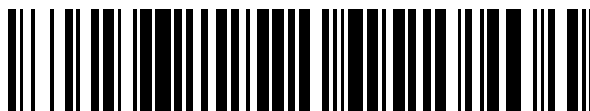


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 748 590**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.12.2012 PCT/US2012/070155**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.06.2013 WO13090912**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2012 E 12806846 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.07.2019 EP 2791142**

54 Título: **Compuestos y métodos para la prevención y el tratamiento de metástasis tumoral y tumorigénesis**

30 Prioridad:

16.12.2011 US 201161576780 P

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

17.03.2020

73 Titular/es:

**THE U.S.A. AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (33.3%)
Office of Technology Transfer, National Institutes of Health, 6001 Executive , Boulevard, Suite 325, Msc 7600
Bethesda, MD 20892-7660, US;
UNIVERSITY OF KANSAS (33.3%) y
NORTH WESTERN UNIVERSITY (33.3%)**

72 Inventor/es:

**FRANKOWSKI, KEVIN;
PATNAIK, SAMARJIT;
HUANG, SUI;
MARUGAN, JUAN JOSE;
NORTON, JOHN;
SCHOENEN, FRANK J.;
SOUTHALL, NOEL;
TITUS, STEVEN;
ZHENG, WEI y
WANG, CHEN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 748 590 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos y métodos para la prevención y el tratamiento de metástasis tumoral y tumorigénesis

Antecedentes de la invención

5 La metástasis es el mecanismo celular usado por la enfermedad para extenderse de un órgano a otra parte no adyacente del organismo. Este proceso es particularmente importante en el desarrollo de tumores sólidos y es responsable de la mayoría de muertes asociadas a esta enfermedad. Está bien reconocido en el campo que el tratamiento de una lesión tumoral tiene un mejor pronóstico si se inicia en un estadio premetastásico. En la última década, aunque ha avanzado la comprensión de los mecanismos subyacentes implicados en la metástasis, las herramientas terapéuticas con repercusión específicamente en el proceso metastásico son muy limitadas.

10 Abou El Ella et al. (*Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2008, 16: 2391-2402) divulga 4-imino-4,7-dihidro-3H-pirrol[2,3-d]pirimidinas. Se enseña que uno de los compuestos tiene utilidad como intermedio sintético en la síntesis de compuestos anticancerosos. No se divulga actividad biológica de los compuestos per se. Se han descrito 2-(7-bencil-4-imino-5,6-difenil-4,7-dihidro-3H-pirrol[2,3-d]pirimidin-3-iletan-1-ol y 2-(7-bencil-4-imino-5,6-difenil-4,7-dihidro-3H-pirrol[2,3-d]pirimidin-3-il)propan-1-ol como comercialmente disponibles. Aparte de la estructura, no hay descripción de ninguna actividad farmacológica exhibida por el compuesto.

Compendio

20 Los inhibidores del compartimento perinucleolar (CPN), un cuerpo subnuclear caracterizado por su localización en la periferia del nucleolo y que está asociado a malignidad tanto *in vitro* como *in vivo*, se divulgan como una solución a la necesidad insatisfecha de tratamiento de cáncer, específicamente cánceres metastásicos. Los compuestos que encarnan aspectos de la invención desestabilizan el ensamblado del CPN. Tal desestabilización reduce (sin citotoxicidad evidente) la prevalencia en células de una estructura subnuclear multicomponente que es altamente prevalente en tumores metastásicos y cuya presencia (de la estructura) se correlaciona positivamente con la capacidad metastásica. Según la invención, la presente divulgación proporciona composiciones que comprenden estos compuestos y estos compuestos para uso como agentes terapéuticos en el tratamiento de cáncer.

25 La divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal que encarna los principios de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable.

La divulgación proporciona además un compuesto que encarna los principios de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento o la prevención de cáncer en un mamífero.

30 La divulgación proporciona adicionalmente un compuesto que encarna los principios de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la desestabilización de un CPN en una célula.

La divulgación proporciona además un compuesto que encarna los principios de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la reducción de la prevalencia del compartimento perinucleolar en la célula.

35 La divulgación proporciona además un compuesto que encarna los principios de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la reducción de los niveles de ATP producidos por células cancerosas metastásicas en un mamífero aquejado de cáncer metastásico.

La divulgación proporciona adicionalmente un compuesto que encarna los principios de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la reducción de la formación de colonias de células cancerosas en un mamífero.

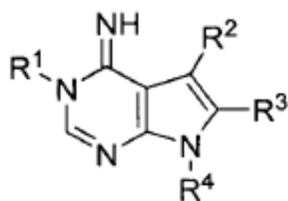
40 La divulgación proporciona adicionalmente un compuesto que encarna los principios de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la reducción de la migración de células cancerosas en un mamífero.

Breve descripción de las varias vistas del dibujo

45 La Fig. 1 ilustra un histograma que representa el número y tamaño de colonias PC3M en agar blando después de 14 días de tratamiento con una realización representativa de la invención a dos concentraciones diferentes, así como imágenes representativas de colonias observadas a estas concentraciones.

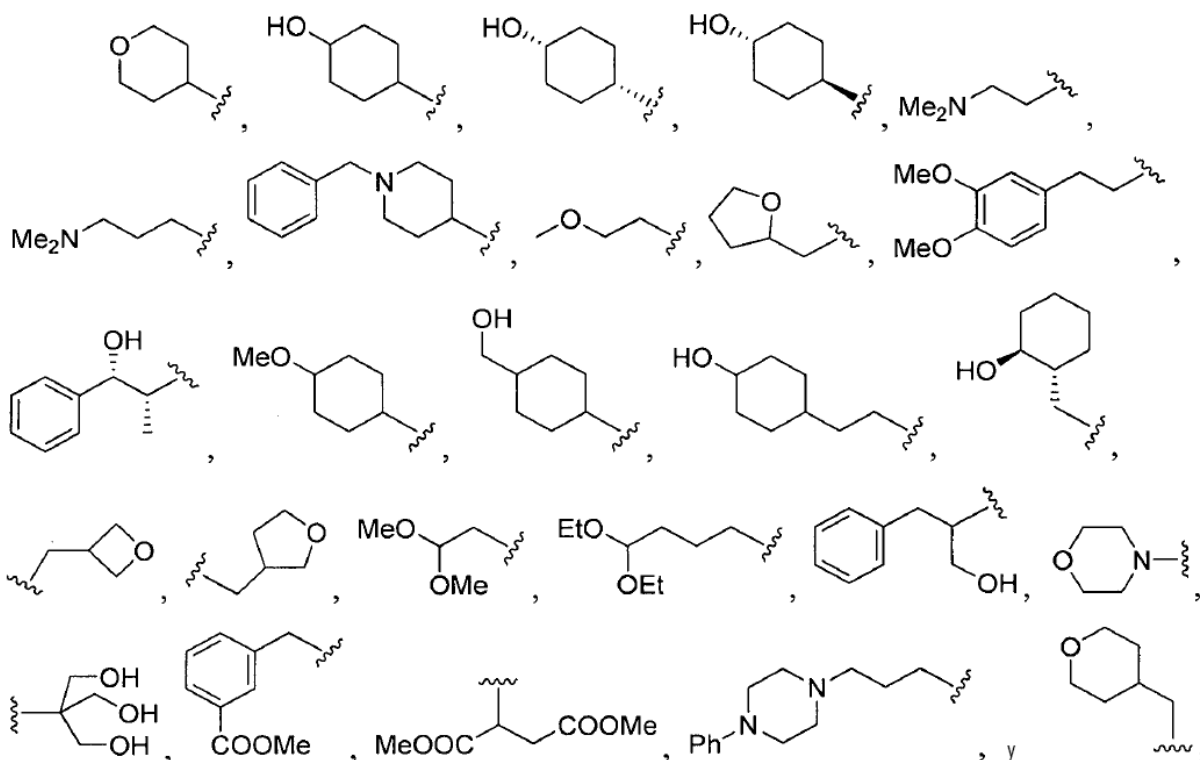
Descripción detallada de la invención

En una realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula:



(I)

en la que R¹ se selecciona de los siguientes:



5 R² es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, alquilo, hidroxialquilo, tioalquilo, alcoxi, alquiltioalquilo, alcoxicarbonilo, alquiltiocarbonilo, amino, alquilamino, dialquilamino y alquilcarbonilo,

R³ es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, alquilo, hidroxialquilo, tioalquilo, alcoxi, alquiltioalquilo, alcoxicarbonilo, alquiltiocarbonilo, amino, alquilamino, dialquilamino y alquilcarbonilo,

10 R⁴ se selecciona de alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo y heteroarilalquilo, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,

