperatura ambiente

25 Los siguientes métodos C, D y E a continuación describen métodos para obtener ciertas formas cristalinas de compuestos de ejemplo descritos en este documento.

C. (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrol[3,4-d]imidazol-4-ona (Ejemplo 102) Forma cristalina A (solvato de etanol)



5 El compuesto del ejemplo 102 (2.02 g, ee 99.8%) se recogió en etanol y la mezcla se calentó a reflujo con agitación para obtener una solución transparente (cantidad total de etanol utilizada: 48 ml). La solución de color amarillo claro se dejó enfriar a temperatura ambiente con agitación durante la noche. El precipitado se separó por filtración y se secó a alto vacío para obtener 1.78 g de solvato de etanol de Forma A incoloro sólido. El sólido contiene 7.5% de etanol (1 equivalente), observado por ¹H-RMN.

Ángulo 2-Teta°	Valor d Angstrom	Intensidad
9.44	9.36	Baja
9.89	8.94	Alta
10.69	8.27	Baja
12.33	7.17	Media
14.61	6.06	Media
16.21	5.46	Media
16.66	5.32	Media
17.50	5.07	Media
17.78	4.98	Media
19.83	4.47	Media
20.56	4.32	Media
22.35	3.97	Media
22.98	3.87	Media
25.81	3.44897	Media

D. (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrol[3,4-d]imidazol-4-ona (Ejemplo 102) Forma cristalina B (ácido succínico cocrystal)

10 El compuesto del ejemplo 102 (100 mg) se disolvió en 2 ml de acetato de etilo y se calentó a 55°C. Se adicionaron 25.5 mg (1.2 equivalentes) de ácido succínico a la solución y la mezcla se enfrió hasta 5°C y se calentó de nuevo a 55°C, durante 4 veces en un día. El precipitado formado se separó por filtración y se secó a 40°C bajo vacío, durante 4 horas para producir el producto como polvo incoloro Forma B en forma de ácido succínico (estequiometría por RMN 1.04 ácido succínico a la forma libre I).

ES 2 632 430 T3

Ángulo 2-Teta°	Valor d Angstrom	Intensidad
9.037	9.78	Alta
11.64	7.60	Baja
14.55	6.08	Baja
15.14	5.85	Baja
15.60	5.68	Baja
16.55	5.35	Baja
17.27	5.13	Alta
19.52	4.54	Media
19.87	4.46	Baja
20.85	4.26	Media
21.14	4.20	Media
23.42	3.80	Media
23.67	3.76	Media
24.54	3.62	Media
26.95	3.31	Media

E. (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrolol[3,4-d]imidazol-4-ona (Ejemplo 102) Forma cristalina C (hidrato)

5 El compuesto del ejemplo 102 (10 mg) se disolvió en 0.1 ml de IPA (alcohol isopropílico) bajo agitación o calentamiento a 50°C. Se formó un sólido de color blanco después de sonicación durante 5 segundos y la suspensión se agitó durante 2 días a temperatura ambiente. El sólido se separó por centrifugación y se secó a 40°C en vacío durante 2 días para obtener solvato de IPA. Dicho solvato de IPA (8 mg) se suspendió en 0.2 ml de MeOH: H₂O (1:9, v/v) bajo agitación durante 2 días a temperatura ambiente. El sólido resultante se separó por centrifugación y se secó al aire durante 2 horas para producir el hidrato de Forma C como polvo de color blanco.

10 Alternativamente, el solvato etanólico del Método C anterior se disolvió en metanol, y se obtuvo una solución transparente después de 10 minutos con agitación continua a temperatura ambiente. Se adicionó agua y se observó la precipitación después de 10 minutos a temperatura ambiente, a continuación, se adicionó más agua mientras se agitaba durante 24 horas. El sólido resultante se separó por centrifugación, después se secó a temperatura ambiente para producir el hidrato de Forma C.

