

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 271**

51 Int. Cl.:

**A61K 45/06** (2006.01)

**C07D 235/18** (2006.01)

**C07D 235/30** (2006.01)

**C07D 235/14** (2006.01)

**A61K 31/4184** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.01.2013 PCT/EP2013/051944**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.08.2013 WO13113838**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.01.2013 E 13702055 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 2809657**

54 Título: **Nuevos agentes terapéuticos**

30 Prioridad:

**01.02.2012 US 201261593459 P**

**31.07.2012 US 201261678064 P**

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

**04.12.2017**

73 Titular/es:

**EURO-CELTIQUE S.A. (100.0%)**

**2, avenue Charles de Gaulle**

**1653 Luxembourg, LU**

72 Inventor/es:

**CHEN, YU y**

**CHEN, YI**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 645 271 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

## Nuevos agentes terapéuticos

5 La presente invención se refiere a una clase de compuestos de ácido hidroxámico, que actúan como agentes de alquilación y/o inhibidores de la trayectoria de HDAC, a sus usos, a procedimientos para su preparación y a composiciones que comprenden dichos compuestos. Estos compuestos tienen una utilidad potencial en una diversidad de sectores terapéuticos que incluyen el tratamiento de una enfermedad neoplásica y enfermedades inmunes.

10 El cáncer es una de las enfermedades más amenazantes para la vida en el que las células en una parte del cuerpo experimentan un crecimiento fuera de control. Según los datos más recientes de la entidad American Cancer Society, se estima que hay 1,6 millones de casos nuevos de cáncer en USA en 2011. El cáncer es la segunda causa que lleva a la muerte en los Estados Unidos (segunda solo después de las enfermedades cardíacas) y afectará a más de 570.000 vidas en 2011. De hecho, se estima que un 50% de todos los hombres y un 33% de todas las mujeres que viven en los Estados Unidos desarrollarán algún tipo de cáncer en su tiempo de vida. Por lo tanto, el cáncer constituye una carga de salud pública principal y representa un coste significativo en los Estados Unidos.

15 Durante décadas, la cirugía, quimioterapia y radiación fueron los tratamientos establecidos para diversos cánceres. Los pacientes reciben habitualmente una combinación de estos tratamientos dependiendo del tipo y el alcance de su enfermedad. Pero la quimioterapia es la opción más importante para un paciente de cáncer cuando es imposible el tratamiento quirúrgico.

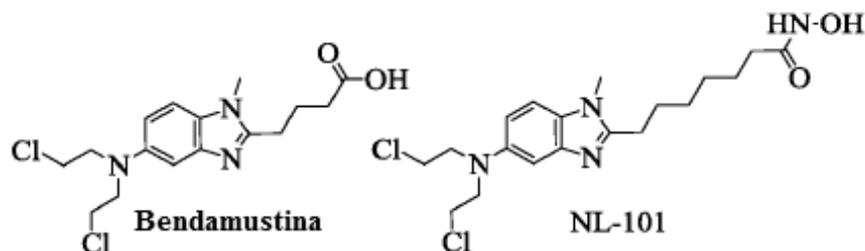
20 La bendamustina, una quimioterapia bien conocida sintetizada por primera vez en 1963, consiste en un resto de mostaza de nitrógeno de alquilación y un resto de bencimidazol de tipo purina con un efecto sugerido análogo a la purina (Barman Balfour J A, et al, Drugs 2001; 61: 631-640). La bendamustina se ha mostrado que tiene una actividad sustancial contra linfomas de grado bajo (Herold M, et al., Blood, 1999; 94, Suppl 1: 262a), mielomas múltiples (Poensch W, et al., Blood 2000; 96, Suppl 1: 759a) y diversos tumores sólidos (Kollmannsberger C, et al., Anticancer Drugs 2000; 11: 535-539). Se informó también que la bendamustina induce eficazmente la apoptosis en células de linfoma (Chow K U, et al., Haematologica, 2001; 86: 485-493). Ha recibido la aprobación de la entidad FDA para el tratamiento de leucemia linfocítica crónica (CLL) y para el tratamiento de linfoma indolente de células B que no es de Hodgkin (NHL) que ha progresado durante o en seis meses de tratamiento con rituximab o un régimen que contiene rituximab.

30 En los últimos años, han surgido las histonadesacetilasas (HDAC) como una diana de enfermedades importantes para el tratamiento del cáncer [Minucci, S. et al., Nat Rev Cancer 2006, 6, 38-51]. Las enzimas HDAC humanas tienen 18 isoformas agrupadas en clases I-IV según su homología de secuencias. Las clases I, II y IV, comúnmente denominadas como HDAC clásicas, están compuestas por 11 miembros de la familia. Las HDAC de clase III consisten en 7 enzimas y son distintas de los otros miembros de las familias de HDAC, por lo tanto, se proporcionan el término único sirtuinas. La inhibición de la enzima HDAC conduce a la acetilación de histonas que está asociada a la remodelación de cromatina y desempeña una función clave en la regulación epigenética de la expresión génica.

35 Además, los inhibidores de HDAC se ha mostrado que provocan la acetilación de muchas proteínas importantes que no son de histonas como HSP90, alfa-tubulina, Ku-70, Bcl-6, importina, cortactina, p53, STAT1, E2F1, GATA-1 y NF-kB, que pueden alterar muchas redes señalizadoras importantes relacionadas con el tratamiento del cáncer. El mecanismo de acción subyacente de los inhibidores de HDAC incluye la diferenciación, detención del ciclo celular, inhibición de reparación de ADN, inducción de apoptosis, sobrerregulación de supresores tumorales, infrarregulación de factores crecimiento, tensión oxidativa y autofagia. En la última década, ha sido identificado un gran número de inhibidores de HDAC estructuralmente diversos y al menos 12 inhibidores de HDAC están actualmente en ensayos clínicos humanos para tratamientos de cáncer, que incluyen ácido graso de cadena corta (ácido valproico), hidroxamatos (SAHA, LBH589, PDX101, JNJ-26481585, ITF2357, CUDC-101), tetrapéptidos cíclicos (FK-228), benzamida (MS-275) y otros diversos compuestos (CHR-3996, 4SC-201, SB939). Entre ellos, el SAHA y el FK-228 han sido aprobados por la entidad US FDA para el tratamiento de linfoma de células T cutáneo avanzado.

45

El documento WO 2010/085377 se refiere a una clase de derivados de ácido hidroxámico, que inhiben la trayectoria de HDAC y tienen una utilidad potencial en el tratamiento de una enfermedad neoplásica o una enfermedad autoinmune. Entre los compuestos descritos está NL-101 que tiene la estructura mostrada a continuación:

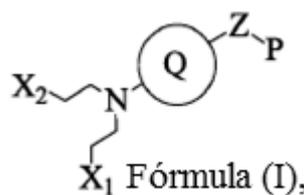


5 El ensayo biológico mostró que el NL-101 inhibe potentemente la enzima HDAC (HDAC1 IC<sub>50</sub> de 9 nM). El NL-101 fue enviado a NCI (NSC n° 751447) para la selección del panel de líneas celulares NCI-60. Los datos mostraron que el NL-101 es aproximadamente 25-100 veces más potente que la bendamustina en las líneas celulares NCI-60 que son representativas de una diversidad de tipo de cáncer humano.

Hay una necesidad continuada de productos farmacéuticos adicionales útiles para el tratamiento de cáncer y enfermedades autoinmunes, que tengan preferentemente ventajas sobre las terapias existentes, como una potencia o selectividad mejorada o una toxicidad reducida.

10 La presente invención se refiere a una clase de derivados de ácido hidroxámico, que actúa como agentes de alquilación y/o inhibidores de la trayectoria de HDAC. Las moléculas pequeñas de funcionalidad dual única de la invención pueden atacar las células de cáncer de forma sinérgica desde dos direcciones distintas simultáneamente (deteriorando el ADN y las inhibiciones de la trayectoria de HDAC). Por tanto, los compuestos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor, como uno tratable mediante bendamustina y/o los inhibidores de la trayectoria de HDAC. Los compuestos de la invención pueden ser útiles  
15 adicionalmente en la prevención y tratamiento de una enfermedad inmune.

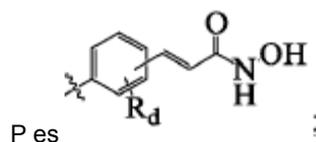
Por tanto, en un aspecto, esta invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto de fórmula (I) o N-óxido del mismo:



20 en la cual

Z es (CR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>)<sub>p</sub>N(R<sub>a</sub>)(CR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>)<sub>q</sub>;

X<sub>1</sub> y X<sub>2</sub> se seleccionan cada uno independientemente entre halo y OSO<sub>2</sub>R<sub>c</sub>;



25 Q es bencimidazolilo, que está opcionalmente sustituido con alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, halo, nitro, oxo, ciano o OR<sub>e</sub>;

R<sub>a</sub>, R<sub>b</sub>, R<sub>d</sub> y R<sub>e</sub> se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo, alquenilo y alquinilo;

R<sub>c</sub> se selecciona entre alquilo, alquenilo y alquinilo; y

30 p y q se seleccionan cada uno independientemente entre 0, 1, 2, 3 y 4; y en que los grupos alquilo contienen 1-10 átomos de carbono; los grupos alquenilo o alquinilo contienen 2-10 átomos de carbono y los grupos cicloalquilo contienen de 3 a 12 átomos de carbono.

Preferentemente, p y q se seleccionan cada uno independientemente entre 1, 2 y 3. Más preferentemente, p es 1 y q

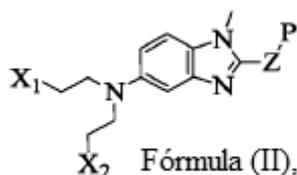
es 2; o p es 2 y q es 1; o p es 0 es q es 3; o p es 3 y q es 0; o p y q son ambos 2.

Preferentemente, Z es  $(\text{CH}_2)_p\text{NH}(\text{CH}_2)_q$ . Lo más preferentemente, Z es  $(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)$ .

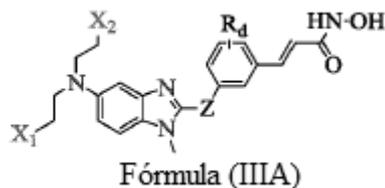
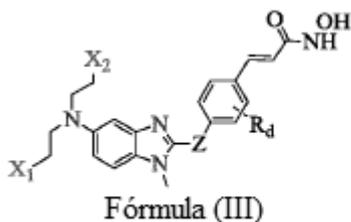
5 Preferentemente,  $X_1$  y  $X_2$  se seleccionan cada uno independientemente entre halo. Más referentemente,  $X_1$  y  $X_2$  se seleccionan cada uno independientemente entre cloro, bromo y yodo. Lo más preferentemente,  $X_1$  y  $X_2$  son ambos cloro.

Todavía más preferentemente, Q es bencimidazolilo sustituido con uno o más grupos alquilo. Incluso más preferentemente, Q es bencimidazolilo sustituido con 1, 2 o 3 grupos metilo. Lo más preferentemente, Q es bencimidazolilo sustituido con un grupo metilo.

En una realización preferida, los compuestos de la invención están representados por la fórmula (II):



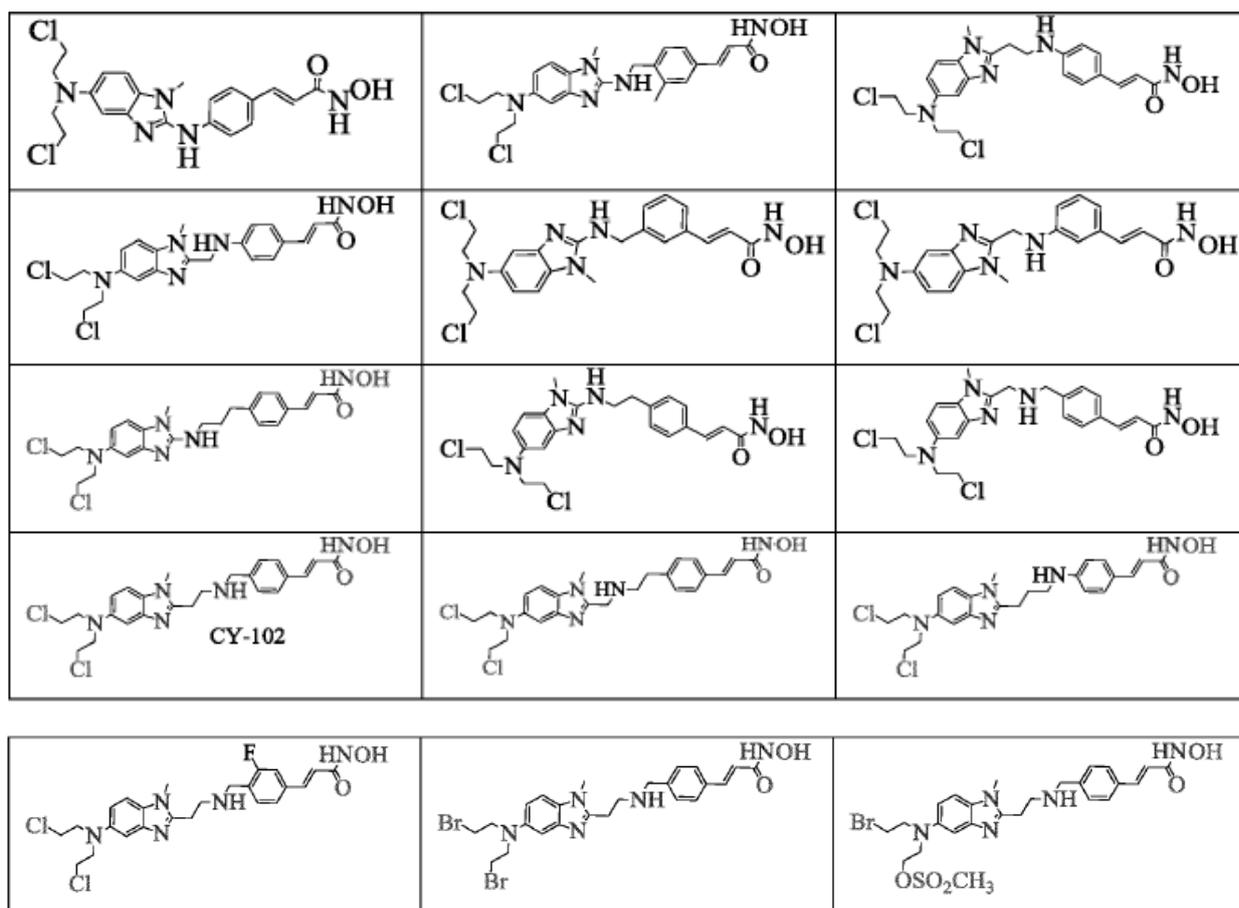
10 En realizaciones más preferidas, los compuestos de la invención están representados por la fórmula (III) o la fórmula (IIIa):



15 En una realización más preferida, los compuestos de la invención están representados por la fórmula (III) o la fórmula (IIIa) en las que  $X_1$  y  $X_2$  se seleccionan cada uno independientemente entre halo y Z es  $(\text{CH}_2)_p\text{NH}(\text{CH}_2)_q$ .

Todavía en una realización más preferida, los compuestos de la invención están representados por la fórmula (III) o la fórmula (IIIa) en la que  $X_1$  y  $X_2$  son ambos cloro y Z es  $(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)$ .

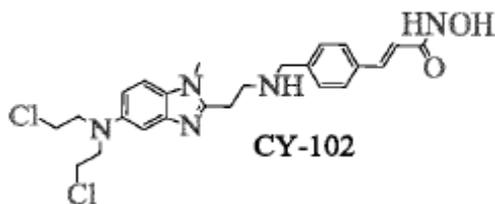
Son preferidos los siguientes compuestos:



El grupo alqueno en los compuestos de fórmula (I) puede estar en la forma del isómero (E) o (Z) y son preferentemente el isómero (E). En particular, el compuesto CY-102 más preferido es el isómero (E).

- 5 Debe reconocerse que los compuestos de la presente invención pueden estar presentes y son opcionalmente administrados en la forma de sales o solvatos. La invención abarca cualesquiera sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de cualesquiera de los compuestos anteriormente descritos.

El compuesto más preferido es el compuesto CY-102 o una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo:



- 10 También está dentro del alcance de esta invención una composición farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos y/o sales o solvatos de los mismos anteriormente descritos para ser usados en el tratamiento de una enfermedad neoplásica o un trastorno inmune, usos terapéuticos de los mismos y uso de los compuestos para la fabricación de un medicamento para tratar la enfermedad/trastorno.

- 15 Esta invención se refiere también a un compuesto de fórmula (I) o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto de fórmula (I) o N-óxido del mismo para ser usado como un medicamento para el tratamiento de un trastorno neoplásico (por ejemplo, cáncer, síndrome mielodisplásico o enfermedad mieloproliferativa) administrando a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de dicho compuesto.

- 20 Además, esta invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto de fórmula (I) o N-óxido del mismo para ser usado como un medicamento para el tratamiento de una enfermedad inmune (por ejemplo, artritis reumatoide y

esclerosis múltiple) administrando a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de dicho compuesto.