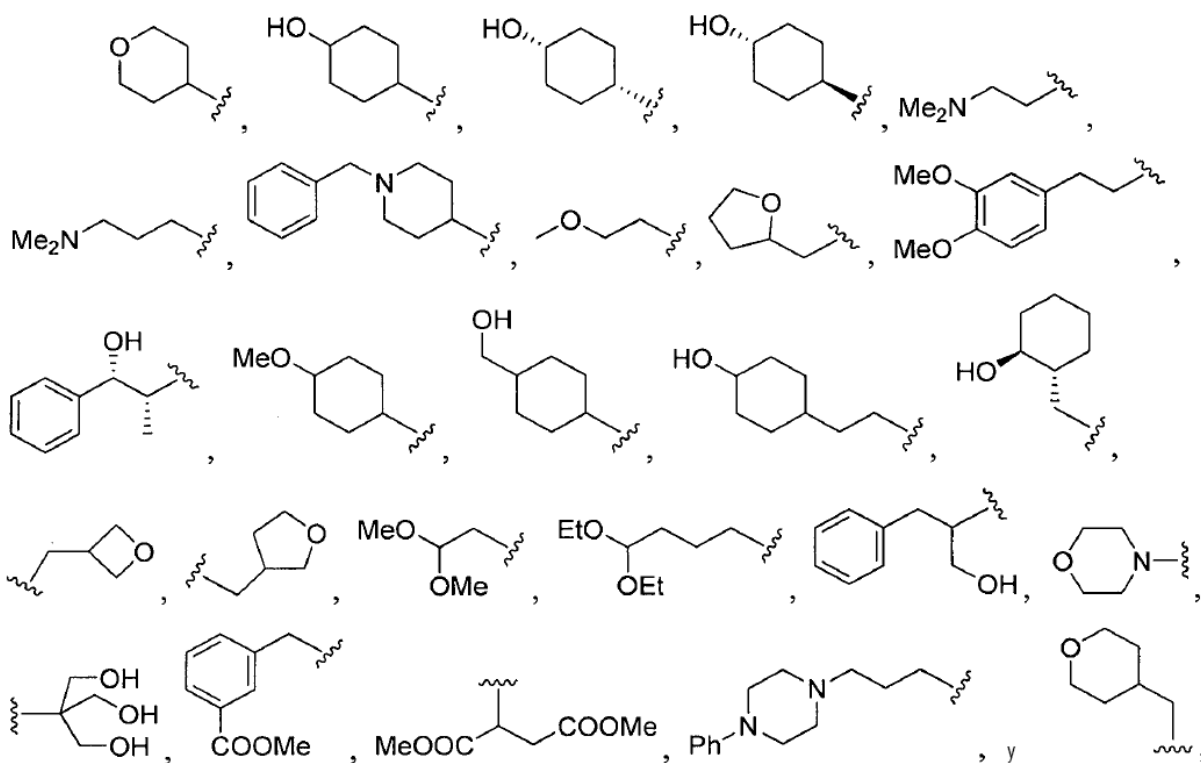
en los que R⁴ está opcionalmente sustituido en la porción arilo y/o alquilo con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo, hidroxialquilo, tioalquilo, alcoxi, alquiltioalquilo, alcoxicarbonilo, alquiltiocarbonilo, amino, alquilamino, dialquilamino, aminosulfonilo, hidroxilo, perfluoroalcoxi, alquiltendioxo y alquilcarbonilo.

15 Según ciertas realizaciones, R² es fenilo.

Según cualquiera de las realizaciones anteriores, R⁴ es bencilo, en el que el anillo fenilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo, hidroxialquilo, tioalquilo, alcoxi, alquiltioalquilo, alcoxicarbonilo, alquiltiocarbonilo, amino, alquilamino, dialquilamino, aminosulfonilo, hidroxilo, perfluoroalcoxi y alquilcarbonilo.

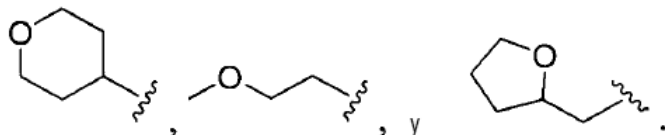
Según cualquiera de las realizaciones anteriores, R⁴ es bencilo.

20 Según ciertas realizaciones específicas, R² es fenilo, R³ es fenilo, R⁴ es bencilo y R¹ se selecciona de los siguientes:

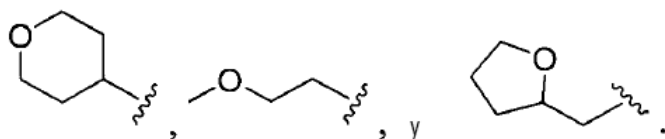


Según ciertas realizaciones, R⁴ es 4-metoxibencilo.

Según ciertas realizaciones preferidas, R¹ se selecciona de los siguientes:



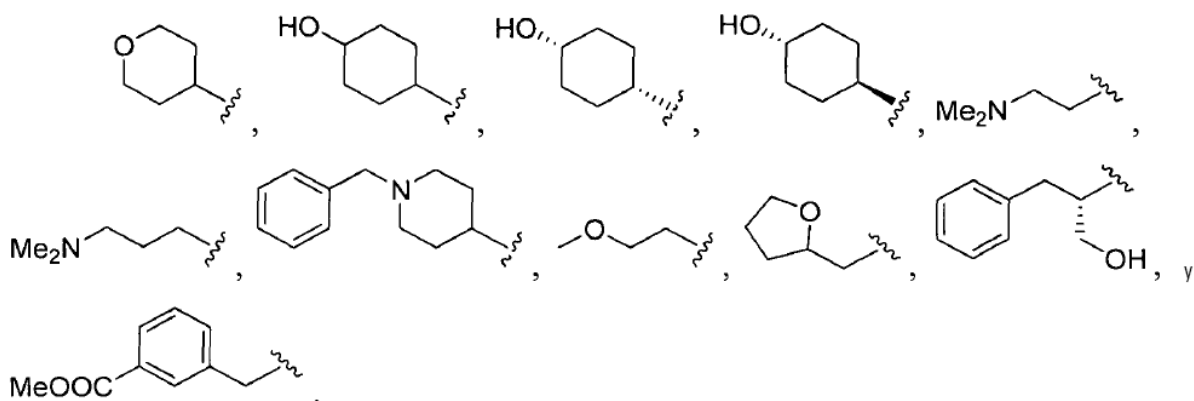
5 Según ciertas realizaciones específicas, R² es fenilo, R³ es fenilo, R⁴ es 4-metoxibencilo y R¹ se selecciona de los siguientes:



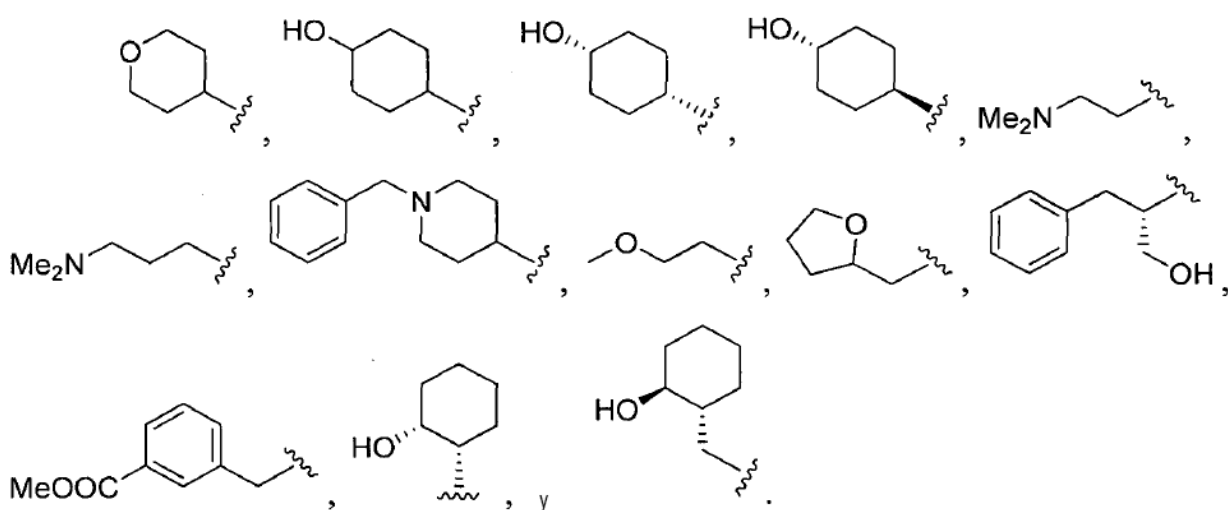
Según cualquiera de las realizaciones anteriores, R⁴ es feniletilo, en el que el anillo fenilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo, hidroxialquilo, alcoxi y alcoxicarbonilo.

10 Según ciertas realizaciones, R⁴ es feniletilo.

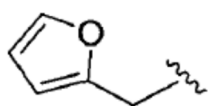
Según ciertas realizaciones preferidas, R¹ se selecciona de los siguientes:



Según ciertas realizaciones específicas, R² es fenilo, R³ es fenilo, R⁴ es feniletilo y R¹ se selecciona de los siguientes:

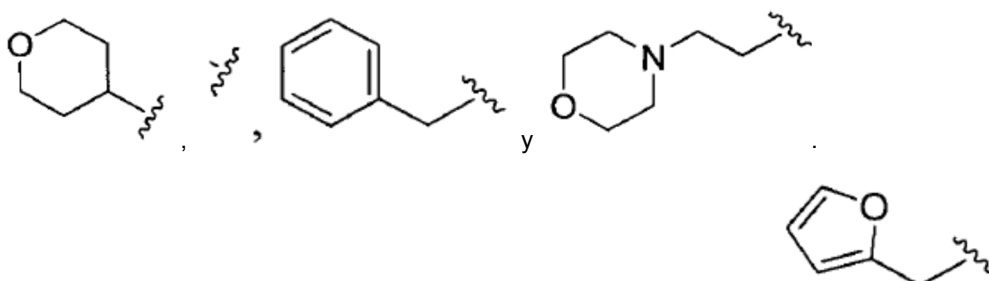


Según ciertas realizaciones, R⁴ es heteroarilalquilo C₁-C₆.