Ángulo 2-Teta°	Valor d Angstrom	Intensidad
8.14	10.86	Baja
10.09	8.76	Media
11.92	7.42	Baja
14.52	6.10	Media
14.88	5.95	Media

16.93	5.23	Media
17.56	5.05	Media
17.98	4.93	Baja
19.18	4.62	Media
20.46	4.34	Alta
20.87	4.25	Media
21.86	4.06	Media
25.00	3.56	Alta
25.68	3.47	Media
25.95	3.43	Baja
28.57	3.12	Media
32.17	2.78	Media

Descripción de las figuras:

La figura 3 describe los datos de difracción de rayos X en polvo para la forma sólida obtenida del ejemplo 102 utilizando el método C en este documento.

5 La figura 4 describe los datos de difracción de rayos X en polvo para la forma sólida obtenida del ejemplo 102 utilizando el método D en este documento.

La figura 5 describe los datos de difracción de rayos X en polvo para la forma sólida obtenida a partir del ejemplo 102 utilizando el método E en este documento.

Datos biológicos:

Ensayo de transferencia de energía de fluorescencia resuelta en tiempo (TR-FRET)

10 La inhibición de las interacciones p53-MDM2 y p53-MDM4 se mide mediante transferencia de energía de fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-FRET). La transferencia de energía de fluorescencia (o transferencia de energía de resonancia de Foerster) describe una transferencia de energía entre moléculas fluorescentes donantes y aceptoras. Para este ensayo, la proteína MDM2 humana (aminoácidos 2-188) y la proteína MDM4 humana (aminoácidos 2-185), marcada con una unidad estructural de biotina C-terminal, se usan en combinación con una estreptavidina marcada con Europium (Perkin Elmer, Inc., Waltham, MA, EE.UU.) que actúa como el fluoróforo donante. La p53 derivada, el péptido marcado con Cy5 Cy5-TFSDLWKLL (p53 aa18-26) es el aceptor de energía. 15 Tras la excitación de la molécula donadora a 340 nm, la interacción de unión entre MDM2 o MDM4 y el péptido p53 induce transferencia de energía y respuesta mejorada a la longitud de onda de emisión aceptor a 665 nm. La interrupción de la formación del complejo p53-MDM2 o p53-MDM4 debido a una molécula inhibidora que se une al sitio de unión de p53 de MDM2 o MDM4 da como resultado una mayor emisión de donante a 620 nm. La lectura de ensayo de FRET ratiométrica se calcula a partir de los datos brutos de las dos señales de fluorescencia distintas medidas en modo resuelto en el tiempo (fluorescencia 665 nm/fluorescencia 620 nm x 1000). 20

La prueba se realiza en placas blancas de 384 pozos (Greiner Bio-One, referencia 781207) en un volumen total de 60 μ l adicionando 1 μ l de compuestos ensayados a diferentes concentraciones diluidas en DMSO al 100% (concentración final de DMSO al 1.7%) en solución reguladora de reacción (PBS, NaCl 125 mM, 0.001% de Novexina (consta de polímeros de carbohidratos), diseñada para aumentar la solubilidad y estabilidad de las proteínas, Expedeon Ltd., Cambridgeshire, Reino Unido), gelatina al 0.01%, 0.01% 0.2%, Pluronic F-127 (copolímero de bloque de óxido de etileno y óxido de propileno), 1 mM de DTT). Después de la adición de MDM2-biotinilado 0.1 nM o MDM4-biotinilado 2.5 nM (preparaciones internas, ambos MDM2 y MDM4 se biotinilan en el C-terminal de la construcción peptídica) y 0.1 nM (p53-MDM2 ensayo) o 0.625 nM (p53-(Perkin Elmer), respectivamente, se preincuba la solución durante 15 minutos a temperatura ambiente, luego se adiciona el péptido 25 30

- 5 Cy5-p53 10 nM (preparación interna, el colorante Cy5 se une directamente a la parte N-terminal del péptido p53) antes de una incubación a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de la lectura de la placa. Para la medición de muestras, se utiliza un lector de microplacas Victor II (Perkin Elmer) con las siguientes configuraciones en el ensayo p53-MDM4: Excitación 340 nm, Emisión donante 620 nm y Emisión aceptora 665 nm. Tecan genios Pro se utiliza como lector de microplacas para las mediciones de fluorescencia en el ensayo p53-MDM2. Los valores de IC₅₀ se calculan mediante ajuste de curva utilizando XLfit. Si no se especifica, los reactivos se compraron a Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs, Suiza.