Los detalles de una o más realizaciones de la invención se exponen en la descripción siguiente. Otras características, objetos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción y a partir de las reivindicaciones. Debe entenderse que todas las realizaciones/características de la invención (compuestos, composiciones farmacéuticas, métodos de preparación/uso, etc. Descritos en la presente memoria descriptiva, que incluyen cualesquiera características específicas descritos en los ejemplos y reivindicaciones originales, se pueden combinar unos con otros salvo que no sea aplicable o esté explícitamente excluido de las reivindicaciones.

Los compuestos de la invención pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos. Consecuentemente, los compuestos pueden existir como diastereómeros, enantiómeros o sus mezclas. Las síntesis de los compuestos pueden emplear racematos, diastereómeros o enantiómeros como materiales de partida o como intermedios. Los compuestos diastereómeros pueden ser separados mediante métodos cromatográficos o de cristalización. Análogamente, las mezclas enantiómeras se pueden separar usando las mismas técnicas u otras conocidas en el estado de la técnica. Cada uno de los átomos de carbono asimétricos pueden existir en la configuración R o S y estas dos configuraciones están dentro del alcance de la invención.

Se describe también un compuesto modificado de uno cualquiera de estos compuestos que incluye una modificación que tiene una solubilidad, estabilidad, biodisponibilidad y/o índice terapéutico farmacéutico mejorado (por ejemplo, aumentados, mayores) en comparación con el compuesto sin modificar. Los ejemplos o modificaciones incluyen, pero sin limitación, los compuestos enriquecidos con deuterio y conjugados de compuestos con polietilenglicol, dextrano, poli(alcohol vinílico), polímero de hidratos de carbono, anticuerpos, biomoléculas pequeñas como vitamina E o sus derivados, o sus mezclas. Por ejemplo:

- Compuestos enriquecidos en deuterio: el deuterio (D o  $^2\text{H}$ ) es un isótopo no radioactivo estable del hidrógeno y tiene un peso atómico de 2,0144. El hidrógeno se produce de forma natural en forma de una mezcla de isótopos  $^1\text{H}$  (hidrógeno o protio), D ( $^2\text{H}$  o deuterio) y T ( $^3\text{H}$  o tritio). La abundancia natural del deuterio es de 0,015%. Un experto en la técnica reconoce que en todos los compuestos químicos con un átomo de H, el átomo de H representa realmente una mezcla de H y D, siendo D aproximadamente un 0,015%. Por tanto, los compuestos con un nivel de deuterio que han sido enriquecidos hasta más de su abundancia natural de 0,015% deben ser considerados como no naturales y, como consecuencia, novedosos sobre sus correspondientes no enriquecidos.

- Conjugados de compuesto-polímero: muchos agentes anticancerígenos exhiben una excelente actividad antitumoral contra xenoinjertos de animales *in vivo*. Sin embargo, su insolubilidad en agua hace difícil administrar estos fármacos. Una propuesta para superar los inconvenientes farmacéuticos y farmacocinéticos de estos fármacos escasamente solubles es unirlos covalentemente a polímeros como polietilenglicol, dextrano, poli(alcohol vinílico) y polímeros de hidratos de carbono. Usando esta propuesta, la solubilidad en agua del agente anticancerígeno puede ser mejorada de forma que el conjugado polímero puede administrado por vía parenteral en un medio acuoso.

- Conjugados de compuesto-anticuerpo: durante muchos años ha sido un objetivo de los científicos en el campo de una terapia de fármaco específicamente dirigida a diana usar anticuerpos monoclonales (MAbs) para el suministro específico de agentes no tóxicos a cánceres humanos. Han sido desarrollados conjugados de MAbs asociados a tumores y agentes tóxicos adecuados. El agente tóxico lo más comúnmente es un fármaco de quimioterapia, aunque han sido conjugados también a MAbs radionúclidos emisores de partículas o toxinas bacterianas o vegetales, específicamente para la terapia del cáncer (Sharkey and Goldenberg, C A Cancer J. Clin. 2006 July-August; 56(4):226-243). Las ventajas de usar conjugados de MAbs-fármacos de quimioterapia son que (a) el fármaco de quimioterapia está en sí mismo estructuralmente bien definido; (b) el fármaco de quimioterapia está unido a la proteína de MAbs usando químicas de conjugación muy bien definidas, a menudo en sitios específicos alejados de las regiones de unión de antígenos de MAbs; (c) los conjugados de MAbs-fármaco de quimioterapia pueden ser preparados más reproducibles que los conjugados químicos que implican MAbs y toxinas bacterianas o vegetales, y como tales son más manejables para el desarrollo comercial y la aprobación normativa; y (d) los conjugados de MAbs-fármaco de quimioterapia son de órdenes de magnitudes menos tóxicas por vía sistémica que los conjugados de radionúclido-MAb.

Cuando los compuestos de la presente invención tienen una forma de base libre, los compuestos pueden ser preparados en forma de una sal por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, hidroháluros como hidrocloreuro, hidrobromuro, hidroyoduro; otros ácidos minerales como sulfato, nitrato, fosfato, etc.; y alquil- y monoaril-sulfonatos como etanosulfonato, toluenosulfonato, bencenosulfonato y otros ácidos orgánicos y sus correspondientes sales como acetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato y ascorbato. Otras sales por adición de ácidos de la presente invención incluyen, pero sin limitación: adipato, alginato, arginato, aspartato, bisulfato, bisulfito, bromuro, butirato, canforato, canforsulfonato, caprilato, cloruro, clorobenzoato, ciclopentanopropionato, digluconato, dihidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, fumarato, galacterato (a partir de ácido místico), galacturonato, glucoheptaoato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, hemisuccinato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hipurato, 2-hidroxi-etanosulfonato, yoduro, isetionato, iso-butirato, lactato, lactobionato, malonato, mandelato, metafosfato, metanosulfonato, metilbenzoato, monohidrogenofosfato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, oleato, pamoato, pectinato, persulfato, fenilacetato, 3-fenilpropionato,

fosfonato y ftalato.

5 Cuando los compuestos de la presente invención tienen una forma de ácido libre, puede ser preparada una sal por adición de bases farmacéuticamente aceptables haciendo reaccionar la forma de ácido libre del compuesto con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de bases son hidróxidos de metales alcalinos que incluyen hidróxidos de potasio, sodio y litio; hidróxidos de metales alcalinotérreos como hidróxidos de bario y calcio; alcóxidos de metales alcalinos, por ejemplo, etanolato de potasio y propanolato de sodio y diversas bases orgánicas como hidróxido amonio, piperidina, dietanolamina y N-metilglutamina. También están incluidas las sales de aluminio de los compuestos de la presente invención. Otras sales de bases de la presente invención incluyen, pero sin limitación: sales de cobre, férricas, ferrosas, litio, magnesio, mangánicas, manganosas, potasio, sodio y zinc. Las sales de bases orgánicas incluyen, pero sin limitación, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas que se producen de forma natural, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, por ejemplo, arginina, betaína, cafeína, cloroprocaína, colina, N,N'-dibenciletilenodiamina (benzatina), dicitclohexilamina, dietanolamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lidocaína, lisina, meglumina, N-metil-D-glucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliaminas, procaina, purinas, teobromina, trietanolamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina y tris-(hidroximetil)-metilamina (trometamina). Debe reconocerse que las formas de ácidos libres diferirán normalmente de sus respectivas formas de sales algo en las propiedades físicas como solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a sus respectivas formas de ácidos libres para los fines de la presente invención.

20 En un aspecto, una sal farmacéuticamente aceptable es una sal de hidrocioruro, sal de hidrobromuro, metanosulfonato, toluenosulfonato, acetato, fumarato, sulfato, bisulfato, succinato, citrato, fosfato, maleato, nitrato, tartrato, benzoato, bicarbonato, carbonato, sal de hidróxido de sodio, sal de hidróxido de calcio, sal de hidróxido de potasio, sal de trometamina o sus mezclas.

El compuesto CY-102 se forma y/o usa preferentemente como la sal de hidrocioruro.

25 Los compuestos de la presente invención que comprenden grupos que contienen nitrógeno terciario pueden ser cuaternizados con agentes como haluros de alquilo (C<sub>1-4</sub>), por ejemplo, cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, isopropilo y terc-butilo; sulfatos de di-alquilo (C<sub>1-4</sub>), por ejemplo, sulfatos de dimetilo, dietilo y diamilo; haluros de alquilo, por ejemplo, cloruros, bromuros y yoduros de decilo, dodecilo, laurilo, miristilo y estearilo; y haluros de aril-alquilo (C<sub>1-4</sub>), por ejemplo, cloruro de bencilo y bromuro de fenotilo. Estas sales permiten la preparación de compuestos solubles tanto en agua como en aceites de la invención.

30 Los óxidos de aminas, también conocidos como amina-N-óxido y N-óxido de agentes anticancerígenos con átomos de nitrógeno terciarios han sido desarrollados como profármacos [Mol Cancer Therapy. 2004 Mar.; 3(3):233-44]. Los compuestos de la presente invención que comprenden átomos de nitrógeno terciarios pueden ser oxidados por agentes como peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácidos o perácidos de Caro como ácido meta-cloroperoxibenzoico (mCPBA) o a partir de un óxido de amina.

El compuesto CY-102 puede ser usado, por ejemplo, en la forma de su N-óxido o sal del mismo.

40 La invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto de la presente invención y excipientes farmacéuticos, así como otros agentes convencionales farmacéuticamente inactivos. Puede ser usado cualquier excipiente inerte que se use comúnmente como vehículo o diluyente en composiciones de la presente invención, como azúcares, polialcoholes, polímeros solubles, sales y lípidos. Los azúcares y polialcoholes que pueden ser empleados incluyen, sin limitación, lactosa, sacarosa, manitol, y sorbitol. Ejemplos ilustrativos de los polímeros solubles que pueden ser empleados son polioxietileno, poloxámeros, polivinilpirrolidona y dextrano. Las sales útiles incluyen, sin limitación, cloruro de sodio, cloruro de magnesio, y cloruro de calcio. Los lípidos que pueden ser empleados incluyen, sin limitación, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos y glicerol, glicolípidos y fosfolípidos.

45 Además, las composiciones farmacéuticas pueden comprender adicionalmente aglutinantes (por ejemplo, goma arábica, almidón de maíz, gelatina, carbómero, etil-celulosa, goma guar, hidroxipropil-celulosa, hidroxipropil-metil-celulosa o povidona), agentes disgregantes (almidón de maíz, almidón de patata, ácido algámico, dióxido de silicio, croscarmelosa de sodio, crospovidona, goma guar, almidón-glicolato de sodio, Primogel), tampones (tris-HCl, acetato, fosfato) de diversos valores de pH y resistencia iónica, aditivos como albúmina o gelatina para evitar la absorción a superficies, detergentes (por ejemplo, Tween 20, Tween 80, Pluronic F68, sales de ácidos biliares), inhibidores de proteasa, tensioactivos (por ejemplo, lauril-sulfato de sodio), mejoradores de la penetración, agentes solubilizantes (por ejemplo, glicerol, polietilenglicol, ciclodextrinas), un adyuvante de flujo (por ejemplo dióxido de silicio coloidal), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito de sodio, hidroxianisol butilado), estabilizadores (por ejemplo, hidroxipropil-celulosa, hidroxipropilmetil-celulosa), agentes de aumento de la viscosidad (por ejemplo, carbómero, dióxido de silicio coloidal, etil-celulosa, goma guar), edulcorantes (por ejemplo, sacarosa, aspartamo, ácido cítrico), agentes para dar sabor (por ejemplo, menta, salicilato de metilo, o sabor de naranja), conservantes (por ejemplo, Thimerosal, alcohol bencilico, parabenos), lubricantes (por ejemplo, ácido esteárico, estearato de magnesio, poli(alcohol vinílico), lauril-sulfato de sodio), adyuvantes de flujo (por ejemplo, dióxido de

silicio coloidal), plastificantes (por ejemplo, ftalato de dietilo, citrato de trietilo), emulsionantes (por ejemplo, carbómero, hidroxipropil-celulosa, lauril-sulfato de sodio), revestimientos polímeros (por ejemplo, poloxámeros o poloxaminas), agentes formadores de revestimientos y películas (por ejemplo, etil-celulosa, acrilatos, polimetacrilatos) y/o adyuvantes.

- 5 En una realización, las composiciones farmacéuticas se preparan con vehículos que protegerán el compuesto contra una eliminación rápida del cuerpo, como una formulación de liberación controlada, que incluyen implantes y sistemas de suministro microencapsulados. Pueden ser usados polímeros biocompatibles biodegradables, como vinil-acetato de etileno, polianhídridos, poli(ácido glicólico, colágeno, poliortoésteres y poli(ácido láctico). Los métodos para la preparación de estas formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Los materiales
- 10 pueden ser obtenidos también en el comercio a partir de las entidades Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Las suspensiones liposomales (incluidos liposomas dirigidos a diana a células infectadas con anticuerpos monoclonales para antígenos virales) pueden ser usados también como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos pueden ser preparados según métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, como se describe en la patente de EE.UU. nº 4.522.811.
- 15 Adicionalmente, la invención abarca composiciones farmacéuticas que comprende cualquier forma física sólida o líquida del compuesto de la invención. Por ejemplo, los compuestos pueden estar en forma cristalina, en forma amorfa y tener cualquier tamaño de partículas. Las partículas pueden ser micronizadas, o pueden ser aglomeradas, gránulos en forma de partículas, polvos, aceites, suspensiones aceitosas o cualquier otra forma de una forma física sólida o líquida.
- 20 **Definiciones:**
- El término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo lineal o ramificado que contiene 1-10 átomos de carbono (por ejemplo, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>). Ejemplos de alquilo incluyen, pero sin limitación, metilo metileno, etilo, etileno, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo y t-butilo. Preferentemente, el grupo alquilo tiene uno a diez átomos de carbono. Más preferentemente, el grupo alquilo tiene de uno a cuatro átomos de carbono.
- 25 El término "alqueno" se refiere a un hidrocarburo lineal o ramificado que contiene 2-10 átomos de carbono (por ejemplo, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>) y uno o más enlaces dobles. Ejemplos de alqueno incluyen, pero sin limitación, etenilo, propenilo y alilo. Preferentemente, el grupo alqueno tiene de dos a diez átomos de carbono. Más preferentemente, el grupo alqueno tiene de dos a cuatro átomos de carbono.
- 30 El término "alquino" se refiere a un hidrocarburo lineal o ramificado que contiene 2-10 átomos de carbono (por ejemplo, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>) y uno o más enlaces triples. Ejemplos de alquino incluyen, pero sin limitación, etinilo, 1-propinilo, 1- y 2-butinilo y 1-metil-2-butinilo. Preferentemente, el grupo alquino tiene de dos a diez átomos de carbono. Más preferentemente, el grupo alquino tiene de dos a cuatro átomos de carbono.
- 35 El término "cicloalquilo" se refiere a un sistema de anillos de hidrocarburos saturados que tiene de 3 a 12 átomos de carbono (por ejemplo, C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Ejemplos de cicloalquilo incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo.
- El término "heteroarilo" se refiere a un sistema de anillos monocíclico de 5-8 miembros o bicíclico de 8-12 miembros, aromático, que tiene uno o más heteroátomos seleccionados entre O, N, S, P y Se). Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen piridilo, furilo, imidazolilo, bencimidazolilo, pirimidinilo, tienilo, quinolinilo, indolilo, y tiazolilo.
- "Halo" significa flúor, cloro, bromo o yodo.
- 40 "Derivados protegidos" significa derivados de compuestos en los que un sitio reactivo es bloqueado con grupos protectores. Los derivados protegidos son útiles en la preparación de productos farmacéuticos o en sí mismos pueden ser activos como inhibidores. Una lista exhaustiva de grupos protectores adecuados se puede encontrar en la publicación de T. W. Greeno, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, Wiley & Sons, 1999.
- 45 "Vehículo farmacéuticamente aceptable" significa un disolvente, dispersante, excipiente, adyuvante u otro material no tóxico que es mezclado con los compuestos de la presente invención con el fin de formar una composición farmacéutica, es decir, una forma de dosis capaz de administración al paciente. Ejemplos de vehículo farmacéuticamente aceptable incluyen polietilenglicoles adecuados (por ejemplo, PEG400), tensioactivo (por ejemplo, Cremophor), o ciclopolicárido (por ejemplo, hidroxipropil-β-ciclodextrina r sulfobutil-éter-β-ciclodextrinas), polímero, liposoma, micela, nanosfera, etc.
- 50 "Cantidad terapéuticamente eficaz" de una composición descrita en la presente memoria descriptiva quiere decir una cantidad de la composición que confiere un efecto terapéutico sobre el sujeto tratado, a una relación beneficio/riesgo razonable, aplicable a cualquier tratamiento médico. El efecto terapéutico puede ser objetivo (es decir, medible por algún ensayo o marcador) o subjetivo (es decir, el sujeto proporciona una indicación o percepciones de un efecto). Una cantidad eficaz de la composición anteriormente descrita puede variar en el intervalo de aproximadamente 0,1
- 55 mg/kg a aproximadamente 500 mg/kg, preferentemente de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 50 mg/kg. Las dosis eficaces variarán también dependiendo de la vía de administración, así como la posibilidad de un uso conjunto

con otros agentes. Sin embargo, se entenderá que la utilización diaria total de las composiciones de la presente invención se decidirá por el facultativo encargado dentro del alcance de un criterio médico ponderado. El nivel de dosis eficaz terapéuticamente específico para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen el trastorno que va a ser tratado y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; el tiempo de administración, vía de administración y la proporción de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos usados en combinación o simultáneamente con el compuesto específico empleado; y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "tratamiento" se refiere a administrar un compuesto a un sujeto que tiene, por ejemplo, un trastorno neoplástico o inmune, o tiene un síntoma de una predisposición hacia el mismo, con la finalidad de curar, sanar, aliviar, mitigar, alterar, remediar, mejorar, progresar o afectar el trastorno, los síntomas o la predisposición hacia el trastorno. La expresión "una cantidad eficaz" se refiere a la cantidad del agente activo que es necesaria para conferir el efecto terapéutico pretendido en el sujeto. Las cantidades eficaces pueden variar, como se reconoce por los expertos en la técnica, dependiendo de la vía de administración, uso de excipientes y la posibilidad de uso conjunto con otros agentes.