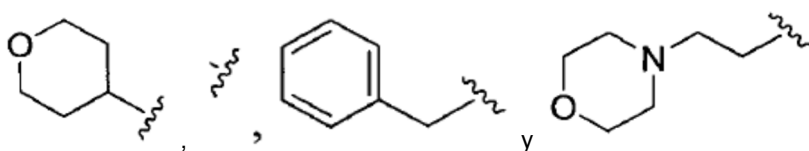


5 Según ciertas realizaciones, R⁴ es

Según ciertas realizaciones preferidas, R¹ se selecciona de los siguientes:

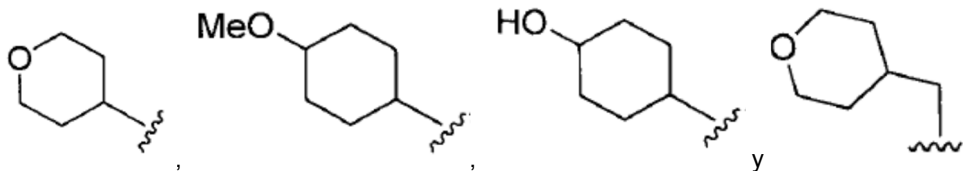


Según ciertas realizaciones específicas, R² es fenilo, R³ es fenilo, R⁴ es los siguientes: y R¹ se selecciona de



Según ciertas realizaciones, R⁴ se selecciona de 4-aminosulfonilbencilo, 4-trifluorometoxibencilo, 4-metoxibencilo y ciclopropilmetilo.

Según ciertas realizaciones preferidas, R¹ se selecciona de los siguientes:



5 Haciendo referencia ahora a la terminología usada genéricamente en la presente memoria, el término “alquilo” significa un sustituyente alquilo de cadena lineal o ramificada que contiene, por ejemplo, de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a aproximadamente 4 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a aproximadamente 2 átomos de carbono. Los ejemplos de tales sustituyentes incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, pentilo, isoamilo, hexilo y similares.

10 El término “alqueno”, como se usa en la presente memoria, significa un sustituyente alqueno lineal que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono y, por ejemplo, de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono (los alquenos ramificados son de aproximadamente 3 a aproximadamente 6 átomos de carbono), preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 átomos de carbono (los alquenos ramificados son preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 átomos de carbono), más preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 átomos de carbono. Los ejemplos de tales sustituyentes incluyen vinilo, propenilo, isopropenilo, n-butenilo, sec-butenilo, isobutenilo, terc-butenilo, pentenilo, isopentenilo, hexenilo y similares.

15 El término “alquino”, como se usa en la presente memoria, significa un sustituyente alquino lineal que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono y, por ejemplo, de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono (los alquinos ramificados son de aproximadamente 3 a aproximadamente 6 átomos de carbono), preferiblemente de 2 a aproximadamente 5 átomos de carbono (los alquinos ramificados son preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 átomos de carbono), más preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 átomos de carbono. Los ejemplos de tales sustituyentes incluyen etinilo, propinilo, isopropinilo, n-butinilo, sec-butinilo, isobutinilo, terc-butinilo, pentinilo, isopentinilo, hexinilo y similares.

20 El término “cicloalquilo”, como se usa en la presente memoria, significa un sustituyente alquilo cíclico que contiene, por ejemplo, de aproximadamente 3 a aproximadamente 8 átomos de carbono, preferiblemente de aproximadamente 4 a aproximadamente 7 átomos de carbono, y más preferiblemente de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 átomos de carbono. Los ejemplos de tales sustituyentes incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo y similares. Los grupos alquilo cíclicos pueden estar no sustituidos o sustituidos además con grupos alquilo tales como grupos metilo, grupos etilo y similares. El término “cicloalquilalquilo”, como se usa en la presente memoria, hace referencia a un grupo alquilo ligado con un grupo cicloalquilo y ligado además con una molécula a través del grupo alquilo.

25 El término “heterociclilo”, como se usa en la presente memoria, hace referencia a un sistema de anillo monocíclico o bicíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados del grupo consistente en O, N, S y combinaciones de los mismos. El grupo heterociclilo puede ser cualquier grupo heterociclilo adecuado y puede ser un grupo heterociclilo alifático, un grupo heterociclilo aromático o una combinación de los mismos. El grupo heterociclilo puede ser un grupo heterociclilo monocíclico o un grupo heterociclilo bicíclico. Los grupos heterociclilo bicíclicos adecuados incluyen anillos heterociclilo monocíclicos fusionados con un anillo arilo C₆-C₁₀. Cuando el grupo heterociclilo es un grupo heterociclilo bicíclico, ambos sistemas de anillo pueden ser alifáticos o aromáticos, o un sistema de anillo puede ser aromático y el otro sistema de anillo puede ser alifático, como por ejemplo en dihidrobenzofurano. Los ejemplos no limitantes de grupos heterociclilo aromáticos adecuados incluyen tetrahydrofurano, tetrahidropirano, tetrahidrotiofeno, pirrolidinilo, piperidinilo y morfolinilo. Los ejemplos no limitantes de grupos heterociclilo aromáticos adecuados incluyen furanilo, tiofeno, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, isoxazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, tiazolilo, 1,3,4-oxadiazol-2-ilo, 1,2,4-oxadiazol-2-ilo, 5-metil-1,3,4-oxadiazol, 3-metil-1,2,4-oxadiazol, piridinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, benzofuranilo, benzotiofeno, indolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, benzoxazolinilo, benzotiazolinilo y quinazolinilo. El grupo heterociclilo está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes como se enumeran en la presente memoria, tales como con grupos alquilo tales como grupos metilo, grupos etilo y similares, o con grupos arilo tales como grupos fenilo, grupos naftilo y similares, en los que los grupos arilo pueden estar sustituidos además, por ejemplo, con halógeno, dilahalogenoalquilo, trihalogenoalquilo, nitro, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, amino, amino sustituido, alquilcarbonilo, alcocarbonilo, arilcarbonilo, ariloxicarbonilo, tio, alquiltio, ariltio y similares, en los que el sustituyente opcional puede estar presente en cualquier posición abierta en el grupo heterociclilo.

50 El término “heterociclilalquilo”, como se usa en la presente memoria, hace referencia a un grupo alquilo ligado con un grupo heterociclilo y ligado además con una molécula a través del grupo alquilo.

El término “arilalquilo”, como se usa en la presente memoria, hace referencia a un grupo alquilo ligado con un anillo arilo C₆-C₁₀ y ligado además con una molécula a través del grupo arilo. El término “alquilarilo”, como se usa en la presente memoria, hace referencia a un anillo arilo C₆-C₁₀ ligado con un grupo alquilo y ligado además con una molécula a través del grupo arilo.

5 El término “alquilcarbonilo”, como se usa en la presente memoria, hace referencia a un grupo alquilo ligado con un grupo carbonilo y ligado además con una molécula a través del grupo carbonilo, tal como alquil-C(=O)-. El término “alcoxicarbonilo”, como se usa en la presente memoria, hace referencia a un grupo alcoxi ligado con un grupo carbonilo y ligado además con una molécula a través del grupo carbonilo, tal como alquil-O-C(=O)-.

10 Siempre que se indique un intervalo de número de átomos en una estructura (tal como alquilo, alqueno o alquino C₁-C₁₂, C₁-C₈, C₁-C₆, C₁-C₄ o C₂-C₁₂, C₂-C₈, C₂-C₆, C₂-C₄, etc.), se contempla específicamente que puede usarse también cualquier subintervalo o número individual de átomos de carbono que entre dentro del intervalo indicado. Por tanto, por ejemplo, la enumeración de un intervalo de 1-8 átomos de carbono (tal como C₁-C₈), 1-6 átomos de carbono (tal como C₁-C₆), 1-4 átomos de carbono (tal como C₁-C₄), 1-3 átomos de carbono (tal como alquilo C₁-C₃) o 2-8 átomos de carbono (tal como C₂-C₈) como se usa con respecto a cualquier grupo químico (tal como alquilo, alquilamino, etc.) al que se hace referencia en la presente memoria engloba y describe específicamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 átomos de carbono y combinaciones de los mismos, según sea apropiado, así como cualquier subintervalo de los mismos (tal como 1-2 átomos de carbono, 1-3 átomos de carbono, 1-4 átomos de carbono, 1-5 átomos de carbono, 1-6 átomos de carbono, 1-7 átomos de carbono, 1-8 átomos de carbono, 1-9 átomos de carbono, 1-10 átomos de carbono, 1-11 átomos de carbono, 1-12 átomos de carbono, 2-3 átomos de carbono, 2-4 átomos de carbono, 2-5 átomos de carbono, 2-6 átomos de carbono, 2-7 átomos de carbono, 2-8 átomos de carbono, 2-9 átomos de carbono, 2-10 átomos de carbono, 2-11 átomos de carbono, 2-12 átomos de carbono, 3-4 átomos de carbono, 3-5 átomos de carbono, 3-6 átomos de carbono, 3-7 átomos de carbono, 3-8 átomos de carbono, 3-9 átomos de carbono, 3-10 átomos de carbono, 3-11 átomos de carbono, 3-12 átomos de carbono, 4-5 átomos de carbono, 4-6 átomos de carbono, 4-7 átomos de carbono, 4-8 átomos de carbono, 4-9 átomos de carbono, 4-10 átomos de carbono, 4-11 átomos de carbono y/o 4-12 átomos de carbono, etc., según sea apropiado). De forma similar, la enumeración de un intervalo de 6-10 átomos de carbono (tal como C₆-C₁₀) como se usa con respecto a cualquier grupo químico (tal como arilo) al que se hace referencia en la presente memoria engloba y describe específicamente 6, 7, 8, 9 y/o 10 átomos de carbono, según sea apropiado, así como cualquier subintervalo del mismo (tal como 6-10 átomos de carbono, 6-9 átomos de carbono, 6-8 átomos de carbono, 6-7 átomos de carbono, 7-10 átomos de carbono, 7-9 átomos de carbono, 7-8 átomos de carbono, 8-10 átomos de carbono y/o 8-9 átomos de carbono, etc., según sea apropiado).