Ejemplo	IC ₅₀	
	p53-MDM2 (nM)	p53-MDM4 (µM)
101	0.34	n.d.
102	0.23	n.d.
103	299.7	n.d.
n.d. = No determinado		

- 10 También existen ensayos que podrían usarse para demostrar el efecto de los compuestos de esta invención en un contexto celular.

Ensayo de proliferación celular en células SJSA-1 y SAOS-2 basado en tinción con yoduro YO-PRO®-1

- 15 El efecto de los inhibidores de la PPI (interacción proteína-proteína) sobre el crecimiento celular de células p53 de tipo salvaje o mutantes se evalúa en un ensayo de proliferación basado en la tinción con yoduro YO-PRO®-1 (J Immunol Methods. 1995;185(2):249-58). El principal de este ensayo es el uso del colorante de intercalación de ADN yoduro YO-PRO®-1 que al unirse al ADN emite una fuerte señal de fluorescencia. Además, el colorante es impermeable a la membrana y, de este modo, las células apoptóticas se pueden distinguir de la población celular viable durante el mismo ensayo. En ausencia de permeabilización celular, el colorante sólo está entrando en células que están empezando a sufrir apoptosis. Después del tratamiento de las células con una solución reguladora de lisis, se puede estimar el número total de células.

- 20 Para ensayar los inhibidores de PPI en el crecimiento celular, las células SJSA-1 (células de p53 de tipo salvaje) y las células SAOS-2 (células nulas de p53) se siembran en placas de microtitulación de 96 pozos y se tratan con concentraciones decrecientes de compuestos. Después de un período de incubación de 72 horas, se adiciona directamente yoduro YOPRO®-1 2.5 µM a las células y se realiza una primera lectura utilizando un lector de placa de fluorescencia estándar (ajuste de filtro 485/530 nm) que revela el número relativo de células apoptóticas.
- 25 Posteriormente, las células se permeabilizan mediante la adición directa de solución reguladora de lisis que contiene el detergente NP40, EDTA y EGTA para obtener concentraciones finales de 0.01% y 5 mM, respectivamente. Después de la permeabilización completa, el número total de células se cuantifica durante una segunda lectura utilizando el lector de placas de fluorescencia con los mismos ajustes.

- 30 La invención incluye además cualquier variante de los presentes procedimientos, en la que se utiliza un producto intermedio obtenible en cualquier etapa del mismo como material de partida y se llevan a cabo las etapas restantes, o en las que los materiales de partida se forman in situ bajo las condiciones de reacción o en las que los componentes de reacción se usan en forma de sus sales o material ópticamente puro. Los compuestos de la invención y los intermedios también se pueden convertir entre sí de acuerdo con procedimientos generalmente conocidos para los expertos en el arte.

- 35 Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la invención y no deben interpretarse como limitaciones de la misma. Las temperaturas se dan en grados centígrados. Si no se menciona de otra manera, todas las evaporaciones se realizan a presión reducida, por lo general entre aproximadamente 15 mm Hg y 100 mm Hg (= 20-133 mbar). La estructura de los productos finales, intermedios y materiales de partida se confirma por métodos analíticos estándar, por ejemplo, microanálisis y características espectroscópicas, por ejemplo, MS, IR, RMN. Las abreviaturas utilizadas son las convencionales en la técnica.
- 40

Todos los materiales de partida, bloques de construcción, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, solventes y catalizadores utilizados para la síntesis de los compuestos de la presente invención están disponibles comercialmente o se pueden producir por métodos de síntesis orgánica conocidos para un experto en el arte

(Houben-Weyl 4th Ed. 1952, Methods of Organic Synthesis, Thieme, Volume 21). Además, los compuestos de la presente invención se pueden producir por métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto en la técnica como se muestra en los siguientes ejemplos.

Experimentos in vivo

- 5 Existen también experimentos que pueden demostrar la actividad antitumoral de los compuestos de la fórmula (I) in vivo.