Un "sujeto" se refiere a un ser humano y un animal no humano. Ejemplos de un animal no humano incluyen todos los vertebrados, por ejemplo, mamíferos como primates no humanos (particularmente primates superiores), perros, roedores (por ejemplo, ratón o rata), cobaya, gato y no mamíferos, como aves, anfibios, reptiles, etc. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano. En otra realización, el sujeto es un animal experimental o animal adecuado como un modelo de enfermedad.

Cuando los compuestos según la presente invención exhiben una solubilidad insuficiente, pueden ser usados métodos para solubilizar los compuestos. Estos métodos son conocidos por los expertos en la técnica e incluyen, pero sin limitación, el ajuste del pH y la formación de sales, usando codisolventes como etanol, propilenglicol, polietilenglicol (PEG) 300, PEG 400, DMA (10-30%), DMSO (10-20%), NMP (10-20%), usando tensioactivos como polisorbato 80, polisorbato 20 (1-10%), Cremophor EL, Cremophor RH40, Cremophor RH60 (5-10%), Pluronic F68/Poloxamer 188 (20-50%), Solutol HS15 (20-50%), Vitamina E TPGS, y succinato de d- $\alpha$ -tocoferilo-PEG 1000 (20-50%), usando complejación como HP $\beta$ CD y SBE $\beta$ CD (10-40%), y usando propuestas avanzadas como micelas, adición de un polímero, suspensiones de nanopartículas y formación de liposomas.

"Terapia de combinación" incluye la administración de los compuestos objetos de la presente invención en combinación adicional con otros ingredientes biológicamente activos (como, pero sin limitación, un segundo agente neoplástico diferente) y terapias que no son de fármacos (como, pero sin limitación, tratamiento de cirugía o radiación). Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden ser usados en combinación con otros compuestos farmacéuticamente activos, o terapias que no son de fármacos, preferentemente compuestos que son capaces de mejorar el efecto de los compuestos de la invención. Los compuestos de la invención pueden ser administrados de forma simultánea (como una preparación única o preparación separada) o secuencial a las otras terapias. En general, una terapia de combinación supone la administración de dos o más fármacos/tratamientos durante un ciclo único o transcurso de terapia.

En una realización, los compuestos de la invención son administrados en combinación con uno o más agentes quimioterapéuticos tradicionales. Los agentes quimioterapéuticos tradicionales abarcan una amplia gama de tratamientos terapéuticos en el campo de la oncología. Estos agentes son administrados en diversas fases de la enfermedad para los fines de contraer tumores, destruir células cancerígenas restantes que permanecen después de la cirugía, induciendo la remisión, manteniendo la remisión y/o aliviando los síntomas relativos al cáncer o su tratamiento. Ejemplos de estos agentes incluyen, pero sin limitación, agentes de alquilación como nitrosureas (por ejemplo, Carmustine, Lomustine y Streptozocin), etileniminas (por ejemplo, tiotepa, hexametilmelanina), alquilsulfonatos (por ejemplo, Busulfan), hidracinas y triacinas (por ejemplo, Altretamine, Procarbazine, Dacarbazine y Temozolomide) y agentes basados en platino (por ejemplo, carboplatino, cisplatino, y oxaliplatino); alcaloides vegetales como Podofilotoxinas (por ejemplo, Etopósido y Tenisópido), taxanos (por ejemplo, Paclitaxel y Docetaxel), alcaloides Vinca (por ejemplo, vincristina, vinblastina y vinorelbina), antibióticos antitumorales como cromomicinas (por ejemplo, dactinomicina y plicamiyicina), anhraciclinas (por ejemplo, doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, mitoxantrona, e idarubicina) y antibióticos diversos como mitomicina y bleomicina; antimetabolitos como antagonistas de ácido fólico (por ejemplo, metotrexato), antagonistas de pirimidina (por ejemplo, 5-fluorouracilo, foxuridina, citarabina, capecitabina, y gencitabina), antagonistas de purina (por ejemplo, 6-mercaptopurina y 6-tioguanina) e inhibidores de adenosina desaminasa (por ejemplo, cladribina, fludarabina, nelarabina y pentostatina); inhibidores de topoisomerasas como inhibidores de topoisomerasa I (topotecano, irinotecano), inhibidores de topoisomerasa II (por ejemplo, amsacrina, etopósido, fosfato de etopósido, tenipósido) y antineoplásticos diversos como inhibidores de ribonucleótidorreductasa (hidroxiurea), inhibidor de esteroide adrenocortical (mitotano), agentes antimicrotúbulos (estramustina) y retinoides (bexaroteno, isotretinoína, tretinoína (ATRA)).

En un aspecto de la invención, los compuestos pueden ser administrados en combinación con uno o más agentes anticancerígenos dirigidos a diana que modulan proteínas quinasas implicadas en diversos estados de enfermedad. Ejemplos de estas quinasas pueden incluir, pero sin limitación ABL1, ABL2/ARG, ACK1, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, ALK1/ACVRL1, ALK2/ACVR1, ALK4/ACVR1B, ALK5/TGFBR1, ALK6/BMPR1B, AMPK(A1/B1/G1),

AMPK(A1/B1/G2), AMPK(A1/B1/G3), AMPK(A1/B2/G1), AMPK(A2/B1/G1), AMPK(A2/B2/G1), AMPK(A2/B2/G2), ARAF, ARK5/NUAK1, ASK1/MAP3K5, ATM, Aurora A, Aurora B, Aurora C, AXL, BLK, BMPR2, BMX/ETK, BRAF, BRK, BRSK1, BRSK2, BTK, CAMK1a, CAMK1b, CAMK1d, CAMK1g, CAMKIIa, CAMKIIb, CAMKIIc, CAMKIlg, CAMK4, CAMKK1, CAMKK2, CDC7-DBF4, CDK1-ciclina A, CDK1-ciclina B, CDK1-ciclina E, CDK2-ciclina A, CDK2-ciclina A1, CDK2-ciclina E, CDK3-ciclina E, CDK4-ciclina D1, CDK4-ciclina D3, CDK5-p25, CDK5-p35, CDK6-ciclina D1, CDK6-ciclina D3, CDK7-ciclina H, CDK9-ciclina K, CDK9-ciclina TI, CHK1, CHK2, CK1a1, CK1d, CK1epsilon, CK1g1, CK1g2, CK1g3, CK2a, CK2a2, c-KIT, CLK1, CLK2, CLK3, CLK4, c-MER, c-MET, COT1/MAP3K8, CSK, c-SRC, CTK/MATK, DAPK1, DAPK2, DCAMKL1, DCAMKL2, DDR1, DDR2, DLK/MAP3K12, DMPK, DMPK2/CDC42BPG, DNA-PK, DRAK1/STK17A, DYRK1/DYRK1A, DYRK1B, DYRK2, DYRK3, DYRK4, EEF2K, EGFR, EIF2AK1, EIF2AK2, EIF2AK3, EIF2AK4/GCN2, EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, ERBB2/HER2, ERBB4/HER4, ERK1/MAPK3, ERK2/MAPK1, ERK5/MAPK7, FAK/PTK2, FER, FES/FPS, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FGR, FLT1/VEGFR1, FLT3, FLT4/VEGFR3, FMS, FRK/PTK5, FYN, GCK/MAP4K2, GRK1, GRK2, GRK3, GRK4, GRK5, GRK6, GRK7, GSK3a, GSK3b, Haspin, HCK, HGK/MAP4K4, HIPK1, HIPK2, HIPK3, HIPK4, HPK1/MAP4K1, IGF1R, IKKa/CHUK, IKKb/IKKB, IKKe/IKBE, IR, IRAK1, IRAK4, IRR/INSRR, ITK, JAK1, JAK2, JAK3, JNK1, JNK2, JNK3, KDR/VEGFR2, KHS/MAP4K5, LATS1, LATS2, LCK, LCK2/ICK, LKB1, LIMK1, LOK/STK10, LRRK2, LYN, LYNB, MAPKAPK2, MAPKAPK3, MAPKAPK5/PRAK, MARK1, MARK2/PAR-1Ba, MARK3, MARK4, MEK1, MEK2, MEKK1, MEKK2, MEKK3, MELK, MINK/MINK1, MKK4, MKK6, MLCK/MYLK, MLCK2/MYLK2, MLK1/MAP3K9, MLK2/MAP3K10, MLK3/MAP3K11, MNK1, MNK2, MRCKa/, CDC42BPA, MRCKb/, CDC42BPB, MSK1/RPS6KA5, MSK2/RPS6KA4, MSSK1/STK23, MST1/STK4, MST2/STK3, MST3/STK24, MST4, mTOR/FRAP1, MUSK, MYLK3, MYO3b, NEK1, NEK2, NEK3, NEK4, NEK6, NEK7, NEK9, NEK11, NIK/MAP3K14, NLK, OSR1/OXSR1, P38a/MAPK14, P38b/MAPK11, P38d/MAPK13, P38g/MAPK12, P70S6K/RPS6KB1, p70S6Kb/, RPS6KB2, PAK1, PAK2, PAK3, PAK4, PAK5, PAK6, PASK, PBK/TOPK, PDGFRa, PDGFRb, PDK1/PDPK1, PDK1/PDHK1, PDK2/PDHK2, PDK3/PDHK3, PDK4/PDHK4, PHK1, PHK2, PI3Ka, (p110a/p85a), PI3Kb, (p110b/p85a), PI3Kd, (p110d/p85a), PI3Kg(p120g), PIM1, PIM2, PIM3, PKA, PKAc, PKAcg, PKCa, PKCb1, PKCb2, PKCd, PKCepsilon, PKCeta, PKCg, PKCiota, PKCmu/PRKD1, PKCnu/PRKD3, PKCtheta, PKCzeta, PKD2/PRKD2, PKG1a, PKG1b, PKG2/PRKG2, PKN1/PRK1, PKN2/PRK2, PKN3/PRK3, PLK1, PLK2, PLK3, PLK4/SAK, PRKX, PYK2, RAF1, RET, RIPK2, RIPK3, RIPK5, ROCK1, ROCK2, RON/MST1R, ROS/ROS1, RSK1, RSK2, RSK3, RSK4, SGK1, SGK2, SGK3/SGKL, SIK1, SIK2, SLK/STK2, SNARK/NUAK2, SRMS, SSTK/TSSK6, STK16, STK22D/TSSK1, STK25/YSK1, STK32b/YANK2, STK32c/YANK3, STK33, STK38/NDR1, STK38L/NDR2, STK39/STLK3, SRPK1, SRPK2, SYK, TAK1, TAOK1, TAOK2/TAO1, TAOK3/JIK, TBK1, TEC, TESK1, TGFB2, TIE2/TEK, TLK1, TLK2, TNIK, TNK1, TRKA, TRKB, TRKC, TRPM7/CHAK1, TSSK2, TSSK3/STK22C, TTBK1, TTBK2, TTK, TXK, TYK1/LTK, TYK2, TYRO3/SKY, ULK1, ULK2, ULK3, VRK1, VRK2, WEE1, WNK1, WNK2, WNK3, YES/YES1, ZAK/MLTK, ZAP70, ZIPK/DAPK3, KINASE, MUTANTS, ABL1(E255K), ABL1(F3171), ABL1(G250E), ABL1(H396P), ABL1(M351T), ABL1(Q252H), ABL1(T3151), ABL1(Y253F), ALK (C1156Y), ALK(L1196M), ALK (F1174L), ALK (R1275Q), BRAF(V599E), BTK(E41K), CHK2(I157T), c-Kit(A829P), c-KIT(D816H), c-KIT(D816V), c-Kit(D820E), c-Kit(N822K), C-Kit (T670I), c-Kit(V559D), c-Kit(V559D/V654A), c-Kit(V559D/T670I), C-Kit (V560G), c-KIT(V654A), C-MET(D1228H), C-MET(D1228N), C-MET(F1200I), c-MET(M1250T), C-MET(Y1230A), C-MET(Y1230C), C-MET(Y1230D), C-MET(Y1230H), c-Src(T341M), EGFR(G719C), EGFR(G719S), EGFR(L858R), EGFR(L861Q), EGFR(T790M), EGFR, (L858R,T790M), EGFR(d746-750/T790M), EGFR(d746-750), EGFR(d747-749/A750P), EGFR(d747-752/P753S), EGFR(d752-759), FGFR1(V561M), FGFR2(N549H), FGFR3(G697C), FGFR3(K650E), FGFR3(K650M), FGFR4(N535K), FGFR4(V550E), FGFR4(V550L), FLT3(D835Y), FLT3(ITD), JAK2 (V617F), LRRK2 (G2019S), LRRK2 (12020T), LRRK2 (R1441C), p38a(T106M), PDGFRa(D842V), PDGFRa(T674I), PDGFRa(V561D), RET(E762Q), RET(G691S), RET(M918T), RET(R749T), RET(R813Q), RET(V804L), RET(V804M), RET(Y791F), TIF2(R849W), TIF2(Y897S) y TIF2(Y1108F).

En otro aspecto de la invención, los compuestos objetos pueden ser administrados en combinación con uno o más agentes anticancerígenos dirigidos a diana que modulan dianas, trayectorias o procedimientos biológicos que no son de quinasas. Estas trayectorias o procedimientos diana incluyen, pero sin limitación, proteínas de choque por calor (por ejemplo, HSP90), poli-ADP (adenosinodisfosfato), ribosa polimerasa (PARP), factores inducibles por hipoxia (HIF), proteasoma, proteínas señalizadoras Wnt/Hedgehog/Notch, TNF-alfa, metaloproteína de matriz, farnesiltransferasa, trayectoria de apoptosis (por ejemplo, Bcl-xL, Bcl-2, Bcl-w), histona desacetilasa (HDAC), histona acetiltransferasa (HAT) y metiltransferasa (por ejemplo, histona lisina metiltransferasa, histona argina metiltransferasa, DNA metiltransferasa, etc.).

En otro aspecto de la invención, los compuestos de la invención son administrados en combinación con uno o más de otros agentes anticancerígenos que incluyen, pero sin limitación, terapias hormonales (por ejemplo, Tamoxifeno, Fulvestrant, Clomifeno, Anastrozol, Exemestano, Formestano, Letrozol, etc.), agente de interrupción vascular, terapia génica, terapia de cáncer de RNAi, agentes quimioprotectores (por ejemplo, amfostina, mesna, y dexrazoxano), conjugado de antibióticos (por ejemplo, brentuximab vedotin, ibritumomab tióxetano), inmunoterapia del cáncer como Interleucina-2, vacunas de cáncer (por ejemplo, sipuleucel-T) o anticuerpos monoclonales (por ejemplo, Bevacizumab, Alemtuzumab, Rituximab, Trastuzumab, etc.).

En otro aspecto de la invención, los compuestos objetos son administrados en combinación con una terapia o cirugía de radiación. La radiación es comúnmente suministrada por vía interna (implantación de material radioactivo cerca del sitio del cáncer) o externamente a partir de una máquina emplea radiación de fotones (rayos X o rayos gamma o

partículas). Cuando la terapia de combinación comprende adicionalmente un tratamiento de radiación, el tratamiento de radiación se puede realizar en cualquier momento adecuado en la medida en que se consiga un efecto beneficioso a partir de la acción conjunta de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento de radiación. Por ejemplo, en casos apropiados, el efecto beneficioso se consigue todavía cuando el tratamiento de radiación es temporalmente retirado de la administración de los agentes terapéuticos, quizás durante días o incluso semanas.

En ciertas realizaciones preferidas, los compuestos de la invención son administrados en combinación con uno o más de una terapia de radiación, cirugía o agentes anticancerígenos que incluyen, pero sin limitación, agentes de deterioro del ADN, antimetabolitos, inhibidores de topoisomerasa, agentes antimicrotúbulos, inhibidores de EGFR, inhibidores de HER2, inhibidores de VEGFR2, inhibidores de BRAF, inhibidores de Bcr-Abl, inhibidores de PDGFR, inhibidores de ALK, inhibidores de PLK, inhibidores de MET, agentes epigenéticos, inhibidores de HSP90, inhibidores de PARP, inhibidores de CHK, inhibidor de aromatasa, antagonistas de receptores de estrógenos, y anticuerpos que dirigen a diana VEGF, HER2, EGFR, LD50, CD20, CD30, CD33, etc.