El término “halógeno”, como se usa en la presente memoria, significa un sustituyente seleccionado del Grupo VIIA tal como, por ejemplo, flúor, bromo, cloro y yodo.

El término “arilo” hace referencia a un sustituyente carbocíclico aromático no sustituido o sustituido, como se entiende comúnmente en la técnica, y el término “arilo C₆-C₁₀” incluye fenilo y naftilo. Se entiende que el término arilo se aplica a sustituyentes cíclicos que son planos y comprenden 4n+2 electrones π, según la regla de Hückel.

La frase “sal farmacéuticamente aceptable” pretende incluir sales no tóxicas sintetizadas a partir del compuesto original que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. Generalmente, se prefieren medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Se encuentran listas de sales adecuadas en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18ª ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990, pág. 1445, y *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2-19 (1977).

Las bases adecuadas incluyen bases inorgánicas tales como bases de metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como aquellas que contienen cationes metálicos tales como sodio, potasio, magnesio, calcio y similares. Los ejemplos no limitantes de bases adecuadas incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio y carbonato de potasio. Los ácidos adecuados incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido oxálico, ácido p-bromofenilsulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido acético, ácido maleico, ácido tartárico, ácidos grasos, ácidos grasos de cadena larga y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables preferidas de los compuestos de la invención que tienen un resto ácido incluyen sales de sodio y potasio. Las sales farmacéuticamente aceptables preferidas de los compuestos de la invención que tienen un resto básico (tal como un grupo dimetilaminoalquilo) incluyen sales hidrocioruro e hidrobromuro. Los compuestos de la presente invención que contienen un resto ácido o básico son útiles en forma de la base o ácido libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

55 Debería reconocerse que el contraión particular que forma una parte de cualquier sal de la invención no es habitualmente de naturaleza crítica, a condición de que la sal en conjunto sea farmacológicamente aceptable y a condición de que el contraión no contribuya a calidades indeseadas en la sal en conjunto.

Se entiende además que los compuestos y sales anteriores pueden formar solvatos, o existir en forma sustancialmente no complejada, tal como la forma anhidra. Como se usa en la presente memoria, el término “solvato” hace referencia

a un complejo molecular en el que la molécula de disolvente, tal como el disolvente cristalizante, se incorpora a la red cristalina. Cuando el disolvente incorporado al solvato es agua, el complejo molecular se denomina hidrato. Los solvatos farmacéuticamente aceptables incluyen hidratos, alcoholatos tales como metanolatos y etanolatos, acetonitrilatos y similares. Estos compuestos pueden existir también en formas polimórficas.

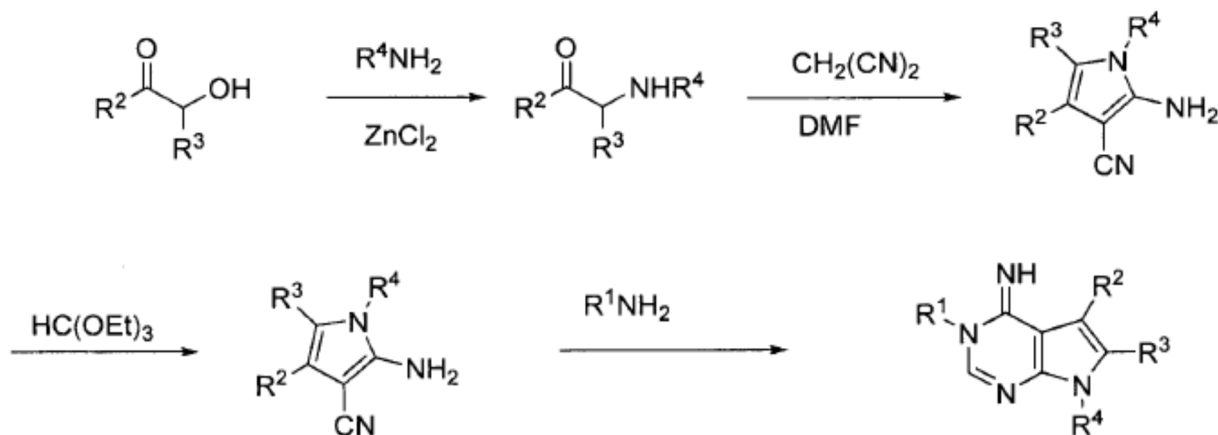
5 En cualquiera de las realizaciones anteriores, el compuesto o sal de fórmula (I) puede tener al menos un átomo de carbono asimétrico. Cuando el compuesto o sal tiene al menos un átomo de carbono asimétrico, el compuesto o sal puede existir en forma racémica, en forma de sus isómeros ópticos puros o en forma de una mezcla en la que un isómero está enriquecido respecto al otro. En particular, según la presente invención, cuando los compuestos de la invención tienen un solo átomo de carbono asimétrico, los compuestos de la invención pueden existir como racematos, es decir, como mezclas de iguales cantidades de isómeros ópticos, es decir iguales cantidades de dos enantiómeros, o en forma de un solo enantiómero. Como se usa en la presente memoria, "un solo enantiómero" pretende incluir un compuesto que comprende más de un 50 % de un solo enantiómero (es decir, un exceso enantiomérico de hasta 100 % de enantiómero puro).

10 Cuando el compuesto o sal tiene más de un centro quiral, el compuesto o sal puede existir por lo tanto como una mezcla de diastereómeros o en forma de un solo diastereómero. Como se usa en la presente memoria, "un solo diastereómero" pretende significar un compuesto que comprende más de un 50 % de un solo diastereómero (es decir, un exceso diastereomérico de 100 % de diastereómero puro).

Método sintético

20 Se plasma en el Esquema 1 una síntesis general de realizaciones de los compuestos de la invención. La síntesis del compuesto 104 comienza con la reacción de la alfa-hidroxicetona 100 con una amina primaria en presencia de cloruro de cinc catalítico dando la alfa-aminocetona 101, que no se aísla, sino que reacciona directamente con malononitrilo dando aminopirrol 102. La reacción de aminopirrol 102 con ortoformiato de trietilo da el imidato 103. La reacción del imidato 103 con la amina primaria R¹-NH₂ en un disolvente tal como metanol proporciona el producto final 104.

Esquema 1



25 La presente invención está dirigida además a una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y al menos un compuesto o sal descrito en la presente memoria.

Se prefiere que el portador farmacéuticamente aceptable sea uno químicamente inerte a los compuestos activos y uno que no tenga efectos secundarios perjudiciales o toxicidad en las condiciones de uso.

30 La elección del portador se determinará en parte por el compuesto particular de la presente invención elegido, así como por el método particular usado para administrar la composición. Por consiguiente, hay una amplia variedad de formulaciones adecuadas de la composición farmacéutica de la presente invención. Las siguientes formulaciones para administración oral, por aerosol, nasal, pulmonar, parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intratecal, intratumoral, tópica, rectal y vaginal son simplemente ejemplares y en modo alguno limitantes.

35 La composición farmacéutica puede administrarse por vía parenteral, tal como intravenosa, subcutánea, intradérmica o intramuscular. Por tanto, la invención proporciona composiciones para administración parenteral que comprenden una solución o suspensión del compuesto o sal de la invención disuelto o suspendido en un portador aceptable adecuado para administración parenteral, incluyendo soluciones de inyección estériles isotónicas no acuosas.

40 Globalmente, los requisitos para portadores farmacéuticos eficaces para composiciones parenterales son bien conocidos por los especialistas en la materia. Véanse tales como Banker and Chalmers, eds., *Pharmaceutics and Pharmacy Practice*, J. B. Lippincott Company, Filadelfia, pág. 238-250 (1982), y Toissel, *ASHP Handbook on Injectable*

Drugs, 4ª ed., pág. 622-630 (1986). Tales soluciones pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos y solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes. El compuesto o sal de la presente invención puede administrarse en un diluyente fisiológicamente aceptable en un portador farmacéutico, tal como un líquido estéril o mezcla de líquidos, incluyendo agua, solución salina, dextrosa acuosa y soluciones de azúcar relacionadas, un alcohol tal como etanol, isopropanol o alcohol hexadecílico, glicoles tales como propilenglicol o polietilenglicol, dimetilsulfóxido, glicerolcetales tales como 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol, éteres tales como polietilenglicol 400, un aceite, un ácido graso, un éster o glicérido de ácido graso o un glicérido de ácido graso acetilado con o sin la adición de un tensioactivo farmacéuticamente aceptable, tal como un jabón o un detergente, un agente de suspensión tal como pectina, carbómeros, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa, o agentes emulsionantes y otros coadyuvantes farmacéuticos.