10 Por ejemplo, ratones Harlan atímicos nu/nu hembras (Indianápolis, Indiana, EE.UU.) con tumores SJSA-1 de osteosarcoma humano trasplantado s.c. se pueden usar para determinar la actividad antitumoral de los inhibidores de la interacción p53/MDM2. En el día 0, con los animales bajo la anestesia perineal de Forene® (1-cloro-2,2,2-trifluoroetildifluormetiléter, Abbot, Wiesbaden, Alemania), se inyectan 3×10^6 células bajo la piel en el flanco izquierdo de los animales. Cuando los tumores alcanzan un volumen de 100 mm^3 , los ratones se dividen al azar en grupos de 6-8 animales y comienza el tratamiento. El tratamiento se lleva a cabo durante un período de 2-3 semanas con administración peroral, intravenosa o intraperitoneal dos veces al día (o menos frecuentemente) de un compuesto de fórmula (I) en un vehículo apropiado a dosis definidas. Los tumores se miden dos veces por semana con un calibrador de portaobjetos y se calcula el volumen de los tumores.

15

Como alternativa a la línea celular SJSA-1, también se pueden usar otras líneas celulares de la misma manera, por ejemplo,

- la línea celular HCT116 de carcinoma de colon (ATCC No. CCL-247);
- la línea celular de carcinoma de próstata FGC del clon LNCaP (ATCC No. CRL-1740);

20

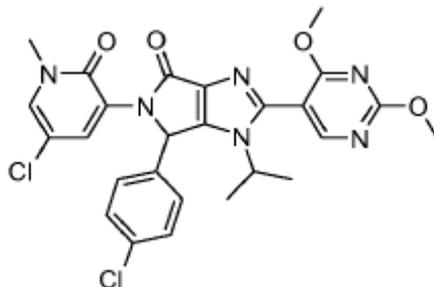
- la línea celular de carcinoma de colon de RKO (ATCC No. CRL-2577);
- la línea celular de fibrosarcoma HT1080 (ATCC No. CCL-121);
- la línea celular de melanoma maligno A375 (ATCC No. CRL-1619),
- la línea celular de carcinoma de pulmón de células grandes NCI-H460 (ATCC No. HTB-177);
- el coriocarcinoma JEG-3 (ATCC No. HTB-36)

25

- el carcinoma ductal de mama ZR-75-1 (ATCC No. CRL-1500)

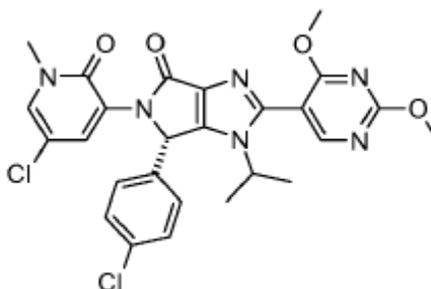
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que es 5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrolo[3,4-d]imidazol-4-ona



5 o una sal del mismo.

2. Un compuesto que es (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrolo[3,4-d]imidazol-4-ona



o una sal del mismo.