En ciertas realizaciones preferidas, los compuestos de la invención son administrados en combinación con uno o más de abarelix, acetato de abiraterona, aldesleucina, alemtuzumab, alretamina, anastrozol, asparaginasa, bevacizumab, bexaroteno, bicalutamida, bleomicina, bortezomib, brentuximab vedotin, busulfan, capecitabina, carboplatino, carmustina, cetuximab, chlorambucilo, cisplatino, cladribina, clofarabina, clomifeno, crizotinib, ciclofosfamida, dasatinib, daunorubicina liposomal, decitabina, degarelix, denileucina diftotox, denileucina diftotox, denosumab, docetaxel, doxorubicina, doxorubicina liposomal, epirubicina, mesilato de eribulina, erlotinib, estramustina, fosfato de etopósido, everolimus, exemestano, fludarabina, fluorouracilo, fotemustina, fulvestrant, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab ozogamicina, acetato de goserelina, acetato de histrelin, hidroxiurea, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamida, mesilato de imatinib, interferón alfa 2a, ipilimumab, ixabepilona, ditosilato de lapatinib, lenalidomida, letrozol, leucovorina, acetato de leuprolide, levamisol, lomustina, mecloretamina, melfalano, metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, nelarabina, nilotinib, oxaliplatino, paclitaxel, partícula unida a proteína de paclitaxel, pamidronato, panitumumab, pegaspargasa, peginterferón alfa-2b, pemetrexed disodio, pentostatina, raloxifeno, rituximab, sorafenib, streptozocina, maleato de sunitinib, tamoxifeno, temsirolimus, tenipósido, talidomida, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, tretinoína, uramustina, vandetanib, vemurafenib, vinorelbina, zoledronato, terapia de radiaciones o cirugía.

Se puede usar una amplia diversidad de métodos de administración conjuntamente con los compuestos de la presente invención. Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados o coadministrados por vía oral, parenteral, intraperitoneal, intravenosa, intraarterial, transdermal, sublingual, intramuscular, rectal, transbucal, intranasal, liposomal, a través de inhalación, vaginal, intraocular, a través de suministro local (por ejemplo, mediante catéter o férula), subcutánea, intraadiposa, intraarticular o intratecal. Los compuestos según la invención pueden ser también administrados o coadministrados en formas de dosificación de liberación lenta. Los compuestos pueden estar en forma gaseosa, líquida, semilíquida o sólida, formulados de una manera adecuada para la vía de administración que va a ser usada. Para una administración oral, las formulaciones orales sólidas adecuadas incluyen comprimidos, cápsulas, píldoras, gránulos, comprimidos, bolsitas y productos efervescentes, polvos y similares. Las formulaciones orales líquidas adecuadas incluyen soluciones, suspensiones, dispersiones, emulsiones, aceites y similares. Para una administración parenteral, se usa normalmente una reconstitución en un polvo liofilizado. Pueden ser preferidos los comprimidos y la infusión intravenosa.

La invención proporciona adicionalmente compuestos para ser usados en métodos para la prevención o el tratamiento de una enfermedad neoplásica o enfermedad inmune. En una realización, la invención se refiere a compuestos para ser usados en un método para tratar una enfermedad neoplásica o enfermedad inmune en un sujeto que necesita el tratamiento que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. En una realización, la invención proporciona adicionalmente el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de un medicamento para detener o disminuir una enfermedad neoplásica o enfermedad inmune.

La enfermedad neoplásica incluye, pero sin limitación, cáncer de pulmón, cáncer de cráneo y cuello, cáncer del sistema nervioso central, cáncer de próstata, cáncer testicular, cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer del tracto biliar, cáncer de esófago, tumor estromalgastrointestinal, cáncer de mamas, cáncer del cuello uterino, cáncer de ovarios, cáncer de útero, leucemia, linfomas, mieloma múltiple, melanoma, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, cáncer de vejiga, cáncer renal, sarcoma, mesotelioma, timoma, síndrome mielodisplásico y enfermedad mieloproliferativa.

En ciertas realizaciones, la enfermedad neoplásica es un tumor sólido, los tumores sólidos tratables representativos incluyen melanoma, cáncer de mamas, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC), o cáncer de pulmón que no es de células pequeñas (NSCLC)), cáncer de colon, cáncer renal o sarcoma.

En ciertas realizaciones, el método puede incluir adicionalmente administrar un segundo agente terapéutico que se conoce que es eficaz para tratar el tumor sólido.

Por ejemplo, el segundo agente terapéutico eficaz conocido por ser eficaz para tratar cáncer de mamas incluye:

metotrexato (abirretrato, folex, folex PFS, metotrexato LPF, mexato-AQ), paclitaxel (taxol), formulación de nanopartículas de paclitaxel estabilizada con albúmina (abraxano), hidrocloreuro de doxorubicina (adriamicina, adriamicina PFS, adriamicina RDF), fluorouracilo (adrucil, efudex, fluoroplex), everolimus (afinitor), anastrozol (arimidex), exemestano (aromasina), capecitabina (xeloda), ciclofosfamida (clafen, citoxano, neosar), docetaxel (taxotere), hidrocloreuro de epirubicina (ellence), everolimus, toremifeno (fareston), fulvestrant (faslodex), latrozol (femara), hidrocloreuro de gemcitabina (gemzar), trastuzumab (herceptina), ixabepilona (ixempra), ditosilato de lapatinib, citrato de tamoxifeno (nolvadex, novaldex), pertuzumab (perjeta), toremifeno, ditosilato de lapatinib (tikerb), hidrocloreuro de doxorubicina y ciclofosfamida, hidrocloreuro de doxorubicina y ciclofosfamida y paclitaxel, hidrocloreuro de doxorubicina y ciclofosfamida y fluorouracil, ciclofosfamida y metotrexato y fluorouracilo, fluorouracilo y ciclofosfamida y hidrocloreuro de epirubicina.

El segundo agente terapéutico eficaz que se conoce que es eficaz para tratar cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC) incluye: metotrexato (abirretrato, folex, folex PFS, metotrexato LPF, mexato, mexato-AQ); etopósido (toposar, vepesid); fosfato de etopósido (etopofos); hidrocloreuro de topotecano (hicantina).

El segundo agente terapéutico eficaz que se conoce que es eficaz para tratar cáncer de pulmón que no es de células pequeñas (NSCLC) incluye: metotrexato (abirretrato, folex, folex PFS, metotrexato LPF, mexato, mexato-AQ); paclitaxel (taxol); formulación de nanopartículas de paclitaxel estabilizada con albúmina (abraxano); pemetrexed disodio (alimta); bevacizumab (avastina); carboplatino (paraplat, paraplatino); cisplatino (platinol, platinol-AQ); crizotinib (xalkori); hidrocloreuro de erlotinib; gefitinib (iresa); hidrocloreuro de gemcitabina (gemzar); pemetrexed disodio; hidrocloreuro de erlotinib (tarceva); carboplatino y paclitaxel; hidrocloreuro de gemcitabina y cisplatino.

Otro segundo agente terapéutico eficaz, distinto del tratamiento estándar que se conoce que es eficaz para tratar melanoma incluye: imiquimod (zyclara, aldar, beselna, R-837); interferon (terapia adyuvante después de cirugía); vacuna de Bacille Calmette-Guerin (BCG); interleucina-2; ipilimumab (yervoy); vemurafenib (Zelboraf); Dacarbazina (DTIC); Temozolomida (Temodar); interferon y temozolomida; interferon, interleucina-2 y temozolomida; o perfusión de extremidades aisladas (ILF, infundir las extremidades con una solución calentada de quimioterapia), dependiendo de las fases específicas del melanoma en el momento de diagnóstico.

El segundo agente terapéutico eficaz que se conoce que es eficaz para tratar cáncer de colon incluye: fluorouracilo (adrucil, efudex, fluoroplex); bevacizumab (avastina); hidrocloreuro de irinotecano (camptosar); capecitabina (xeloda); cetuximab (erbitux); oxaliplatino (eloxatina); leucovorina calcio; panitumumab (vectibix); regorafenib (estivarga); leucovorina calcio (wellcovorina); ziv-aflibercept (zaltrap); leucovorina calcio y fluorouracilo e hidrocloreuro de irinotecano; leucovorina calcio y fluorouracilo e hidrocloreuro de irinotecano +bevacizumab, leucovorina calcio (ácido folínico) y fluorouracilo y oxaliplatino, capecitabina y oxaliplatino.

El segundo agente terapéutico eficaz que se conoce que es eficaz para tratar cáncer renal incluye: fluorouracilo (adrucil, efudex, fluoroplex); bevacizumab (avastina); hidrocloreuro de irinotecano (camptosar); cetuximab (erbitux); panitumumab (vectibix); regorafenib (estivarga); ziv-aflibercept (zaltrap); capecitabina y oxaliplatino; leucovorina calcio (ácido folínico) y fluorouracilo e hidrocloreuro de irinotecano; leucovorina calcio y fluorouracilo e hidrocloreuro de irinotecano +bevacizumab, leucovorina calcio (ácido folínico) y fluorouracilo y oxaliplatino.

Las combinaciones preferidas de compuestos de la invención, especialmente en combinación con CY-102 o una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable de los mismos incluyen combinaciones con:

Inhibidores de proteasomas (por ejemplo, bortezomib, carfilzomib).

IMiDs (por ejemplo, talidomida, lenalidomida, pomalidomida).

Agentes de platino (por ejemplo, cisplatino, carboplatino).

Antagonistas de folato (por ejemplo, pemetrexed, pralatrexato).

Anticuerpos y conjugados CD30 (por ejemplo, brentuximab, vendotina).

Anticuerpos (también conjugados) para tratar enfermedades malignas como anti CD20 (por ejemplo, ofatumumab, rituximab, GA101, etc.).

Antagonistas de receptores de células B (por ejemplo, ibrutinib).

Antagonistas de PI3K (por ejemplo, GS1101 o IPI145).

Inhibidores de BTK.

Taxanos (por ejemplo, taxol, paclitaxel).

Anticuerpos (también conjugados) para tratar cáncer de ovarios (por ejemplo, mabs receptores alfa-folato, anticuerpos CA125).

- Anticuerpos para tratar mieloma multiple (por ejemplo, elotuzumab, mabs anti CD38).
- Antraciclinas (por ejemplo, doxorubicina, idarubicina).
- Análogos de nucleósidos (antagonistas de purina) como citarabina, fludarabina, gemcitabina.
- Antagonistas de PNP (por ejemplo, forodesina).
- 5 Bloqueadores de tiroxinaquinasa Bcr-abl (por ejemplo, imatinib, dasatinib, ponatinib, nilotinib).
- Antagonistas de mTor (por ejemplo, temsirolimus, everolimus).
- Agentes que influyen la activación de CD40 (por ejemplo, antagonistas de CD40, medicinas génicas de CD40).
- Antagonistas de multi-tirosinaquinasa (por ejemplo, sorafenib, axitinib).
- 10 Anticuerpos bifuncionales (por ejemplo, CD19/CD3, también conjugados, también que reconoce otros epitopos de CD).
- Las combinaciones preferidas de compuestos de la invención, especialmente en combinación con CY-102 o una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable de los mismos incluyen combinaciones con uno o más, como uno, dos o tres de los agentes terapéuticos anteriormente identificados.
- 15 Las combinaciones especialmente preferidas de compuestos de la invención incluyen combinaciones de CY-102 p una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo y forodesina, opcionalmente en combinación con uno o más, como uno, dos o tres de los agentes terapéuticos anteriormente identificados.
- Las combinaciones de compuestos de la invención incluyen combinaciones de CY-102 o una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo y forodesina, opcionalmente en combinación con uno o más, como uno, dos o tres de los agentes terapéuticos anteriormente identificados.
- 20 El tratamiento anterior puede ser de forma conjunta con otros tratamientos como cirugía, terapia de radiaciones, terapia láser o trasplante de células madre.
- En un aspecto adicional, la presente invención se dirige a combinaciones de uno o más compuestos de la invención con uno o más agentes terapéuticos adicionales. En un aspecto adicional, la presente invención se dirige a combinaciones de uno o más compuestos de la invención con uno o más agentes terapéuticos adicionales para su uso como un medicamento y, en particular, para su uso en el tratamiento de las enfermedades descritas en la presente memoria descriptiva. En un aspecto adicional, la presente invención se dirige al uso de combinaciones de uno o más compuestos de la invención con uno o más agentes terapéuticos adicionales en el tratamiento de las enfermedades descritas en la presente memoria descriptiva. En realizaciones preferidas de todos los aspectos de la invención, la enfermedad que va a ser tratada es CLL.
- 25
- 30 En un aspecto adicional, la presente exposición se dirige a un estuche de ensayo que comprende (a) una primera composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la presente invención y (b) una segunda composición farmacéutica que comprende uno o más agentes terapéuticos adicionales como se definen en la presente memoria descriptiva. En un aspecto adicional, la presente exposición se dirige a un estuche de ensayo que comprende (a) una primera composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la presente invención y (b) una segunda composición farmacéutica que comprende uno o más agentes terapéuticos adicionales como se definen en la presente memoria descriptiva para ser usados como un medicamento y, en particular, para su uso en el tratamiento de enfermedades expuestas en la presente memoria descriptiva. En un aspecto adicional, la presente exposición se dirige a un estuche de ensayo que comprende (a) una primera composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la presente invención y (b) una segunda composición farmacéutica que comprende uno o más agentes terapéuticos adicionales como se definen en la presente memoria descriptiva en el tratamiento de enfermedades expuestas en la presente memoria descriptiva. En realizaciones preferidas de todos los aspectos de la invención, la enfermedad que va a ser tratada es CLL.
- 35
- 40
- 45 En un aspecto adicional, la presente invención se dirige a un producto que contiene un compuesto de fórmula (I) como se define en la presente memoria descriptiva, o un tautómero del mismo o una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o tautómero y uno o más de otros agentes terapéuticos como se definen en la presente memoria descriptiva, como una preparación combinada para un uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de una enfermedad neoplásica o una enfermedad inmune.
- Es bien conocido que la inmunosupresión es uno de los principales efectos secundarios de muchos productos quimioterapéuticos convencionales. Por ejemplo, a una dosis baja, la ciclofosfamida puede ser usada para tratar enfermedades inmunes como esclerosis múltiple, artritis reumatoide y la supresión de rechazos de trasplantes (Emadi A, et al, Nat Rev Clin Oncol. 2009 November; 6(11):638-47; Perini P, et al. Neurol Sci. 2008 September; 29 Suppl 2:S233-4) y es también ampliamente usada en regímenes de "acondicionamiento" y "movilización" de trasplante de médula ósea, y para el tratamiento de estados autoinmunes graves refractarios como lupus sistémico,
- 50

eritematoso (SLE), enfermedad con cambios mínimos, artritis reumatoide grave, granulomatosis de Wegener (con marca registrada Cytoxan), escleroderma y esclerosis múltiple (con marca registrada Revimmune). Además, la HDAC ha surgido recientemente como una diana prometedora para tratar enfermedades inmunes [Szyf M. Clin Rev Allergy Immunol. 2010 August; 39(1):62-77]. Los compuestos de la presente invención por lo tanto pueden ser usadas para el tratamiento de una enfermedad inmune.

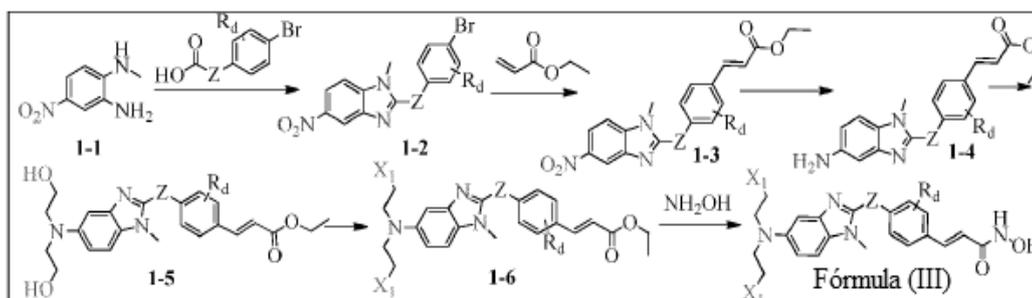
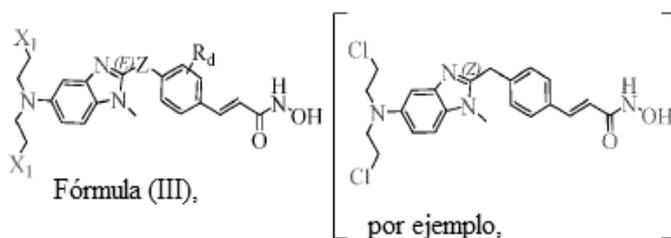
En una realización preferida, la enfermedad inmune se selecciona entre el grupo que consiste en rechazo de órganos o tejidos transplantados, una enfermedad de hospedante frente a injerto, una enfermedad inflamatoria no autoinmune y una enfermedad autoinmune, en que dicha enfermedad autoinmune se selecciona entre el grupo que consiste en encefalomielitis diseminada aguda, enfermedad Addison, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, enfermedad de oído interno autoinmune, penfigoide bulloso, enfermedad celíaca, enfermedad de Chagas, enfermedad de obstrucción pulmonar crónica, síndrome Churg-Strauss, dermatomiositis, enfermedad de Crohn, diabetes Mellitus tipo I, endometriosis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Hashimoto, hidradenitis supurativa, púrpura trombocitopénica idiopática, cistitis intersticial, lupus eritematosos, morfea, esclerosis múltiple, miastenia grave, narcolepsia, neuromiotonia, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, polimiositis, cirrosis biliar primaria, psoriasis, artritis psoriática, artritis reumatoide, esquizofrenia, escleroderma, arteritis temporal, vasculitis, vitíligo y granulomatosis de Wegener.