Los aceites útiles en formulaciones parenterales incluyen aceites de petróleo, animales, vegetales o sintéticos. Los ejemplos específicos de aceites útiles en tales formulaciones incluyen de cacahuete, soja, sésamo, semilla de algodón, maíz, oliva, vaselina y minerales. Los ácidos grasos adecuados para uso en formulaciones parenterales incluyen ácido oleico, ácido esteárico y ácido isoesteárico. El oleato de etilo y miristato de isopropilo son ejemplos de ésteres de ácido graso adecuados.

Los jabones adecuados para uso en formulaciones parenterales incluyen sales grasas de metal alcalino, amonio y trietanolamina, y los detergentes adecuados incluyen (a) detergentes catiónicos tales como, por ejemplo, haluros de dimetildialquilamonio y haluros de alquilpiridinio, (b) detergentes aniónicos tales como, por ejemplo, sulfonatos de alquilo, arilo, y olefina, sulfatos de alquilo, olefina, éter y monoglicéridos y sulfosuccinatos, (c) detergentes no iónicos tales como, por ejemplo, óxidos de amina grasos, alcanolamidas de ácido graso y copolímeros de polioxietileno-polipropileno, (d) detergentes anfotéricos tales como, por ejemplo, alquil-beta-aminopropionatos y sales de amonio cuaternario de 2-alquilimidazolina y (e) mezclas de los mismos.

Las formulaciones parenterales pueden contener conservantes y tampones. Para minimizar o eliminar la irritación en el sitio de inyección, tales composiciones pueden contener uno o más tensioactivos no iónicos que tienen un equilibrio hidrófilo-lipófilo (EHL) de aproximadamente 12 a aproximadamente 17. La cantidad de tensioactivo en tales formulaciones oscilará típicamente de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 % en peso. Los tensioactivos adecuados incluyen ésteres de ácido graso de polietilensorbitán, tales como monooleato de sorbitán, y los aductos de alto peso molecular de óxido de etileno con una base hidrófoba, formados por la condensación de óxido de propileno con propilenglicol. Las formulaciones parenterales pueden presentarse en envases sellados monodosis o multidosis, tales como ampollas y viales, y pueden almacenarse en condición de secado por congelación (liofilizada) que requiere solo la adición del excipiente líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Pueden prepararse soluciones y suspensiones de inyección extemporáneas a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles de la clase descrita anteriormente.

Son bien conocidas las formulaciones tópicas, incluyendo aquellas que son útiles para la liberación transdérmica de fármaco, por los especialistas en la materia y son adecuadas en el contexto de la invención para aplicación a la piel. Las composiciones aplicadas por vía tópica están generalmente en forma de líquidos, cremas, pastas, lociones y geles. La administración tópica incluye aplicación a la mucosa oral, que incluye cavidad oral, epitelio oral, mucosa palatina, gingival y nasal. En algunas realizaciones, la composición contiene al menos un componente activo y un vehículo o portador adecuado. Puede contener también otros componentes tales como un antiirritante. El portador puede ser un líquido, sólido o semisólido. En realizaciones, la composición es una solución acuosa. Como alternativa, la composición puede ser un vehículo de dispersión, emulsión, gel, loción o crema para los diversos componentes. En una realización, el vehículo primario es agua o un disolvente biocompatible que es sustancialmente neutro o que se ha vuelto sustancialmente neutro. El vehículo líquido puede incluir otros materiales, tales como tampones, alcoholes, glicerina y aceites minerales con diversos emulsionantes o agentes dispersantes como es conocido en la materia para obtener el pH, consistencia y viscosidad deseados. Es posible que las composiciones puedan producirse como sólidos, tales como polvos o gránulos. Los sólidos pueden aplicarse directamente o disolverse en agua o un disolvente biocompatible antes del uso para formar una solución que es sustancialmente neutra o que se ha vuelto sustancialmente neutra y que puede aplicarse entonces al sitio diana. En realizaciones de la invención, el vehículo para aplicación tópica a la piel puede incluir agua, soluciones tamponadas, diversos alcoholes, glicoles tales como glicerina, materiales lipídicos tales como ácidos grasos, aceites minerales, fosfoglicéridos, colágeno, gelatina y materiales basados en silicona.

Las formulaciones adecuadas para administración oral pueden consistir en (a) soluciones líquidas tales como una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la invención disuelto en diluyentes tales como agua, solución salina o zumo de naranja, (b) cápsulas, saquitos, comprimidos, pastillas y pastillas para chupar, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo, como sólidos o gránulos, (c) polvos, (d) suspensiones en un líquido apropiado y (e) emulsiones adecuadas. Las formulaciones líquidas pueden incluir diluyentes tales como agua y alcoholes, por ejemplo etanol, alcohol bencílico y polietilencalcoholes, con o sin la adición de un tensioactivo, agente de suspensión o agente emulsionante farmacéuticamente aceptable. Las formas de cápsula pueden ser de tipo gelatina de cubierta dura o blanda ordinarias que contienen, por ejemplo, tensioactivos, lubricantes y cargas inertes tales como lactosa, sacarosa, fosfato de calcio y almidón de maíz. Las formas de comprimidos pueden incluir uno o más de lactosa, sacarosa, manitol, almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico, celulosa microcristalina, goma

arábica, gelatina, goma guar, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa de sodio, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de cinc, ácido esteárico y otros excipientes, colorantes, diluyentes, agentes tamponadores, agentes disgregantes, agentes humectantes, conservantes, agentes aromatizantes y excipientes farmacológicamente compatibles. Las formas de pastilla pueden comprender el ingrediente activo en un aroma, habitualmente sacarosa y goma arábica o tragacanto, así como caramelos que comprenden el ingrediente activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica, emulsiones, geles y similares que contienen, además del ingrediente activo, excipientes tales como son conocidos en la materia.

El compuesto o sal de la presente invención, solo o en combinación con otros componentes adecuados, puede convertirse en formulaciones de aerosol para administrar por inhalación. Los compuestos se suministran preferiblemente en forma finamente dividida junto con un tensioactivo y un propelente. Los porcentajes típicos de compuesto activo son 0,01 %-20 % en peso, preferiblemente 1 %-10 %. El tensioactivo, por supuesto, debe ser no tóxico y preferiblemente soluble en el propelente. Son representativos de tales tensioactivos los ésteres o ésteres parciales de ácidos grasos que contienen de 6 a 22 átomos de carbono, tales como ácidos caproico, octanoico, láurico, palmítico, esteárico, linoleico, linolénico, olestérico y oleico con un alcohol polihidroxílico alifático o su anhídrido cíclico. Pueden emplearse ésteres mixtos, tales como glicéridos mixtos o naturales. El tensioactivo puede constituir un 0,1-20 % en peso de la composición, preferiblemente un 0,25-5 %. El resto de la composición es normalmente propelente. Puede incluirse también un portador como se desee, tal como lecitina para suministro intranasal. Estas formulaciones en aerosol pueden colocarse en propelentes a presión aceptables, tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares. Pueden formularse también como productos farmacéuticos para preparaciones no a presión, tales como en un nebulizador o atomizador. Tales formulaciones de pulverización pueden usarse para pulverizar mucosa.

Adicionalmente, el compuesto o sal de la presente invención puede convertirse en supositorios por mezclado con una variedad de bases, tales como bases emulsionantes o bases hidrosolubles. Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o fórmulas de pulverización que contienen, además del ingrediente activo, portadores tales como son conocidos en la materia por ser apropiados.

Se apreciará por un especialista en la materia que, además de las composiciones farmacéuticas anteriormente descritas, el compuesto o sal de la presente invención puede formularse como complejos de inclusión, tales como complejos de inclusión de ciclodextrina, o liposomas. Los liposomas sirven para orientar los compuestos a un tejido particular, tal como tejido linfoide o células hepáticas cancerosas. Los liposomas pueden usarse también para aumentar la semivida del compuesto de la invención. Los liposomas útiles en la presente invención incluyen emulsiones, espumas, micelas, monocapas insolubles, cristales líquidos, dispersiones de fosfolípidos, capas lamelares y similares. En estas preparaciones, el agente activo para suministrar se incorpora como parte de un liposoma, solo o junto con un agente quimioterapéutico adecuado. Por tanto, los liposomas llenados con un compuesto de la invención deseado o sal del mismo pueden dirigirse al sitio de un tipo de tejido específico, células hepáticas por ejemplo, donde los liposomas suministran entonces las composiciones seleccionadas. Los liposomas para uso en la invención se forman a partir de lípidos formadores de vesículas estándares, que incluyen generalmente fosfolípidos neutros y cargados negativamente y un esteroles, tal como colesterol. La selección de lípidos está generalmente guiada por la consideración, por ejemplo, del tamaño y estabilidad del liposoma en la corriente sanguínea. Están disponibles una variedad de métodos para preparar liposomas, como se describe por ejemplo en Szoka et al., *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 9, 467 (1980), y en las patentes de EE. UU. 4.235.871, 4.501.728, 4.837.028 y 5.019.369. Para orientar a células de un tipo de tejido particular, el ligando para incorporar al liposoma puede incluir, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de los mismos específicos de determinantes de superficie celular del tipo de tejido orientado. Puede administrarse una suspensión de liposomas que contiene un compuesto o sal de la presente invención por vía intravenosa, local, tópica, etc. en una dosis que varía según el modo de administración, el agente que se está suministrando y el estadio de enfermedad que se está tratando.