- 10 3. La forma cristalina A (solvato de etanol) de (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrolo[3,4-d]imidazol-4-ona como se reivindica en la reivindicación 2, caracterizada por un patrón de difracción de rayos X que comprende 4 o más valores de 2 theta seleccionados del grupo que consiste en 9.89 ± 0.2 , 12.33 ± 0.2 , 14.61 ± 0.2 , 16.21 ± 0.2 , 16.66 ± 0.2 , 17.50 ± 0.2 , 17.78 ± 0.2 , 19.83 ± 0.2 , 20.56 ± 0.2 , 22.35 ± 0.2 , $22.98 \pm 0.2^\circ$ a una temperatura de aproximadamente 22°C .
- 15 4. La forma cristalina B (cocrystal de ácido succínico) de (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrolo[3,4-d]imidazol-4-ona como se reivindica en la reivindicación 2, caracterizada por un patrón de difracción de rayos X que comprende 4 o más valores de 2 theta seleccionados del grupo que consiste en 9.04 ± 0.2 , 17.27 ± 0.2 , 19.52 ± 0.2 , 20.85 ± 0.2 , 21.14 ± 0.2 , 23.42 ± 0.2 , 23.67 ± 0.2 , 24.54 ± 0.2 , $26.95 \pm 0.2^\circ$ a una temperatura de aproximadamente 22°C .
- 20 5. La forma cristalina C (hidrato) de (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-6-(4-cloro-fenil)-2-(2,4-dimetoxi-pirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidro-1H-pirrolo[3,4-d]imidazol-4-ona como se reivindica en la reivindicación 2, caracterizada por un patrón de difracción de rayos X que comprende 4 o más valores de 2 theta seleccionados del grupo que consiste en 10.09 ± 0.2 , 14.52 ± 0.2 , 14.88 ± 0.2 , 16.93 ± 0.2 , 17.56 ± 0.2 , 19.18 ± 0.2 , 20.46 ± 0.2 , 20.87 ± 0.2 , 21.86 ± 0.2 , 25.00 ± 0.2 , 25.68 ± 0.2 , 28.57 ± 0.2 , $32.17 \pm 0.2^\circ$ a una temperatura de aproximadamente 22°C .
- 25 6. Un compuesto o una sal del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 y 5, para uso como un producto farmacéutico.
7. Un compuesto o una sal del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 y 5, para uso en el tratamiento de un trastorno o una enfermedad mediada por la actividad de MDM2 y/o MDM4.
- 30 8. Un compuesto para uso como se reivindica en la reivindicación 7, en el que el trastorno o enfermedad mediada por la actividad de MDM2 y/o MDM4 es cáncer.

9. Un compuesto para uso como se reivindica en la reivindicación 7, en el que el trastorno o enfermedad mediada por la actividad de MDM2 y/o MDM4 son tumores benignos o malignos, un sarcoma de tejido blando tal como liposarcoma, rabdomiosarcoma o cáncer de hueso, un carcinoma, tal como del riñón, hígado, glándula suprarrenal, vejiga, mama, gástrico, ovario, colon, recto, próstata, páncreas, pulmón, vagina o tiroides, mesotelioma, un mieloma múltiple, un cáncer gastrointestinal, especialmente carcinoma de colon o adenoma colorrectal, un tumor de cabeza y cuello, un melanoma, una hiperplasia prostática, una neoplasia, una neoplasia de carácter epitelial, una leucemia tal como leucemia mieloide aguda o leucemia linfocítica crónica de células B, un linfoma, tal como origen de células B o T y metástasis en otros órganos.
- 5
10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 y 5, y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.
- 10
11. Un compuesto o sal del mismo como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 y 5, en combinación con uno o más agentes terapéuticamente activos.