Debe entenderse que la invención no está limitada a las realizaciones particulares mostradas y descritas en la presente memoria descriptiva, siendo definida la invención únicamente por las reivindicaciones.

#### Métodos sintéticos generales

Los compuestos según la presente invención pueden ser sintetizados según una diversidad de esquemas de reacción. Los materiales de partida necesarios pueden ser obtenidos mediante procedimientos estándar de química orgánica. Los compuestos y procedimientos de la presente invención se comprenderán mejor en relación con los siguientes esquemas sintéticos representativos y ejemplos, que están previstos como una ilustración solamente y no como una limitación del alcance de la invención. Diversos cambios y modificaciones para las realizaciones expuestas serán evidentes para los expertos en la técnica y estos cambios y modificaciones que incluyen, sin limitación, los relativos a las estructuras químicas, sustituyentes, derivados y/o métodos de la invención se pueden hacer sin apartarse de las características generales de la invención y el alcance de las reivindicaciones anejas.

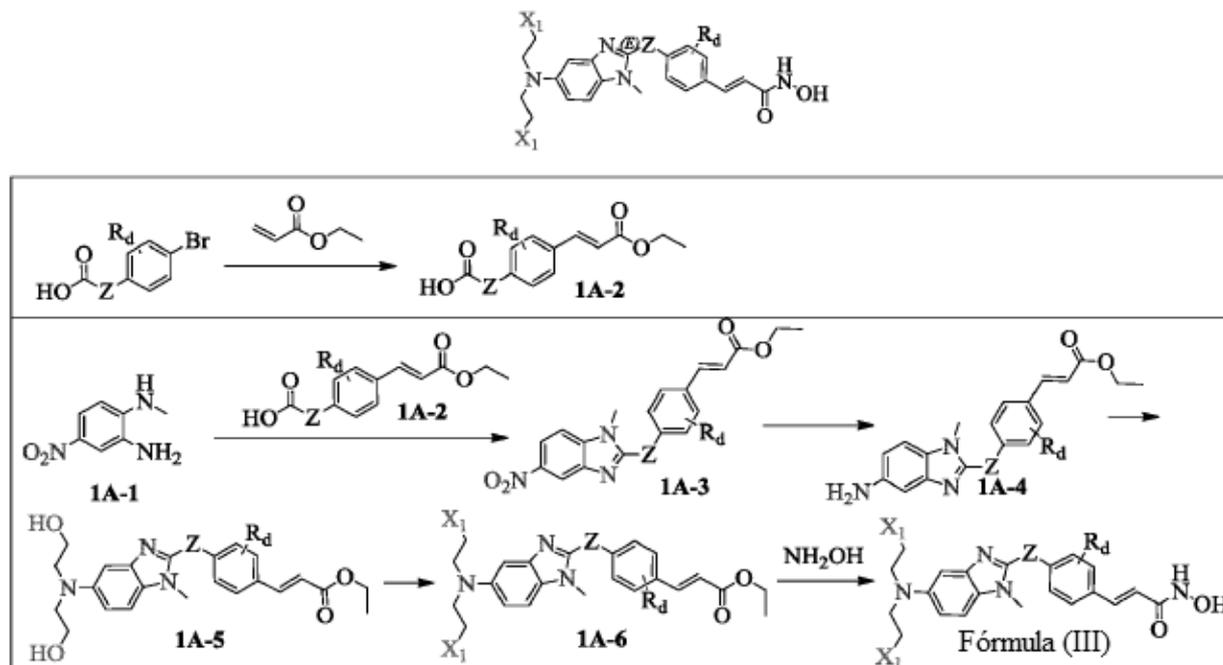
Una propuesta típica usando  $Z = (CH_2)_p$  como un ejemplo para ilustrar la síntesis de los compuestos de fórmula (III) se describe en el esquema 1.  $X_1$  y  $R_d$  en el esquema general 1 son iguales que los descritos en la sección de sumario que antecede.



El material 1-1 disponible en el comercio (n° de CAS: 41939-61-1) puede reaccionar con un ácido carboxílico apropiado para formar el intermedio 1-2 de benzimidazol, que puede reaccionar con acrilato de metilo mediante un acoplamiento catalizado por Pd para suministrar el intermedio 1-3 de cinamato. El intermedio (1-3) puede ser posteriormente reducido, por ejemplo,  $H_2$ , Pd/C, hasta un intermedio (1-4) sustituido con amino, que puede reaccionar con el oxirano para suministrar fácilmente el intermedio (1-5). Después de eso, el intermedio 1-5 puede ser convertido en el intermedio (1-6) con un rendimiento elevado mediante reacción con un reactivo de cloración

como cloruro de tionilo o pentacloruro de fósforo. Finalmente, la hidroxilaminación del intermedio (1-6) en  $\text{NH}_2\text{OH}$  puede suministrar los compuestos dianas.

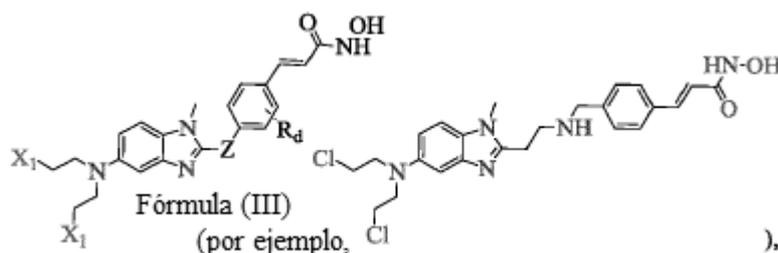
Alternativamente, los compuestos de fórmula (III) se pueden sintetizar según el esquema general 1A.  $X_1$  y  $R_d$  en el esquema general 1A son iguales que los descritos en la sección de sumario que antecede.

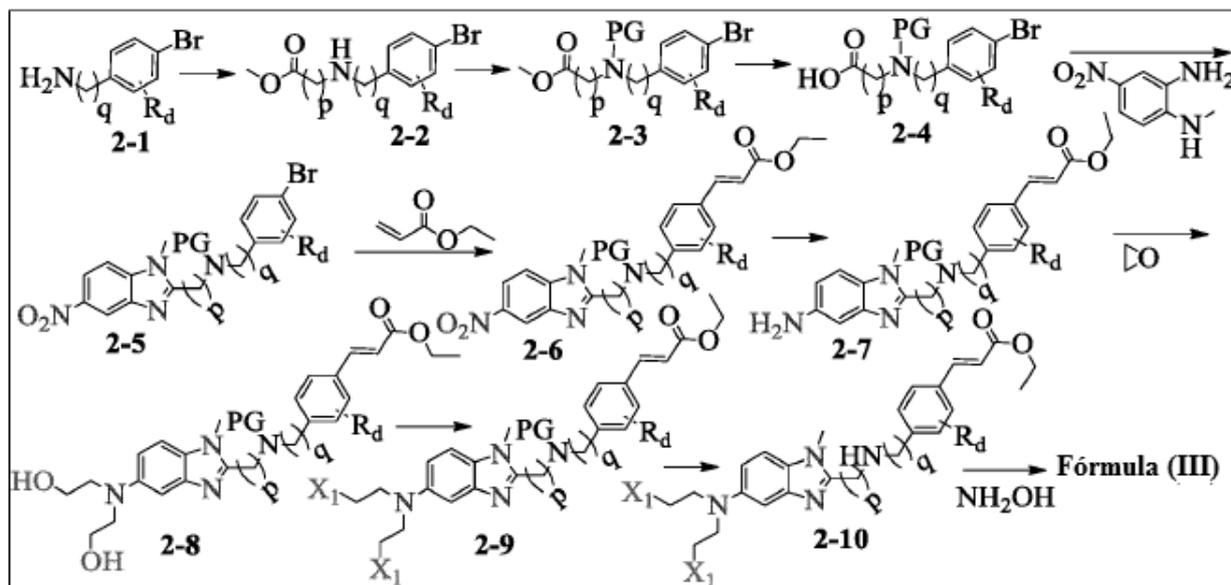


Esquema 1A

5 El compuesto 1A-2 puede ser preparado mediante reacciones orgánicas estándar. Después de que el material de partida 1A-1 disponible en el comercio (n° CAS: 41939-61-1) puede reacción con 1A-2 para formar el intermedio 1A-3 de benzimidazol, puede ser posteriormente reducido, por ejemplo, con  $\text{H}_2$ , Pd/C, hasta un intermedio (1A-4) sustituido con amino, que puede reaccionar con oxirano para suministrar fácilmente el intermedio (1A-5). Después de eso, el intermedio 1A-5 puede ser convertido intermedio (1A-6) con un rendimiento elevado mediante reacción con un reactivo de cloración como cloruro de tionilo o pentacloruro de fósforo. Finalmente, la hidroxilaminación del intermedio (1A-6) en  $\text{NH}_2\text{OH}$  puede suministrar los compuestos dianas.

15 Análogamente, en el esquema 2 se describe una propuesta típica usando Z que es  $(\text{CH}_2)_p\text{NH}(\text{CH}_2)_q$  como un ejemplo para ilustrar la síntesis de los compuestos de fórmula (III) en.  $X_1$  y  $R_d$  en el esquema 2 son iguales a como se describieron en la sección de sumario que antecede.



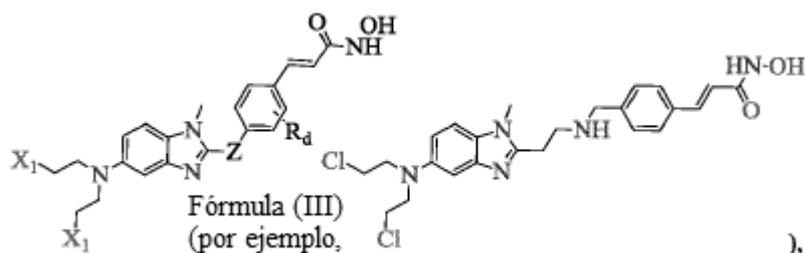


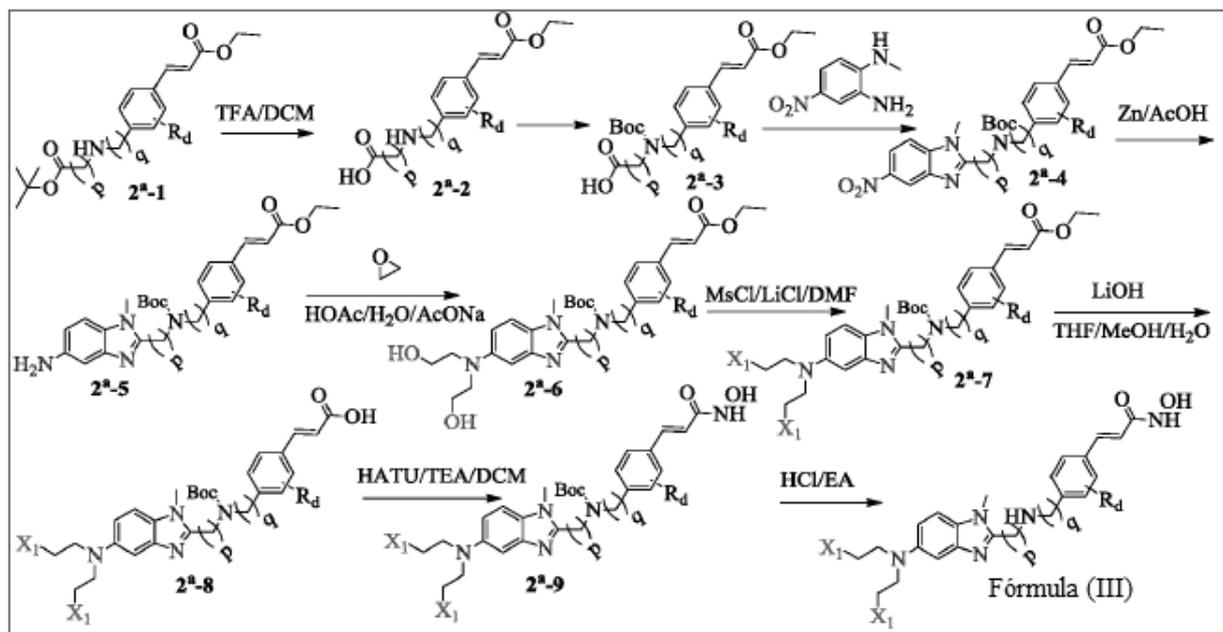
Esquema 2

El material de partida 2-1 puede ser convertido en 2-2 mediante reacciones orgánicas estándar. La amina secundaria de intermedio (2-2) puede ser protegida mediante un grupo protector (-PG) como Boc para proporcionar el intermedio (2-3), que experimenta una hidrólisis para proporcionar el intermedio de ácido carboxílico 2-4. Después de eso, se puede hacer reaccionar 2-4 con N<sup>1</sup>-metil-4-nitrobenzo-1,2-diamina para formar el intermedio 2-5 de benzimidazol, que puede reaccionar con acrilato de metilo mediante un acoplamiento catalizado por Pd para suministrar el intermedio 2-6 de cinamato. El intermedio 2-6 puede ser posteriormente reducido, por ejemplo con Fe/NH<sub>4</sub>Cl, Fe/HCl o Zn/FeSO<sub>4</sub> hasta un intermedio (2-7), sustituido con amina, que puede reaccionar con oxirano para suministrar fácilmente el intermedio (2-8). Posteriormente el 2-8 puede ser convertido en intermedio (2-9) con un rendimiento elevado mediante reacción de con un reactivo de cloración como cloruro de tionilo o pentacloruro de fósforo. La desprotección del intermedio (2-9) suministra el intermedio 2-10. Finalmente, la hidroxilaminación de 2-10 en NH<sub>2</sub>OH puede suministrar los compuestos diana de fórmula (III).

Alternativamente, los compuestos de fórmula (III) pueden ser sintetizados según el esquema 2<sup>a</sup>. X<sub>1</sub> y R<sub>d</sub> en el esquema general 2<sup>a</sup> son iguales a los descritos en la sección de sumario que antecede.

15

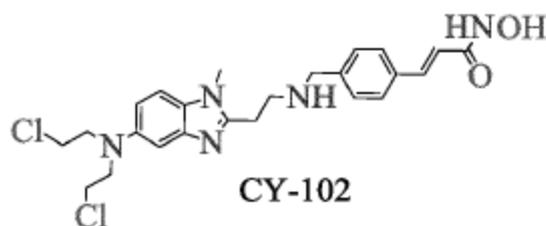




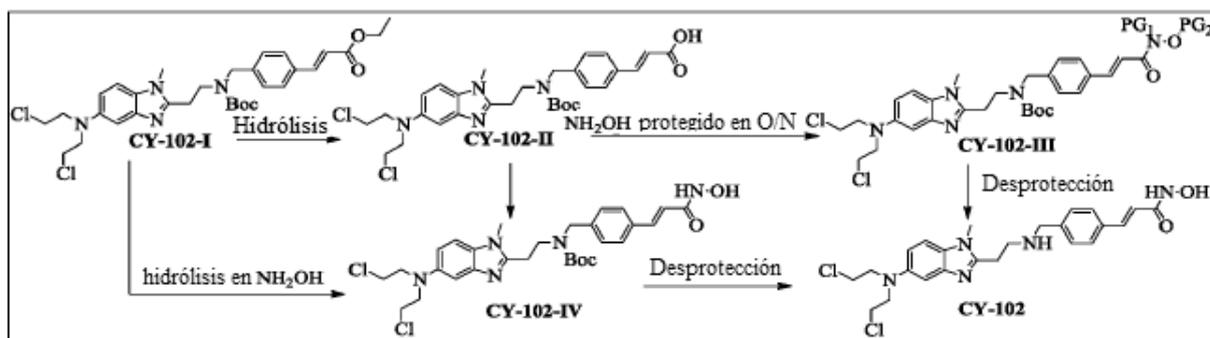
Esquema 2ª

El material de partida 2ª-1 con diferentes valores de p y q puede ser preparado mediante reacciones orgánicas estándar. Después de eso, 2ª-1 puede ser convertido en el intermedio 2ª-2 de ácido carboxílico con TFA. La amina secundaria del intermedio 2ª-2 puede ser protegida mediante un grupo protector como Boc para proporcionar el intermedio (2ª-3), que puede reaccionar N<sup>1</sup>-metil-4-nitrobenzo-1,2-diamina para formar el intermedio (2ª-4) de bencimidazol. Seguidamente, el intermedio 2ª-4 puede ser posteriormente reducido, por ejemplo con Zn/AcOH, Fe/NH<sub>4</sub>Cl, Fe/HCl o Zn/FeSO<sub>4</sub>, hasta un intermedio (2ª-5), sustituido con amino, que puede reaccionar con oxirano para suministrar fácilmente el intermedio (2ª-6) de alcohol. Después de eso el 2ª-6 puede ser convertido en el intermedio (2ª-7) con un rendimiento elevado mediante reacción con un reactivo de cloración como cloruro de tionilo MsCl/LiCl o pentacloruro de fósforo. La hidrólisis del éster 2ª-7, por ejemplo, en LiOH, suministrará el intermedio 2ª-8 de ácido carboxílico, que se puede acoplar con NH<sub>2</sub>OH para formar el intermedio 2ª-9 de ácido hidroxámico. Finalmente, la desprotección de 2ª-9 suministra los compuestos diana de fórmula (III).