El compartimento perinucleolar (CPN) es una estructura dinámica del cuerpo subnuclear altamente enriquecida en proteínas de unión a ARN y ARN pol III, que se ha asociado con malignidad tanto *in vitro* como *in vivo*. Además, su presencia se correlaciona positivamente con la capacidad metastásica, haciéndolo un marcador potencial para el desarrollo y pronóstico de cáncer *in vivo* (Pollock, C. et al., *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 2010; 2(2), 1-10; Slusarczyk, A. et al., *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2010, 75, 599-605).

Aunque la función precisa del CPN sigue sin identificarse, la formación de CPN está estrechamente asociada con el fenotipo metastásico. Especialmente, las estirpes celulares tumorales sólidas parecen tener una mayor población de CPN. Es una observación sorprendente la diferencia en la población de CPN entre estirpes celulares transformadas metastáticamente y sus contrapartidas originales. Esta observación se mantiene particularmente para la estirpe celular PC-3M, que se creó retirando y cultivando una lesión metastásica después de implante de la estirpe celular PC-3 de tumor de próstata humano en ratones desnudos. La prevalencia de CPN (el porcentaje de células con al menos un CPN) aumenta en paralelo con la progresión de la enfermedad (estadificación y graduación) para cánceres de mama, ovario y colorrectal y alcanza casi 100 % en metástasis distantes. Una alta prevalencia de CPN en el estadio temprano de cáncer de mama se asocia con malos resultados clínicos del paciente (Kamath, R.V. et al., *Cancer Res.*, 2005, 65(1), 246-53). Además, la prevalencia de CPN se correlaciona directamente con los niveles de capacidad metastásica en modelos de metástasis en ratón de células cancerosas humanas.

Los CPN no están asociados con rasgos que son comunes tanto en células cancerosas como normales, tales como proliferación, glicólisis y estados de diferenciación. La asociación selectiva con la metástasis hace del CPN un marcador ideal y sencillo que refleja el rasgo complejo de malignidad celular. Por tanto, la reducción de CPN puede usarse como cambio fenotípico para identificar compuestos novedosos que pueden no orientarse directamente a la estructura de CPN misma, pero inducen cambios deseados que conducen a la inhibición de la malignidad celular.

Estudios anteriores han mostrado que los agentes antitumorales clásicos, tales como inhibidores de topoisomerasa I y II, reticulantes de ADN, un subconjunto de análogos nucleosídicos y metotrexato causan la reducción de la prevalencia de CPN (Jin, Y. et al, *Chem Biol.*, 2002, 9, 157-62; Norton, J. T. et al., *Anti-Cancer Drugs*. 2008, 19(1), 23-36; Norton, J. T. et al., *J. Biol. Chem.* 2009, 284, 4090-4101). Se ha mostrado también que la reducción de CPN por estos agentes no es un efecto citotóxico no específico, sino un resultado de la inhibición de la diana molecular. Esto se ejemplifica por los alquilantes de ADN, fármacos desestabilizadores de microtúbulos, hidroxiurea y algunos análogos nucleosídicos que son agentes citotóxicos que no desestabilizan el CPN. Se ha sugerido mecanísticamente también que aquellos fármacos que inducen la reducción de CPN pueden causarla a través de daño al ADN. Con ese fin, el ADN podría servir como locus para la nucleación del CPN, y esta noción está también apoyada por el hecho de que el CPN es un rasgo heredable. Sin embargo, todos los agentes que se sabe que reducen el CPN tienen mecanismos conocidos de inducción de citotoxicidad, que hacen difícil separar el efecto antimetastásico de la muerte celular.

La invención proporciona además un compuesto como se describe en la presente memoria para uso en el tratamiento de cáncer. El uso comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto de la invención a un animal aquejado del mismo. Preferiblemente, el animal es un mamífero. Más preferiblemente, el mamífero es un ser humano.

El término "mamífero" incluye, pero sin limitación, el orden Rodentia, tales como ratones, y el orden Logomorpha, tales como conejos. Se prefiere que los mamíferos sean del orden Carnivora, incluyendo felinos (gatos) y caninos (perros). Es más preferido que los mamíferos sean del orden Artiodactyla, incluyendo bovinos (vacas) y porcinos (cerdos) o del orden Perssodactyla, incluyendo equinos (caballos). Es más preferido que los mamíferos sean del orden Primates, cébidos o simioides (monos) o del orden antropoide (seres humanos y simios). Es un mamífero especialmente preferido el ser humano. Además, el sujeto puede ser la descendencia no nacida de cualquiera de los hospedadores precedentes, especialmente mamíferos (tales como seres humanos), en cuyo caso cualquier cribado del sujeto o células del sujeto, o administración de compuestos al sujeto o células del sujeto puede efectuarse en el útero.

Según una realización, la invención proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento o la prevención de cáncer, mediante el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto representado por la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente necesitado de ello. El cáncer puede ser cualquier cáncer adecuado sensible a la reducción de la prevalencia de CNP, por ejemplo cánceres en que los CNP son prevalentes.

Según otra realización, la invención proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se describe en la presente memoria para uso en el tratamiento de cáncer. El cáncer puede ser cualquier cáncer adecuado. Preferiblemente, el cáncer es un cáncer mestastásico. Por ejemplo, el cáncer puede ser cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer de próstata, y cáncer de cerebro.

En cualquiera de las realizaciones de la invención, el cáncer puede ser cualquier cáncer en cualquier órgano, por ejemplo, un cáncer se selecciona del grupo consistente en carcinoma cerebral, carcinoma de mama, carcinoma pancreático, carcinoma ovárico y carcinoma de próstata, y combinaciones de los mismos.

En una realización, el cáncer metastásico se selecciona del grupo consistente en cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de cerebro y cáncer de próstata.

Según otras realizaciones, la invención proporciona compuestos para uso en un método de potenciación o fomento de la actividad anticancerosa de un agente anticanceroso, comprendiendo el método coadministrar a un paciente necesitado de ello una cantidad eficaz de un agente anticanceroso y un compuesto o sal de la invención. El agente anticanceroso puede elegirse de agentes de unión reversible a ADN, alquilantes de ADN y rompedores de cadena de ADN.

Los ejemplos de agentes de unión reversible a ADN adecuados incluyen hidrocloreto de topotecán, irinotecán (CPT11 - Camptosar), rubitecán, exatecán, ácido nalidixico, TAS-103, etopósido, acridinas (tales como amsacrina, aminocrina), actinomicinas (tales como actinomicina D), antraciclina (tales como doxorubicina, daunorubicina), benzofenaina, XR 11576/MLN 576, benzopiridindoles, mitoxantrona, AQ4, etopósido, tenipósido, (epipodofilotoxinas), y agentes bisintercalantes tales como astriostina A y equinomicina.

Los ejemplos de alquilantes de ADN adecuados incluyen mostaza sulfurada, mostazas nitrogenadas (tales como mecloretamina), clorambucilo, melfalán, etileniminas (tales como trietilenmelamina, carbocouona, diazicouona), metanosulfonato de metilo, busulfán, CC-1065, duocarmicinas (tales como duocarmicina A, duocarmicina SA), agentes alquilantes activados metabólicamente tales como nitrosoureas (tales como carmustina, lomustina, (2-cloroetil)nitrosoureas), fármacos antitumorales de triazina tales como triazenoimidazol (tales como dacarbazina), mitomicina C, leinamicina y similares.

Los ejemplos de rompedores de cadena de ADN incluyen doxorubicina y daunorrubicina (que son también agentes de unión reversible a ADN), otras antraciclinas, bleomicinas, tirapamizina, antibióticos antitumorales de enediina tales como neocarzinostatina, esperamicinas, calicheamicinas, dinemicina A, hedarcidina, C-1027, N1999A2, esperamicinas, zinostatina y similares.

5 “Tratamiento” hace referencia a una intervención terapéutica que mejora un signo o síntoma de una enfermedad o afección patológica después de que haya empezado a desarrollarse. Como se usa en la presente memoria, el término “mejora”, con referencia a una enfermedad o afección patológica, hace referencia a cualquier efecto beneficioso observable del tratamiento. El efecto beneficioso puede evidenciarse, por ejemplo, por un inicio retardado de los
10 síntomas clínicos de la enfermedad en un sujeto sensible, una reducción de la gravedad de algunos o todos los síntomas clínicos de la enfermedad, una progresión más lenta de la enfermedad, una mejora de la salud o bienestar general del sujeto o por otros parámetros bien conocidos en la materia que sean específicos de la enfermedad particular. El tratamiento de cáncer puede evidenciarse, por ejemplo, por una reducción del tamaño tumoral, una reducción de la carga tumoral, una reducción de los síntomas clínicos resultantes del cáncer, un aumento de la longevidad, un aumento del tiempo de supervivencia libre de tumores y similares. El tratamiento en realizaciones
15 puede incluir inhibir el desarrollo o progresión de un cáncer o cáncer metastásico.

Se entiende por el término “coadministrar” que cada uno de los al menos dos compuestos se administre durante un marco temporal en el que se solapen los periodos respectivos de actividad biológica. Por tanto, el término incluye la administración secuencial así como coextensiva de dos o más compuestos farmacológicos. Los compuestos pueden administrarse simultánea, separada (cronológicamente escalonados), cíclica o secuencialmente en cualquier orden,
20 tal como antes o después.