FIGURA 3

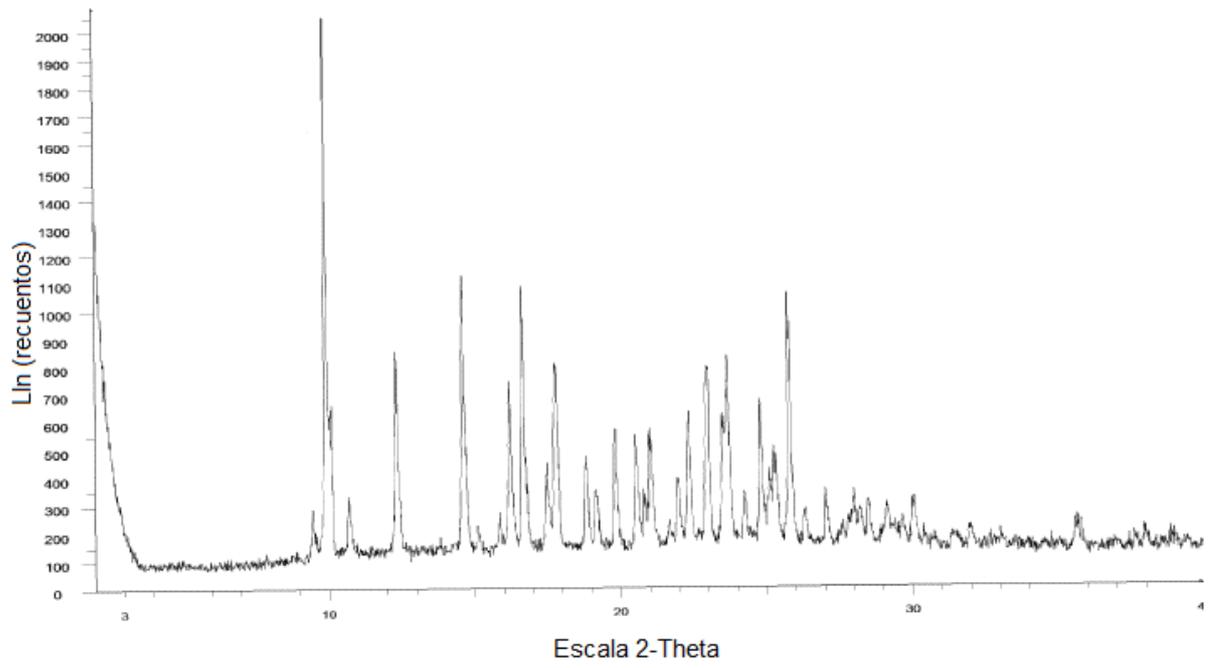


FIGURA 4

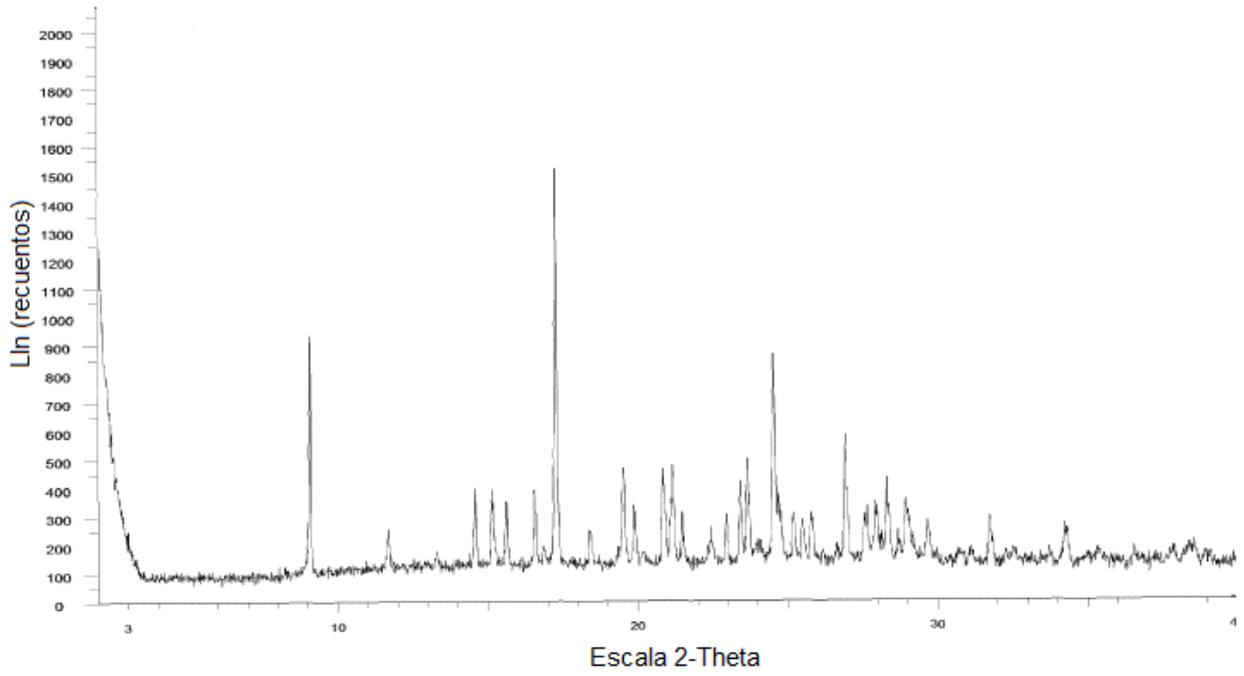


FIGURA 5