Como un ejemplo adicional, las diversas propuestas diferentes para sintetizar CY-102 se describen en el siguiente esquema 2A:



15



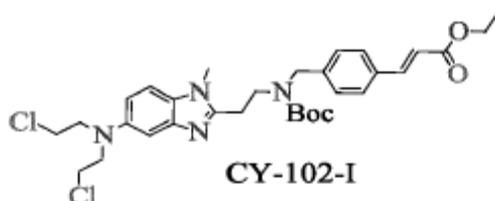
Esquema 2A

Como se muestra en el esquema 2A, CY-102-IV puede ser preparado haciendo reaccionar CY-102-I con hidroxilamina, en presencia de una base como, por ejemplo, hidróxido de potasio. Dicha reacción se realiza en un disolvente apropiado como, por ejemplo, metanol. Finalmente, el des-Boc de CY-102-V conducirá a CY-102.

Otra vía mostrada en el esquema 2A para la preparación de CY-102 es como sigue: en primer lugar, la hidrólisis de CY-102-I, por ejemplo, en LiOH o HCl para suministrar el intermedio CY-102-II de ácido carboxílico; seguidamente, CY-102-II puede ser acoplado con  $\text{NH}_2\text{OH}$  en presencia de reactivos apropiados como HATU/TEA/DCM para formar CY-102-IV o puede ser convertido en CY-102-IV mediante el método recogido en la publicación Tetrahedron Letters, 41, (2000), 6285-6288; finalmente, el des-Boc de CY-102-IV conducirá a CY-102.

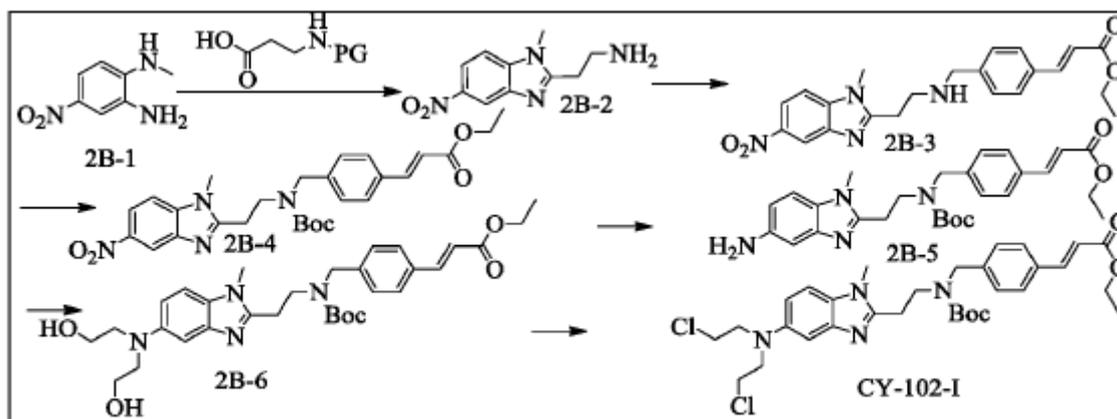
Una vía alternativa para preparar CY-102 es hidrolizar en primer lugar CY-102-I, por ejemplo, en LiOH o HCl para suministrar el intermedio CY-102-II de ácido carboxílico, que puede ser acoplado con hidroxilamina o N- protegida como  $\text{NH}_2\text{-O-THP}$ ,  $\text{NH}_2\text{-O-Bn}$ ,  $\text{N-t-Boc-O-THP}$ ,  $\text{N-t-Boc-O-TBDMS}$ ,  $\text{N,O-bis-(fenoxicarbonil)-hidroxilamina}$ ,  $\text{N,O-bis(terc-butoxicarbonil)hidroxilamine}$  y  $\text{N,N,O-tris-(trimetilsilil)-hidroxilamina}$  para formar el intermedio CY-102-III. Por ejemplo, CY-102-II puede ser acoplado con  $\text{NH}_2\text{-O-THP}$  en presencia de reactivos apropiados como  $\text{N}^1$ -(etilcarbonimidoil)- $\text{N,N-dimetil-1,3-propanodiamina}$ , monohidrocloruro (EDC) y 1-hidroxi-1H-benzotriazol (HOBT), para formar el intermedio CY-102-III. Esta reacción se puede realizar en presencia de una base como trietilamina, en un disolvente adecuado como una mezcla de diclorometano y tetrahidrofurano. Finalmente puede ser preparado CY-102 desprotegiendo CY-102-III con reactivos apropiados como, por ejemplo, ácido trifluoroacético. Dicha reacción se realiza en el disolvente apropiado como, por ejemplo, metanol o diclorometano.

Las propuestas para sintetizar el intermedio CY-102-I



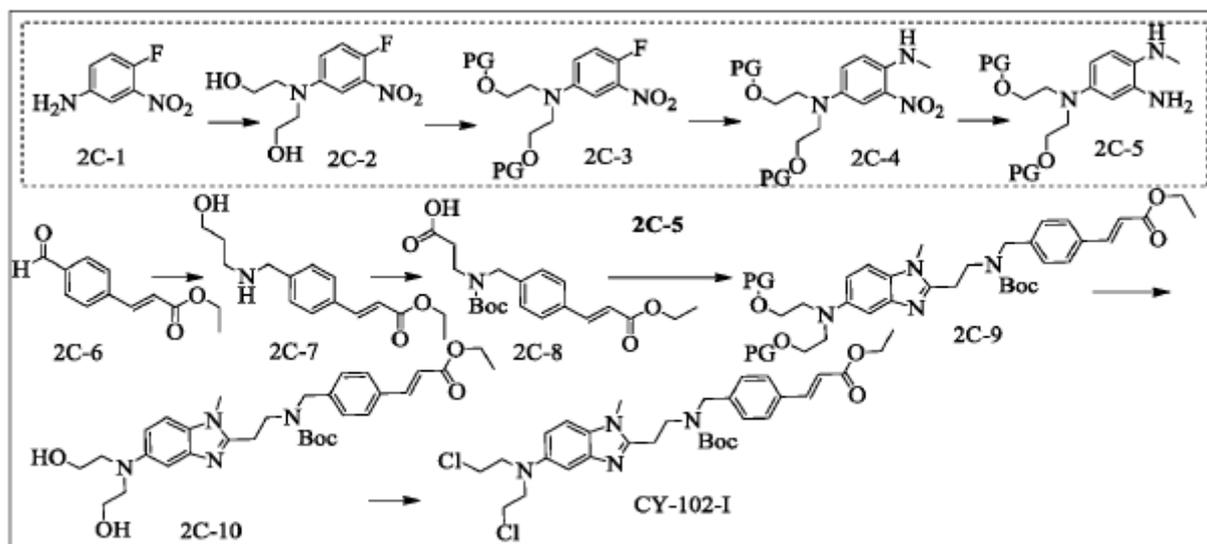
20

se describen en el esquema 2B-2C.



El material de partida 2B-1 disponible en el comercio (n° CAS: 41939-61-1) reacciona con ácido 3-aminopropanoico protegido con amina mediante un procedimiento de desprotección para formar el intermedio 2B-2 de bencimidazol, que reacciona con (E)-3-(4-formilfenil)acrilato de metilo para suministrar el intermedio 2B-3 de cinamato. La amina secundaria del intermedio (2B-3) puede ser protegida mediante un grupo protector (-PG) como Boc para producir intermedio (2B-4), que puede ser posteriormente reducido, por ejemplo, por medio de  $\text{Fe}/\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{Fe}/\text{HCl}$  o  $\text{Zn}/\text{FeSO}_4$  a un intermedio (2B-5) sustituido con amina. El intermedio 2B-5 puede reaccionar con oxirano para suministrar fácilmente el intermedio (2B-6) que puede ser convertido en el intermedio (CY-102-I) con un rendimiento elevado mediante reacción con un reactivo de cloración como cloruro de tionilo o pentacloruro de fósforo.

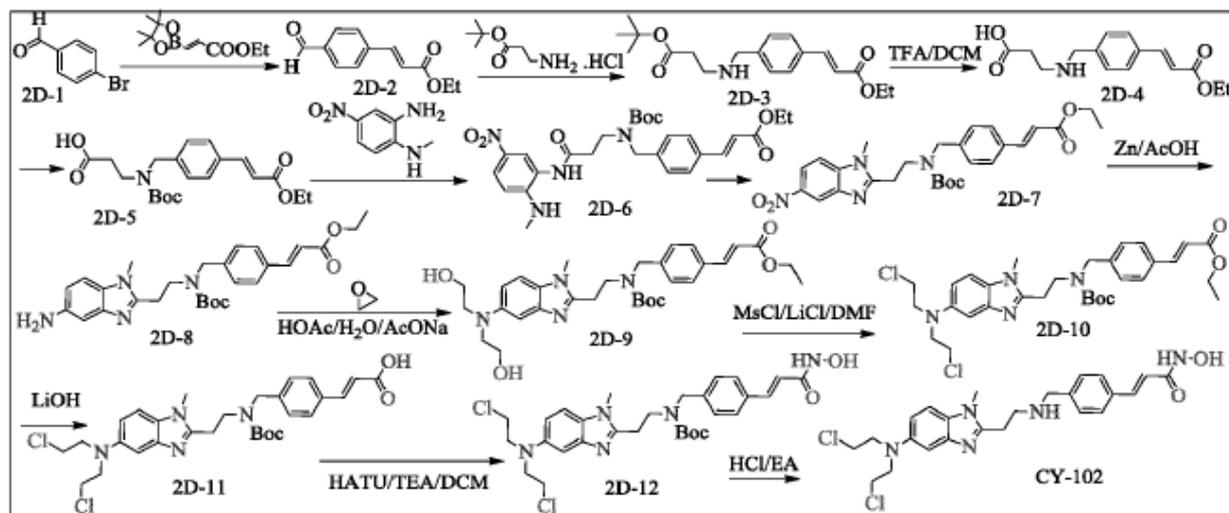
30



Esquema 2C

El material de partida 2C-1 (n° CAS: 364-76-1) disponible en el comercio puede reaccionar con oxirano para suministrar fácilmente el intermedio 2C-2. El grupo OH del intermedio (2C-2) puede ser protegido por medio de un grupo protector (–PG) para formar el intermedio (2C-3). Después de eso, 2C-3 puede reaccionar con  $\text{NH}_2\text{CH}_3$  para suministrar el intervalo 2C-4, que puede ser reducido, por ejemplo, mediante  $\text{Fe}/\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{Fe}/\text{HCl}$  o  $\text{Zn}/\text{FeSO}_4$  a un intermedio (2C-5) sustituido con amino. Al mismo tiempo, el material de partida 2C-6 disponible en el comercio puede ser convertido en el intermedio 2C-7 y seguidamente el 2C-8 protegido con Boc mediante reacciones orgánicas estándar, que reaccionará con 2C-5 para formar el intermedio 2C-9 de bencimidazol. Seguidamente, el grupo OH de 2C-9 experimentará la reacción de desprotección para producir el intermedio 2C-10, que puede ser posteriormente convertido en CY-102-I con un rendimiento elevado mediante reacción con un reactivo de cloración como cloruro de tionilo o pentacloruro de fósforo.

El método preferido para preparar CY-102 se muestra en el esquema 2D.



Esquema 2D

El material de partida 2D-1 disponible en el comercio (4-bromobenzaldehído) es convertido en el intermedio cinámico 2D-2. Después de que 2D-2 puede reaccionar con 3-aminopropanoato de terc-butilo para formar 2D-3, que puede ser convertido en 2D-4 intermedio de ácido carboxílico con un reactivo apropiado como, por ejemplo, ácido trifluoroacético. La protección con Boc de la amina 2D-4 conducirá al intermedio 2D-5, que reaccionará con N1-metil-4-nitrobenzo-1,2-diamina (n° CAS: 41939-61-1) para formar el intermedio 2D-6 seguido de una reacción de ciclación para formar el intermedio 2D-7 de bencimidazol. El intermedio 2D-7 puede ser reducido, por ejemplo, por medio de  $\text{Zn}/\text{AcOH}$ ,  $\text{Fe}/\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{Fe}/\text{HCl}$  o  $\text{Zn}/\text{FeSO}_4$ , a un intermedio (2D-8) sustituido con amino, que puede reaccionar con oxirano para suministrar fácilmente 2D-9. El 2D-9 puede ser convertido en el intermedio 2D-10 con un rendimiento elevado mediante reacción con un reactivo de cloración como cloruro de tionilo,  $\text{MsCl}/\text{LiCl}$  o

pentacloruro de fósforo. La hidrólisis de 2D-10, por ejemplo, en LiOH suministrará el intermedio 2D-11 de ácido carboxílico, que se puede acoplar con NH<sub>2</sub>OH en presencia de reactivos acopladores apropiados como HATU/TEA/DCM para formar el intermedio 2D-12. Finalmente, el des-Boc de 2D-12 conducirá a la molécula diana de CY-102.

## 5 Ejemplos

La invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

Quando se presentan los datos RMN, los espectros de <sup>1</sup>H se obtuvieron con un dispositivo Varian VXR-200 (200 MHz, <sup>1</sup>H), Varian Gemini-300 (300 MHz) o XL400 (400 MHz) y se expresan ppm por debajo del campo de Me<sub>4</sub>Si con número de protones, multiplicidades y constantes de acoplamiento en hercios indicadas entre paréntesis. Cuando se presentan datos de HPLC, se realizaron análisis usando un sistema Agilent 1100. Cuando se presentan datos de LC/MS, los análisis se realizaron usando un dispositivo Agilent 6210 TOF LC/MS o un espectrómetro de masas Applied Biosystems API-100 y una columna Shimadzu SCL-10A LC: Altech platinum C18, 3 micrómetros, 33 mm×7 mm ID; las muestras fueron eluidas usando un gradiente lineal de 0-100% de acetonitrilo/pH 4,50, acetato de NH<sub>4</sub> 200 mM durante 10 minutos a un caudal de 3,0 ml/minuto. Se generaron cromatogramas sobre el intervalo de 240-400 nm usando un detector de red de diodos.