Un especialista en la materia apreciará que están disponibles métodos adecuados de uso de un compuesto y administración a un ser humano para el tratamiento o la prevención de estados patológicos, en particular cáncer, que serían útiles en el método de la presente invención. Aunque puede usarse más de una vía para administrar un compuesto particular, una vía particular puede proporcionar una reacción más inmediata y más eficaz que otra vía.
25 Por consiguiente, los métodos descritos son meramente ejemplares y no son en modo alguno limitantes.

La dosis administrada a un mamífero, particularmente un ser humano, según la presente invención debería ser suficiente para efectuar la respuesta deseada. Tales respuestas incluyen la reversión o prevención de los efectos adversos de la enfermedad para los que se desea el tratamiento o para desencadenar el beneficio deseado. Un
30 especialista en la materia reconocerá que la dosificación dependerá de una variedad de factores, incluyendo edad, condición y peso corporal del ser humano, así como la fuente, tipo particular de la enfermedad y extensión de la enfermedad en el ser humano. El tamaño de la dosis se determinará también por la vía, momento y frecuencia de administración, así como la existencia, naturaleza y extensión de cualquier efecto secundario adverso que podría acompañar a la administración de un compuesto particular y el efecto fisiológico deseado. Se apreciará por un
35 especialista en la materia que diversas afecciones o estados patológicos pueden requerir un tratamiento prolongado que implica múltiples administraciones.

Las dosis y regímenes de dosificación adecuados pueden determinarse por técnicas de localización de intervalos convencionales conocidas por los especialistas en la materia. Generalmente, el tratamiento se inicia con dosificaciones menores de menos de la dosis óptima del compuesto. Después de ello, se aumenta la dosificación por pequeños incrementos hasta alcanzar el efecto óptimo según las circunstancias. El presente método de la invención implicará
40 típicamente la administración de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 300 mg de uno o más de los compuestos descritos anteriormente por kg de peso corporal del animal o mamífero.

La cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o compuestos administrados puede variar dependiendo de los efectos deseados y los factores señalados anteriormente. Típicamente, las dosificaciones estarán entre 0,01 mg/kg y 250 mg/kg de peso corporal del sujeto, y más típicamente entre aproximadamente 0,05 mg/kg y 100 mg/kg, tal como de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 80 mg/kg, de aproximadamente 5 a aproximadamente 40 mg/kg o de
45 aproximadamente 10 a aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal del sujeto. Por tanto, las formas de dosificación unitaria pueden formularse basándose en los intervalos adecuados enumerados anteriormente y el peso corporal del sujeto. El término “forma de dosificación unitaria” como se usa en la presente memoria hace referencia a una unidad físicamente discreta de agente terapéutico apropiada para el sujeto para tratar.

50 Como alternativa, las dosificaciones se calculan basándose en el área superficial del cuerpo y se administrarán de aproximadamente 1 mg/m² a aproximadamente 200 mg/m², tal como de aproximadamente 5 mg/m² a aproximadamente 100 mg/m² al sujeto al día. En realizaciones particulares, la administración de la cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o compuestos implica administrar al sujeto de aproximadamente 5 mg/m² a aproximadamente 50 mg/m², tal como de aproximadamente 10 mg/m² a aproximadamente 40 mg/m² al día. Se cree
55 actualmente que es adecuada una sola dosificación del compuesto o compuestos, sin embargo, puede suministrarse una dosificación terapéuticamente eficaz durante un periodo de tiempo extendido o en múltiples dosis al día. Por tanto, las formas de dosificación unitaria pueden calcularse también usando un área superficial del cuerpo del sujeto basada en los intervalos adecuados enumerados anteriormente y el programa de dosificación deseado.

Según otras realizaciones, la invención proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

como se describe en la presente memoria para uso en la potenciación o fomento de la actividad anticancerosa del tratamiento de radiación, mediante el que se administra una cantidad eficaz de un tratamiento de radiación y un compuesto o sal de la invención a un paciente necesitado de ello. El tratamiento de radiación puede ser cualquier tratamiento de radiación adecuado usado en el tratamiento de cánceres.

- 5 La invención proporciona además un uso de un compuesto o sal de la invención en la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir cáncer. El medicamento es típicamente una composición farmacéutica como se describe en la presente memoria.

Los siguientes ejemplos ilustran además la invención pero, por supuesto, no deberían considerarse en modo alguno limitantes de su alcance.

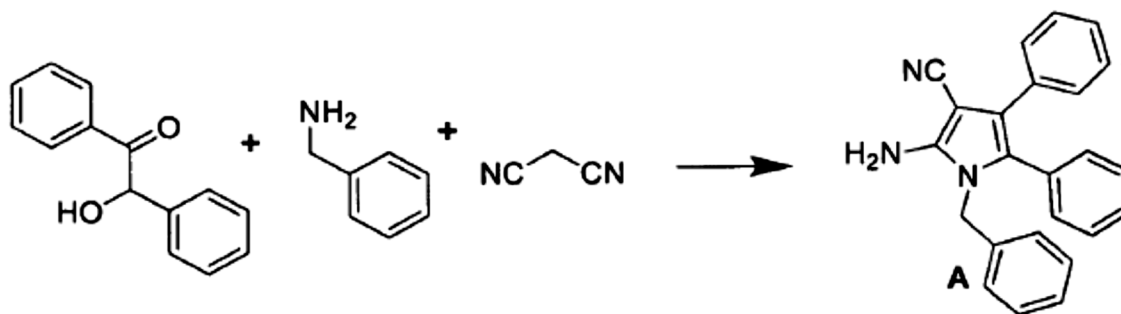
10 Ejemplos

Química general. Los reactivos y disolventes usados eran de pureza anhidra comercial y se usaron sin purificación adicional. La cromatografía en columna se llevó a cabo sobre gel de sílice (malla 100-200). Se registraron los espectros de RMN-¹H con un espectrómetro Bruker a 400 MHz a partir de soluciones en CDCl₃ y DMSO-d₆. Los desplazamientos químicos en espectros de RMN-¹H se reseñan en partes por millón (ppm, δ) campo abajo del patrón interno Me₄Si (TMS, δ= 0 ppm). Los desplazamientos químicos en espectros de RMN-¹³C se reseñan en partes por millón (ppm, δ) calibrados a partir de la señal de CHCl₃ residual (δ= 77,0 ppm) y se reseñan usando una secuencia de pulsos de APT que exhibe señales de metilo y metino (CH₃ y CH) como abajo y cuaternario y metileno (C y CH₂) como arriba. Se efectuó la confirmación del peso molecular usando un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo Agilent 6224 (TOF, Agilent Technologies, Santa Clara, CA). Se usó un gradiente de 3 minutos de 5 a 100 % de acetonitrilo en agua (0,03 % de ácido fórmico) con un tiempo de tanda de 5,1 minutos a un caudal de 0,4 ml/min. Se usó una columna Waters Atlantis T3 C18 (1,8 micrómetros, 2,1 x 50 m) a una temperatura de 25 °C. Se confirmó la confirmación de la fórmula molecular usando ionización por electropulverización en modo positivo con el software Agilent Masshunter (versión B.02).

Ejemplo de referencia 1

- 25 Este ejemplo ilustra un procedimiento para la síntesis de 2-amino-1-bencil-4,5-difenil-1H-pirrol-3-carbonitrilo **A**, un intermedio en la síntesis de un compuesto según una realización de la invención.

Se llevó a cabo una secuencia de reacción de Voigt/condensación de Knoevenagel modificada usando el procedimiento descrito en Roth, H. J. et al., *Arch. Pharmaz.* 1975, 308, 179-185. Se calentaron a reflujo benzoína (2,19 g, 10,3 mmol), bencilamina (1,66 g, 15,5 mmol, 1,5 equiv.) y cloruro de cinc (0,10 g, 0,73 mmol, 0,07 equiv.) durante 3 horas y se retiró la mezcla del baño de aceite. Se añadió a la mezcla aún caliente malononitrilo (1,35 g, 20,64 mmol, 2,0 equiv.) en DMF (3 ml). Se dejó enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas, procurando el pirrol bruto en forma de un sólido marrón oscuro. Se repartió el sólido entre agua y CH₂Cl₂ y se extrajo la fase acuosa con CH₂Cl₂ adicional (2x50 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados con Na₂SO₄ y se retiró el disolvente a vacío procurando el producto de pirrol **A** anteriormente reseñado en forma de un sólido marrón claro (1,67 g, 4,78 mmol, 46 % de rendimiento), que se usó sin purificación adicional. R_f= 0,22 (EtOAc al 20 % en hexanos); RMN-¹H δ 4,91 (s, 2 H), 7,06-7,37 (complejo, 15H); RMN-¹³C δ d (CH, CH₃) 125,8 (x2), 126,3, 127,9, 128,1, 128,2 (x2), 128,6 (x2), 128,7 (x2), 129,2 (x2), 131,0; u (C, CH₂) 46,9, 117,5, 120,9, 125,6, 130,8, 133,1, 136,0, 146,0, 162,5; IR 3329, 3228, 3031, 2195, 1663, 1556 cm⁻¹; HRMS calc. para C₂₄H₂₀N₃ [M + H⁺] 350,1657, encontrado 350,1648.