En los ejemplos que siguen:

DCM = diclorometano

Boc = terc-butiloxicarbonilo

HATU = hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio

20 TEA = trietanolamina

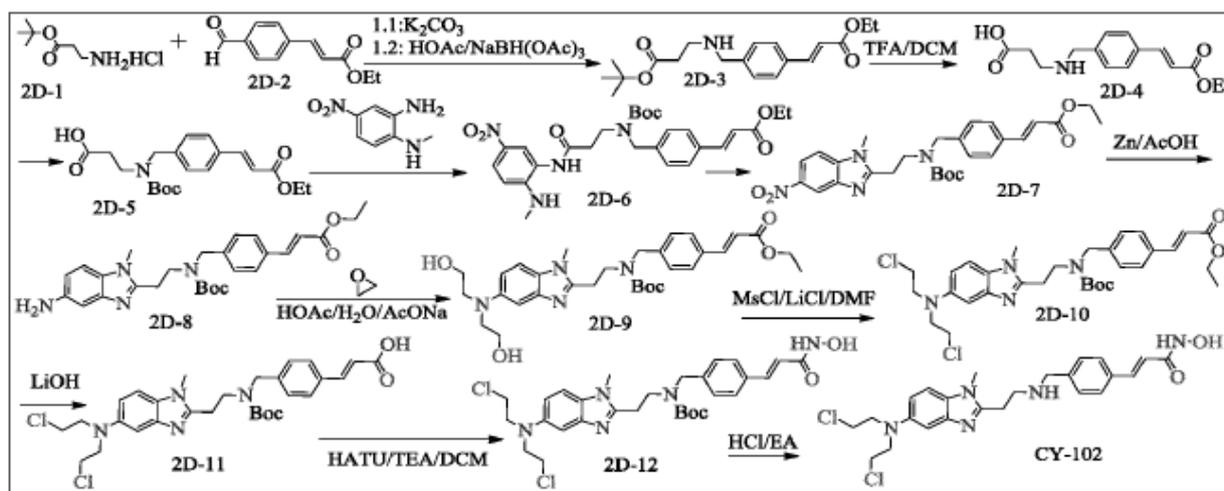
MsCl = cloruro de metanosulfonilo

DMF = fluoruro de dimetilo

TF = tetrahidrofurano

EA = acetato de etilo

25 Ejemplo 1: Preparación de CY-102



Esquema 2D

1.1: Procedimiento general para la preparación de 2D-3: Una mezcla de 2D-1 (5,8 g, 31,8 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (13,2 g, 95,6 mmol) en 1,2-dicloroetano (150 ml) se agitó durante 20 minutos y se filtró. Al filtrado se añadió 2D-2 (5 g, 24,51 mmol) y se seguidamente se añadió por partes NaBH(OAc)<sub>3</sub> (6,24 g, 29,4 mmol). La mezcla resultante se agitó a t.a. durante una noche. La mezcla se inactivó con agua y se extrajo con DCM. Las fases orgánicas se secaron y se concentraron. El residuo se recristalizó mediante DCM para proporcionar el producto 2D-3 (4,0 g, rendimiento 49,2%) en forma de un sólido blanco. Análisis HMNR: <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,67 (d, J=16,04 Hz, 1H), 7,49 (d, J=7,43 Hz, 2H), 7,35 (d, J=7,43 Hz, 2H), 6,42 (d, J=16,04 Hz, 1H), 4,27 (q, J=6,91 Hz, 2H), 3,84 (s, 3H), 2,87 (t, J=5,87 Hz, 3H), 2,48 (t, J=6,06 Hz, 3H), 1,44 (s, 11H), 1,34 (t, J=7,04 Hz, 3H).

- 1.2: Procedimiento general para la preparación de 2D-4: A una suspensión de 2D-3 (25,0 g, 75,1 mmol) en DCM (300 ml) se añadió TFA (30 ml) y la mezcla se agitó a t.a. durante una noche. La mezcla se concentró, el residuo se disolvió en DCM, se ajustó a pH= 7 con solución de NaOH y la mezcla se concentró. El residuo se disolvió en DCM y MeOH, seguidamente se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar producto 2D-4 en bruto (20,0 g, rendimiento 96,2%). Análisis HRMN:  $^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1,23 (t, J=7,04 Hz, 3H), 2,67 (t, J=7,43 Hz, 2H), 3,01-3,12 (m, 2H), 4,16 (d, J=7,04 Hz, 4H), 6,67 (d, J=16,04 Hz, 1H), 7,53 (d, J=7,83 Hz, 2H), 7,63 (d, J=16,04 Hz, 1H), 7,77 (d, J=8,22Hz, 2H), 9,13 (s ancho, 2H).
- 1.3: Procedimiento general para la preparación de 2D-5: Una mezcla de 2D-4 (20 g, 72,2 mmol) y Boc<sub>2</sub>O (31,5 g, 144,4 mmol) en 1,4-dioxano (250 ml) se calentó a reflujo durante 5 h. La mezcla se concentró y el residuo se purificó mediante columna rápida para proporcionar 2D-5 (2,1 g, rendimiento 81,2%) en forma de un sólido blanco.  $^1\text{H}$  RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1,33 (t, J=7,24 Hz, 3H), 1,46 (s ancho, 9H), 2,60 (s ancho, 2H), 3,48 (s ancho, 2H), 4,26 (q, J=7,17 Hz, 2H), 4,47 (br. s., 2H), 6,41 (d, J=16,04 Hz, 1H), 7,23 (d, J=6,26 Hz, 2H), 7,48 (d, J=8,22Hz, 2H), 7,66 (d, J=16,04 Hz, 1H).
- 1.4: Procedimiento general para la preparación de 2D-6: A una mezcla de compuesto N<sup>1</sup>-metil-4-nitrobenzo-1,2-diamina (41 g, 0,11 mol) y TEA (20,4 g, 0,2 mol) en DCM (1.000 ml) se añadió HATU (45,7 g, 0,12 mol) y 2D-5 (16,1 g, 0,11 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se vertió en agua y se lavó con agua tres veces. La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para proporcionar 2D-6 (50 g), en forma de un aceite rojo, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.  $^1\text{H}$ RMN de 2D-6: 1,44 (s, 9H) 1,33 (m, 3H) 2,67 (t, J=6 Hz, 2H) 2,92 (s, 3H) 3,18 (m, 2H) 3,61 (t, J=5,6, 2H) 4,26 (q, J=7,2Hz, 2H) 4,48 (s, 2H) 6,41 (d, J=16, Hz, 1H) 6,57 (d, J=9,2 Hz, 1H) 7,23 (d, J=7,6, 2H) 7,49 (d, J=8 Hz, 2H) 7,65 (d, J=16, Hz, 1H) 7,98-8,11 (m, 2H).
- 1.5: Procedimiento general para la preparación de 2D-7: Una mezcla de compuesto 2D-6 (45 g, en bruto) en tolueno y ácido acético (500 ml) se agitó a 100 °C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar 2D-7 (50 g), en forma de un aceite rojo, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. Análisis  $^1\text{H}$ RMN de 2D-7: 1,27 (t, 3H) 1,33 (s ancho, 9H) 3,05-3,18 (m, 4H) 3,50-3,76 (m, 5H) 4,20 (m, 2H) 4,39 (s., 2H) 6,31 (dd, J=16,04, 2,35 Hz, 1H) 7,15-7,34 (m, 5H) 7,48-7,60 (dd, J=16, 3,2Hz, 1H) 8,13 (d, J=4,4 Hz, 1H) 8,52 (s, 1H)
- 1.6: Procedimiento general para la preparación de 2D-8: A una mezcla de compuesto 2D-7 (50 g, en bruto) y AcOH (20 ml) en DCM (1.000 ml) se añadió Zn (15 g, 0,23 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se filtró, el filtrado se concentró para proporcionar el producto en bruto (80 g) en forma de un aceite rojo que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. Análisis  $^1\text{H}$ RMN de 2D-8: 1,39-1,50 (m, 9H) 3,11 (q, J=7,30 Hz, 3H) 3,38 (s ancho, 2H) 3,67 (d, J=11,74 Hz, 3H) 4,22-4,38 (m, 4H) 6,36 (d, J=16,04 Hz, 1H) 6,74 (d, J=8,61 Hz, 1H) 6,99-7,20 (m, 3H) 7,22 (s, 1H) 7,33 (d, J=6,65 Hz, 2H) 7,56 (d, J=16,04 Hz, 1H).
- 1.7: Procedimiento general para la preparación de 2D-9: Una mezcla de compuesto 2D-8 (80 g, en bruto) y óxido de etileno (80 ml) en agua (1.000 ml) y ácido acético (20 ml) se agitó a 23° C durante 5 h. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar 2D-9 (63 g), en forma de un aceite rojo, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.  $^1\text{H}$ RMN (MeOD 400 MHz): 1,30 (m, 12H) 3,22 (s ancho, 2H) 3,50 (d, J=4,8, 3H) 3,563 (q, 1H) 3,67 (m, 10H) 4,23 (q, 2H) 6,43 (d, 2H) 6,38 (d, J=16, 1H) 6,91 (d, J=8,4, 2H) 7,22 (t, 2H) 7,29 (d, 2H) 7,33 (d, J=8 Hz, 2H) 7,44 (q, 2H) 7,60 (t, 1H).
- 1.8: Procedimiento general para la preparación 2D-10: A una mezcla de compuesto 2D-9 (70 g, en bruto) y TEA (20,4 g, 0,2 mol) en DCM (1.000 ml) se añadió MsCl (13,74 g, 0,12 mol) a 0° C y la mezcla de reacción se agitó a 20° C durante 1 h. La mezcla de reacción se vertió en agua, y se lavó con agua tres. La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y concentró para proporcionar el producto en bruto (100 g). El producto en bruto se disolvió en DMF (500 ml) y LiCl (16,8 g, 0,4 mol) y la mezcla resultante se agitó a 100° C durante 2 h. La mezcla se concentró y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice para proporcionar 2D-10 (18 g).  $^1\text{H}$ RMN (DMSO 400 MHz): 1,25 (m, 12H) 3,03 (br. s., 2H) 3,51 (m, 2H) 3,58-3,69 (m, 10H) 4,17 (q, J=7,6 Hz, 2H) 4,45 (br. s., 2H) 6,58 (d, J=16 Hz, 1H) 6,8 (t, 1H) 6,9 (s ancho, 1H) 7,25 (d, J=8, 1H) 7,33 (d, J=9,2, 1H) 7,60 (d, J=16, 1H) 7,66 (d, J=7,2, 2H).
- 1.9: Procedimiento general para la preparación de 2D-11: Una mezcla de compuesto 2D-10 (36 g, 59,6 mmol) y LiOH H<sub>2</sub>O (3,78 g, 88 mmol) en una mezcla de THF y agua (600 ml) se agitó a 23° C durante 5 h. La mezcla de reacción se acidificó con HCl (1M) a pH =7 y la mezcla se filtró. El sólido se recogió para proporcionar 2D-11 (20 g, rendimiento: 59%), en forma de un sólido blanco, que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.
- 1.10: Procedimiento general para la preparación de 2D-12: A una mezcla de 2D-11 (16,4 g, 28,52 mmol) y TEA (15,0 g, 0,147 mol) en DCM (500 ml) se añadió HATU (16,8 g, 44 mmol) y NH<sub>2</sub>OH-HCl (5,16 g, 73,7 mmol) sucesivamente a 20 °C. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 5 h. La mezcla se vertió en agua, se diluyó con DCM, y se lavó con agua tres veces. La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para proporcionar el producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparatoria para proporcionar 2D-12 (7 g, rendimiento: 42%) en forma de un sólido blanco.

1.11: Procedimiento general para la preparación CY-102: Una mezcla de compuesto 2D-12 (7 g, 11,86 mmol) y HCl/EA (50 ml) en DCM (100 ml) se agitó a 23 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar CY-102 (5,875 g, rendimiento: 95%) en forma de un polvo amarillo. <sup>1</sup>HRMN (MeOD 400 MHz): 3,73 (m, 8H) 3,87 (m, 4H) 4,04 (s, 3H) 4,38 (s, 2H) 6,50 (d, J=16 Hz, 1H) 6,88 (d, J=2Hz, 1H) 7,18 (dd, J=9,2, 2Hz, 1H) 7,50 (d, J=16 Hz, 1H) 7,68 (m, 5H). m/z (MH<+>) es 490.

Ejemplo 2. Inhibición de la actividad enzimática de histona desacetilasa

Se usó el siguiente protocolo de ensayo para valorar la actividad inhibidora de los compuestos de la invención frente a las enzimas HDAC (ensayo de extracto nuclear Hela):

- Tampón: HEPES 25 mM, pH 8,0, NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM
- Sustrato: sustrato de fluor-de-Lys (Biomol, n° Cat. KI-104) en una solución madre 50 mM en DMSO.
- Solución madre de enzima: 4 mg/ml de enzima en tampón.

Para comenzar el ensayo, los compuestos (2 µl en DMSO diluidos hasta 13 µl en tampón para transferir a la placa de ensayo) son preincubados con enzima (20 µl de solución madre a 4 µg/ml) durante 10 minutos a temperatura ambiente en volumen de preincubación de 35 µl. La reacción se comienza llevando la temperatura a 37 °C y añadiendo 15 µl de sustrato. El volumen total de la reacción es de 50 µl. La reacción se detiene después de 20 minutos añadiendo 50 µl de revelador, preparado según las directrices de Biomol (revelador fluor-de-Lys, n° Cat. KI-105). La placa de ensayo se incuba en la oscuridad durante 10 minutos a temperatura ambiente antes de la lectura (λ<sub>Ex</sub>=360 nm, λ<sub>Em</sub>=470 nm, filtro de corte a 435 nm). Los inhibidores de HDAC SAHA y TSA se usan como compuestos de referencia. Estos ensayos, llevados a cabo con un intervalo de dosis de los compuestos de ensayo, permiten la determinación de un valor aproximado de IC<sub>50</sub>.

Como un ejemplo, la siguiente tabla muestra los resultados obtenidos para CY-102 y Bendamustina. En el ensayo de HDAC (extracto nuclear), el CY-102 es aproximadamente 10 veces más potente que el inhibidor de HDAC SAHA aprobado por la entidad FDA.

Bendamustina		CY-102		
HDAC	CY-102	SAHA	Trihostatina A	Bendamustina
IC <sub>50</sub> (Extracto nuclear)	3,5 nM	26,4 nM	2,1 nM	N/A*
*Sin actividad de HDAC hasta la concentración más elevada de 10 µM				

Ejemplo 3. Estudio de registro molecular

Se usó una modelación por ordenador con el programa MOE (Chemical Computer Group, Canadá) para valorar la interacción entre CY-102 y HDAC8. El resultado (no mostrado) indica que el CY-102 se une estrechamente a HDAC8 en su centro catalítico, lo que es congruente con los datos existentes que muestran que el CY-102 es un fuerte inhibidor de HDAC.

Ejemplo 4. Solubilidad en agua

Para medir la solubilidad en agua, a aproximadamente 10 mg de una muestra un cilindro graduado de 10 ml tapado con un tubo, se añadieron volúmenes crecientes de agua destilada a temperatura ambiente según las etapas mostradas en la tabla siguiente:

Solubilidad en agua	Etapas 1	Etapas 2	Etapas 3	Etapas 4	Etapas 5
Volumen total de H <sub>2</sub> O añadido (ml)	1	2	4	5	10
Solubilidad aproximada (mg/ml)	10	5	2,5	2	1

Después de cada adición de agua para proporcionar el volumen total indicado, la mezcla se centrifugó o se sonicó durante 1 minuto y se inspeccionó visualmente en cuanto a cualesquiera partes no disueltas de la muestra. Si después de que se haya añadido un total de 10 ml de agua (etapa 5), la muestra o partes de la misma permanece sin disolver, el contenido del cilindro medidor se transfirió a un cilindro medidor de 100 ml que seguidamente se relleno con agua hasta 100 ml (20 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml) y se agitó. La solubilidad aproximada se proporcionó en la tabla bajo el volumen de agua añadida en el que se produce la disolución completa de la muestra. Si la sustancia era todavía aparentemente insoluble, se emprendió una dilución adicional para determinar si se debería usar la elución de la columna o el método de solubilidad en un matraz.

Usando el método anteriormente descrito, se determinó la solubilidad en agua de CY-102 que era de más de aproximadamente 20 mg/ml, que era al menos aproximadamente 200 veces más soluble en agua que NL-101.

#### Ejemplo 5. Ensayo de antiproliferación *in vitro* general

El ensayo de antiproliferación celular se realiza usando el sistema de ensayo de luminiscencia PerkinElmer ATPlite®. Brevemente, las diversas líneas celulares cancerígenas se disponen en placas a una densidad de aproximadamente  $1 \times 10^4$  células por pocillo en placas de 96 pocillos Costar y se incuban con diferentes concentraciones de compuestos durante aproximadamente 72 horas en medio complementado con FBS al 5%. Seguidamente se reconstituye un vial de solución de sustrato liofilizado añadiendo 5 ml de solución tamponante de sustrato y se agitó suavemente hasta que la solución se hizo homogénea. Se añaden aproximadamente 50 µl de solución de lisis celular de mamífero a 100 µl de suspensión celular por pocillo de una microplaca, y la placa seguidamente se agita durante aproximadamente cinco minutos en un centrifugador orbital a ~700 rpm. Este procedimiento se usa para lisar las células y estabilizar el ATP. Seguidamente, se añaden 50 µl de solución de sustrato a los pocillos y la microplaca se agita durante 5 minutos en un centrifugador orbital a ~700 rpm. Finalmente, se mide la luminiscencia en un contador de centelleo de microplacas PerkinElmer TopCount®. Estos ensayos, llevados a cabo con una gama de dosis de compuestos del ensayo, permiten la determinación de la IC<sub>50</sub> antiproliferativa celular de los compuestos de la presente invención.

#### Ejemplo 6. Ensayo *in vitro*: selección de línea celular de tumor humano NCI-60 DTP a 10 µM

Se enviaron NL-101 y CY-102 a la entidad U.S. National Cancer Institute (NCI) para una selección de líneas celulares NCI-60 usando una única dosis de compuesto (100 µM).

Las líneas celulares de tumores humanos del panel de selección de cáncer se hicieron crecer en medio RPMI 1640 que contenía 5% de suero bovino fetal (5% FBS) y L-glutamina 2 mM. Para un experimento de selección típica, las células fueron inoculadas en placas de microtitulación de 96 pocillos en 100 µl, a densidades de placa que variaban en el intervalo de 5.000 a 40.000 células/pocillo dependiendo del tiempo de duplicación de las líneas celulares individuales. Después de la inoculación celular, las placas de microtitulación fueron incubadas a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, 95% de aire y 100% de humedad relativa durante 24 h antes de la adición de compuestos experimentales. Después de 24 h, se fijaron dos placas de cada línea celular *in situ* con mol, para representar una medición de la población celular para cada línea celular en el momento de la adición del fármaco (Tz). Los fármacos experimentales se solubilizaron en dimetil-sulfóxido a 400 veces la concentración de ensayo máxima final deseada y se almacenaron congelados antes de su uso. En el momento de la adición de fármaco, una parte alícuota de concentrado congelado se descongeló y se diluyó hasta dos veces la concentración de ensayo máxima final deseada con medio completo que contenía 50 µg/ml de gentamicina. Se añadieron partes alícuotas de 100 µl de diluciones de fármaco diferentes a los pocillos de microtitulación apropiados que ya contenían 100 µl de medio, dando lugar a las concentraciones de fármacos finales requeridas.

A continuación de la adición del fármaco, las placas se incubaron durante 48 horas adicionales a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, 95% de aire y 100% de humedad relativa. Para células adherentes, el ensayo se determinó mediante la adición de TCA frío. Seguidamente las células se fijaron *in situ* mediante la adición suave de 50 µl de TCA al 50% (p/v) frío (concentración final, 10% de TCA) y se incubaron durante 60 minutos a 4 °C. La materia sobrenadante se desechó y las placas se lavaron cinco veces con agua corriente y se secaron con aire. Se añadió solución de sulfurohodamina B (SRB) (100 µl) a 0,4% (p/v) en ácido acético al 1% a cada pocillo y las placas se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después de teñir, se separó el colorante no unido lavando cinco veces con ácido acético al 1% y las placas se secaron en aire. La mancha unida posteriormente se solubilizó con base trizma 10 mM y la absorbancia se leyó en un lector de placas automatizado a una longitud de onda de 515 nm. Para las células en suspensión, la metodología fue la misma con la excepción de que el ensayo se terminó fijando las células

## ES 2 645 271 T3

sedimentadas en el fondo de los pocillos añadiendo suavemente 50 µl de TCA al 80% (concentración final, 16% de TCA).

5 Usando las siete mediciones de la absorbancia [tiempo cero, (Tz), crecimiento testigo, (C) y crecimiento del ensayo en presencia de un fármaco a los niveles de concentración 10 µM (Ti)], se calculó el porcentaje de crecimiento de cada uno de los niveles de concentración de fármaco. La inhibición del porcentaje de crecimiento se calculó como:  $[(Ti-Tz)/(C-Tz)] \times 100$  para lo cual  $Ti \geq Tz$  o  $[(Ti-Tz)/Tz] \times 100$  para lo cual  $Ti < Tz$ .

Los resultados de los ensayos para CY-102 y NL-101 se resumen en la tabla siguiente.

Panel de células	Línea celular	% crecimiento en NL-101	% crecimiento en CY-102
Leucemia	HL-60(TB)	18,98	-10,34
Leucemia	K-562	31,63	1,07
Leucemia	MOLT-4	18,01	2,17
Leucemia	CCRF-CEM	17,16	
Leucemia	RPMI-8226	49,23	2,28
Leucemia	SR	29,62	0,09
NSCLC	A549/ATCC	43,54	-32,69
NSCLC	EKVX	92,48	
NSCLC	HOP-62	13,56	-30,02
NSCLC	HOP-92	22,07	-35,89
NSCLC	NCI-H226	60,27	-20,77
NSCLC	NCI-H23	30,14	-6,76
NSCLC	NCI-H322M	75,30	-15,30
NSCLC	NCI-H460	25,56	2,61
NSCLC	NCI-H522	-5,90	
Cáncer de colon	COLO 205	54,36	-81,34
Cáncer de colon	HCC-2998	86,98	-80,55
Cáncer de colon	HCT-116	23,73	-1,84
Cáncer de colon	HCT-15	76,48	9,96
Cáncer de colon	HT29	37,10	-50,67
Cáncer de colon	KM12	65,79	-78,14
Cáncer de colon	SW-620	30,40	2,33
Cáncer CNS (Glioma)	SF-268	10,27	-31,46
Cáncer CNS (Glioma)	SF-295	43,95	-53,87
Cáncer CNS (Glioma)	SF-539	23,72	
Cáncer CNS (Glioma)	SNB-19	55,62	-10,81
Cáncer CNS (Glioma)	SNB-75	19,79	-48,45
Cáncer CNS (Glioma)	U251	35,03	-39,66
Melanoma	LOX IMVI	-23,43	-26,41

ES 2 645 271 T3

Panel de células	Línea celular	% crecimiento en NL-101	% crecimiento en CY-102
Melanoma	MALME-3M	28,59	-64,17
Melanoma	M14	39,93	-76,75
Melanoma	MDA-MB-435	49,07	-73,24
Melanoma	SK-MEL-2	37,31	-21,36
Melanoma	SK-MEL-28	59,32	-21,36
Melanoma	SK-MEL-5	-6,55	-79,31
Melanoma	UACC-257	33,75	-36,39
Melanoma	UACC-62	12,99	-69,24
Cáncer de ovarios	IGROV1	55,99	-14,43
Cáncer de ovarios	OVCAR-3	50,40	-55,02
Cáncer de ovarios	OVCAR-4	68,52	-19,00
Cáncer de ovarios	OVCAR-5	66,28	-3,75
Cáncer de ovarios	OVCAR-8	32,65	-26,88
Cáncer de ovarios	NCI/ADR-RES	77,80	17,78
Cáncer de ovarios	SK-OV-3	34,40	-41,53
Cáncer renal	786-0	19,82	-30,40
Cáncer renal	A498	49,70	-81,56
Cáncer renal	ACHN	14,30	-19,97
Cáncer renal	CAKI-1	27,64	-25,49
Cáncer renal	RXF 393	5,95	-35,55
Cáncer renal	SN12C	17,91	-1,53
Cáncer renal	TK-10	48,48	-28,81
Cáncer renal	UO-31	63,69	-9,19
Cáncer de próstata	PC-3	51,40	-1,86
Cáncer de próstata	DU-145	18,47	-16,06
Cáncer de mamas	MCF7	37,24	-15,28
Cáncer de mamas	MDA-MB-231	72,24	-35,33
Cáncer de mamas	HS 578T	24,01	8,17
Cáncer de mamas	BT-549	79,21	-33,26
Cáncer de mamas	T-47D	-16,57	-27,48
Cáncer de mamas	MDA-MB-468	-34,68	-21,52
	Mediana	36,35	-28,5

Los resultados muestran que, cuando se ensayaron NL-101 y CY-102 junto con una única dosis de aproximadamente 100  $\mu$ M en líneas celulares cancerígenas de leucemia, mieloma múltiple, cáncer de pulmón que

no es de células pequeñas (NSCLC), cáncer de mamas, melanoma, cáncer de ovarios, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer de CNS (sistema nervioso central) y cáncer renal, el porcentaje de crecimiento medio de NL-101 en las 60 líneas celulares cancerígenas es de 36%. Por el contrario, el porcentaje de crecimiento medio de CY-102 es -28%. Basándose en estos datos, la IC<sub>50</sub> celular media de CY-102 en las 60 líneas celulares cancerígenas se espera que sea al menos 10 veces más potente que la IC<sub>50</sub> de NL-101, que como media es de aproximadamente 2 µM.

De forma más destacada, se encontró que CY-102 es particularmente potente en diversas líneas celulares de tumores sólidos, como cáncer de mamas (por ejemplo, MCF7, MDA-MB-231, BT-549, T-47D, MDA-MB-468), cáncer de colon, por ejemplo, COLO 205, HCC-2998, HT29, SW-620), renal (por ejemplo, A498), y, particularmente, en melanoma (por ejemplo, MALME-3M, M14, MDA-MB-435, SK-MEL-5, UACC-62), sugiriendo que CY-102 puede tener amplias aplicaciones en el tratamiento de tumores sólidos. Por otra parte, NL-101 parece ser más eficaz contra cánceres hematológicos como leucemia, linfoma y mieloma múltiple.

#### Ejemplo 7. Ensayo hERG *in vitro*

El ensayo hERG (gen relacionado con éter-a-go-go) se usó para valorar los efectos cardiotoxicos de candidatos a fármacos, CY-102. Los resultados (no mostrados) demuestran que el CY-102 tiene una cardiotoxicidad muy inferior (aproximadamente 5-10 veces menos) en comparación con NL-101.

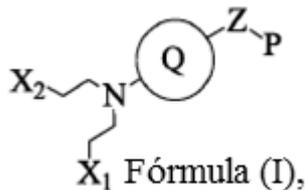
#### Ejemplo 8. Estudios de xenoinjertos *in vivo*

En comparación con NL-101, CY-102 es mucho más potente en un ensayo antiproliferativo celular *in vitro* (aproximadamente 10 veces más potente, véase lo que antecede), muestra mucha menos cardiotoxicidad *in vitro* en el ensayo hERG (aproximadamente 5-10 veces menos, véase lo que antecede) y es significativamente más soluble (>200 veces) en agua (véase lo que antecede). Por tanto, el CY-102 se selecciona para estudios *in vivo* en modelos de xenoinjertos de cáncer de mama (MBA-MD-231, MX-1), SCLC (H69, H526), sarcoma (HT-1080, SJSA-1), melanoma (MDA-MB-435, SK-MEL-5) y NSCLC (H1975, HCC827, H3255, PC-9).

Se obtienen ratones desprovistos de sistema inmune atímicos (CD-1 *nu/nu*) o ratones SCID de 6-8 semanas de edad de proveedores y se aclimatan durante un periodo mínimo de 7 días. Seguidamente se implantan las células cancerígenas en el ratón desprovisto de sistema inmune. Dependiendo del tipo de tumor específico, los tumores son normalmente detectables aproximadamente dos semanas después de la implantación. Cuando los tamaños de los tumores alcanzan ~100-200 mm<sup>3</sup>, los animales con tamaño y forma de tumor apreciable se asignan al azar en grupos de 8 ratones cada uno, que incluyen un grupo testigo vehículo y grupos de tratamiento. La dosificación varía dependiendo de la finalidad y la duración de cada estudio, que normalmente tiene lugar durante aproximadamente 3-4 semanas. Los tamaños de los tumores y el peso corporal se miden normalmente tres veces por semana. Además de la determinación de los cambios de tamaños de los tumores, la última medición tumoral se usa para generar la relación de cambio del tamaño del tumor (valor de T/C), una unidad de medición estándar desarrollada por la entidad National Cancer Institute para la evaluación de tumores de xenoinjertos. En la mayoría de los casos, los valores de % T/C se calculan usando la siguiente fórmula: % T/C = 100 × ΔT/ΔC si ΔT > 0. Cuando se produce la regresión tumoral (ΔT < 0), sin embargo, se usa la siguiente fórmula % T/T0 = 100 × ΔT/T0. Los valores <42% se consideran significativos.

## REIVINDICACIONES

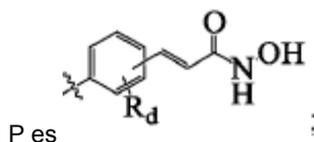
1. Un compuesto de fórmula (I) o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto de fórmula (I) o N-óxido del mismo:



5 en la cual

Z es  $(CR_aR_b)_pN(R_a)(CR_aR_b)_q$ ;

$X_1$  y  $X_2$  se seleccionan cada uno independientemente entre halo y  $OSO_2R_c$ ;



10 Q es bencimidazolilo, que está opcionalmente sustituido con alquilo, alquenoilo, alquinilo, cicloalquilo, halo, nitro, oxo, ciano o  $OR_e$ ;

$R_a$ ,  $R_b$ ,  $R_d$  y  $R_e$  se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo, alquenoilo y alquinilo;

$R_c$  se selecciona entre alquilo, alquenoilo y alquinilo; y

p y q se seleccionan cada uno independientemente entre 0, 1, 2, 3 y 4; y en donde los grupos alquilo contienen 1-10 átomos de carbono;

15 los grupos alquenoilo o alquinilo contienen 2-10 átomos de carbono y

los grupos cicloalquilo contienen de 3 a 12 átomos de carbono.

2. Un compuesto según la reivindicación 1 o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que p es 1 y q 2; o p es 2 y q es 1; o p es 0 y q es 3; o p es 3 y q es 0, o p y q son ambos 2.

20 3. Un compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que Z es  $(CH_2)_pNH(CH_2)_q$ .

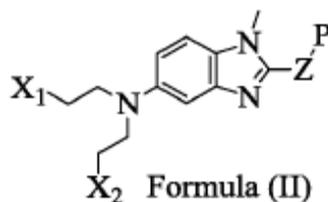
4. Un compuesto según la reivindicación 3 o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que Z es  $(CH_2)_2NH(CH_2)$ .

25 5. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que  $X_1$  y  $X_2$  se seleccionan cada uno independiente entre cloro, bromo y yodo.

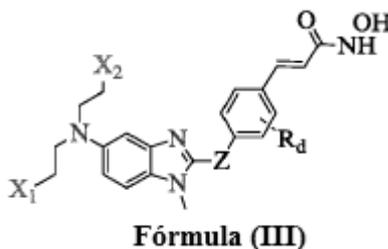
6. Un compuesto según la reivindicación 5 o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que  $X_1$  y  $X_2$  son ambos cloro.

30 7. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que Q es bencimidazolilo sustituido con uno o más grupos alquilo.

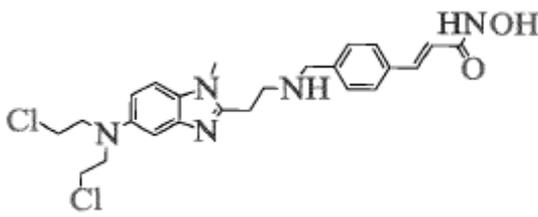
8. Un compuesto según la reivindicación 7, o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable del mismo, en que el compuesto de fórmula (I) está representado por la fórmula (II):



9. Un compuesto según la reivindicación 8, o un N-óxido del mismo, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable del mismo, en que el compuesto de fórmula (I) está representado por la fórmula (III):



5 10. Un compuesto según la reivindicación 9, que es



o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. Un compuesto según la reivindicación 10, que es la sal de hidrocloreuro o solvato o polimorfo del mismo.

10 12. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de fórmula (I) o un N-óxido del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto de fórmula (I) o N-óxido del mismo, y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 13. Una combinación, que comprende un compuesto de fórmula (I) o un N-óxido del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente de dicho compuesto de fórmula (I) o N-óxido del mismo, junto con uno o más de otros agentes terapéuticos.

14. Una combinación según la reivindicación 13, en la que el uno o más de otros agentes terapéuticos se seleccionan entre:

20 inhibidores de proteasoma, IMiDs, agentes de platino, antagonistas de folato, anticuerpos y conjugados CD30, anticuerpos (también conjugados) para tratar enfermedades malignas hematológicas, antagonistas de receptores de células B, antagonistas de PI3K, inhibidores de BTK, taxanos,

anticuerpos (también conjugados) para tratar cáncer de ovarios, anticuerpos para tratar mieloma múltiple, antraciclinas, análogos de nucleósidos (antagonistas de purina), antagonistas de PNP, bloqueadores de tirosinoquinasa Bcr-abl, antagonistas de mTor, agentes que influyen la activación de CD40, multi-antagonistas de tirosina quinasa y anticuerpos bifuncionales.

25 15. Una combinación según cualquiera de las reivindicaciones 13 ó 14, en la que el uno o más de otros agentes terapéuticos se seleccionan entre:

30 bortezomib, carfilzomib, talidomida, lenalidomida, pomalidomida, cisplatino, carboplatino, pemetrexed, pralatrexato, brentuximab, vendotina, anticuerpos antio-CD20, ofatumumab, rituximab, GA101, ibrutinib, GS1101, IPI145, taxol, paclitaxel, receptor mabs de alfa-folato, anticuerpos CA125, elotuzumab, mabs anti-CD38, doxorubicina, idarubicina, citarabina, fludarabina, gemcitabina, forodesina, imatinib, dasatinib, ponatinib, nilotinib, temsirolimus, everolimus, antagonistas de CD40, medicinas de gen CD40, sorafenib, axitinib y CD/CD3 también conjugados.

16. Un compuesto de fórmula (I) o un N-óxido del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1

a 11, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto de fórmula (I) o N-óxido del mismo, o una combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, para ser usados como un medicamento.

5 17. Un compuesto de fórmula (I) o un N-óxido del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto de fórmula (I) o N-óxido del mismo, o una combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, para ser usados como un medicamento para tratar una enfermedad neoplásica o una enfermedad inmune.

18. Un compuesto o combinación para ser usados según la reivindicación 17, en que la enfermedad neoplásica es un tumor sólido.

10 19. Un compuesto o combinación para ser usados según la reivindicación 18, en que el tumor sólido es melanoma, cáncer de mamas, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer renal o sarcoma.

15 20. Un producto que contiene un compuesto de fórmula (I) o un N-óxido del mismo, como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal, solvato, polimorfo o tautómero farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto de fórmula (I) o N-óxido del mismo, y uno o más de otros agentes terapéuticos como se definen en cualquiera de la reivindicación 14 o reivindicación 15, como una preparación combinada para un uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de una enfermedad neoplásica o una enfermedad inmune.