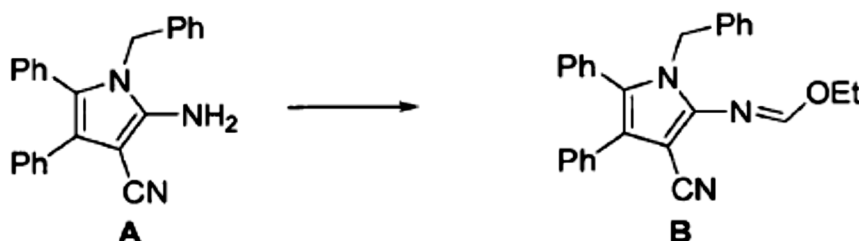


40

Ejemplo de referencia 2

Este Ejemplo ilustra un procedimiento para la síntesis de (E)-N-(1-bencil-3-ciano-4,5-difenil-1H-pirrol-2-il)formimidato de etilo B, un intermedio en la síntesis de un compuesto según una realización de la invención.

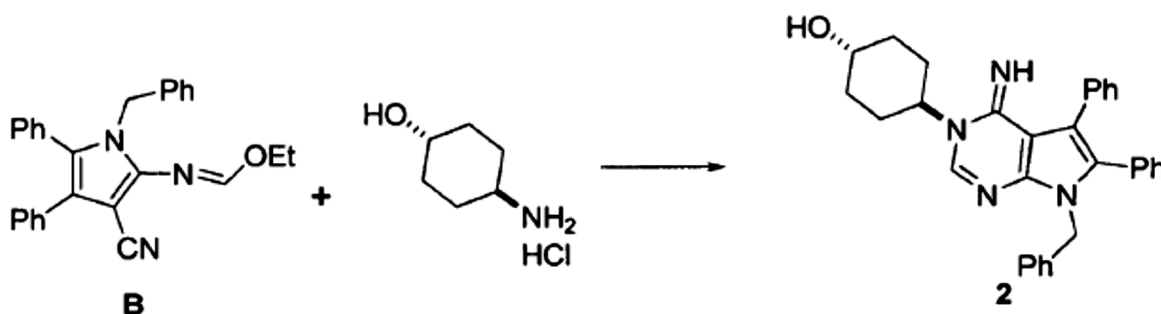
Se calentaron 2-amino-1-bencil-4,5-difenil-1H-pirrol-3-carbonitrilo A (1,07 g, 3,06 mmol) y ortoformiato de trietilo (4,54 g, 30,6 mmol, 10 equiv.) a 75 °C durante 14 horas y se retiró el ortoformiato de trietilo en exceso a vacío. Se disolvió el residuo en un mínimo de CH₂Cl₂, se adsorbió sobre Celite y se cromatografió en sílice procurando el producto formimidato B en forma de un sólido tostado (0,80 g, 1,97 mmol, 64 % de rendimiento). R_f= 0,47 (EtOAc al 20 % en hexanos); pf= 154-156 °C; RMN-¹H δ 1,30 (t, J= 7,2 Hz, 3H), 4,27 (cd, J= 0,8, 8,2 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 6,86 (dd, J= 2,0, 8,0 Hz, 2H), 7,06 (dd, J= 1,6, 8,0 Hz, 2H), 7,14-7,29 (complejo, 11H), 8,51 (s, 1H); RMN-¹³C δ d (CH, CH₃) 13,9, 126,4 (x2), 126,5, 127,2, 128,1 (x2), 128,2, 128,4 (x4), 129,0 (x2), 131,2 (x2), 158,3; u (C, CH₂) 46,9, 63,2, 117,9, 123,1, 128,5, 130,8, 132,8, 137,6, 143,9; IR 2208, 1627, 1605 cm⁻¹; HRMS calc. para C₂₇H₄N₃O [M + H⁺] 406,1919, encontrado 406,1915.



Ejemplo 1

Este Ejemplo ilustra una síntesis de un compuesto según una realización de la invención, trans-4-(7-bencil-4-imino-5,6-difenil-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-3-il)ciclohexanol 2.

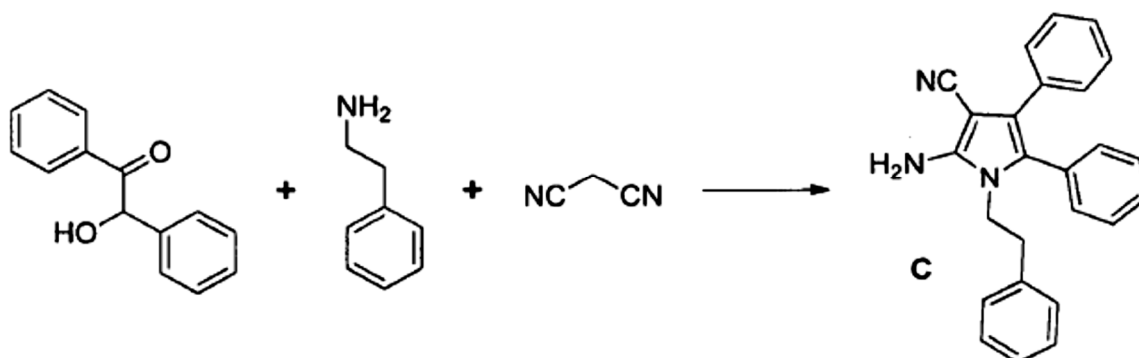
Se calentó una solución del formimidato B (40 mg, 0,099 mmol) e hidrocloreto de trans-4-aminociclohexanol (23 mg, 0,15 mmol, 1,5 equiv) en MeOH (1,5 ml) en un vial de reacción a 60 °C durante 17 h y se enfrió entonces a temperatura ambiente. La evaporación del disolvente y la purificación del residuo por HPLC de fase inversa preparativa dirigida por masa procuró el producto de pirrolopirimidina 2 en forma de un sólido tostado (16 mg, 0,034 mmol, 34 % de rendimiento). R_f= 0,39 (acetona:CH₂Cl₂ 1:1, con 1 % de Et₃N); pf= 171-185 °C; RMN-¹H δ 1,66 (m, 4H), 2,13 (d, J= 8,8 Hz, 4H), 3,70 (m, 1H), 5,14 (m, 1H), 5,28 (s, 2H), 6,45 (s a, 1H), 6,95 (m, 2H), 7,04 (d= 6,8 Hz, 2H), 7,18-7,26 (complejo, 11H), 7,80 (s, 1H); RMN-¹³C δ d (CH, CH₃) 52,0, 69,7, 126,7 (x2), 126,9, 127,3, 128,0, 128,1 (x2), 128,3 (x2), 128,4 (x2), 130,5 (x2), 131,0 (x2), 142,3; u (C, CH₂) 30,6, 34,7, 46,0, 102,9, 118,1, 130,4, 133,2, 133,6, 137,7, 142,5, 155,1; IR 1625, 1604 cm⁻¹; HRMS calc. para C₃₁H₃₁N₄O [M + H⁺] 475,2498, encontrado 475,2492.



Ejemplo de referencia 3

Este Ejemplo ilustra un procedimiento para la síntesis de 2-amino-1-fenil-4,5-difenil-1H-pirrol-3-carbonitrilo C, un intermedio en la síntesis de un compuesto según una realización de la invención.

Se calentaron benzoína (4,35 g, 20,5 mmol), fenetilamina (3,73 g, 30,7 mmol) y cloruro de cinc (0,10 g, 0,73 mmol, 0,07 equiv.) a reflujo durante 3 horas y se retiró la mezcla del baño de aceite. Se añadió a la mezcla aún caliente malononitrilo (2,71 g, 41,0 mmol, 2,0 equiv.) en DMF (3 ml). Se dejó enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h, procurando el pirrol bruto en forma de un sólido marrón oscuro. Se repartió el sólido entre agua y CH₂Cl₂ y se extrajo la fase acuosa con CH₂Cl₂ adicional (2x 50 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados con Na₂SO₄ y se retiró el disolvente a vacío procurando el producto pirrol C (3,50 g, 9,63 mmol, 47 % de rendimiento) en forma de un sólido marrón claro. R_f= 0,13 (EtOAc al 20 % en hexanos); pf= 144-149 °C; IR 3330, 2199, 1634, 1601, 1502 cm⁻¹, HRMS calc. para C₂₅H₂₃N₃ [M + H⁺] 364,1814, encontrado 364,1827.



Ejemplo 2

Este ejemplo demuestra un ensayo de alto contenido para la detección de CNP.

5 El resultado cuantitativo de este ensayo es la reducción de la prevalencia de CNP. El CNP puede detectarse en células vivas mediante la expresión de una proteína fluorescente verde (GFP) marcada en la proteína localizada en CPN, PTB. Se usó una estirpe celular PC3M que expresa establemente GFP-PTB para marcar CPN. Este método elimina la necesidad de tinción inmunofluorescente. Estudios anteriores demuestran que las proteínas de fusión se comportan de forma similar a sus contrapartidas endógenas: la sobreexpresión transitoria y estable de la proteína de fusión no tenía efectos adversos detectables sobre la morfología celular o el crecimiento celular. Después del tratamiento, se fijan las células y se contratiñen los núcleos con tinte Hoechst 33342; las células están entonces listas para análisis.

10 Se usó el sistema de imagenología fluorescente automatizado IN Cell Analyzer 1000 (GE Healthcare, Piscataway, NJ) para adquisición de imágenes automatizada. Se adquirieron las imágenes con un objetivo de 20x usando un filtro de excitación de 475/20 nm, un filtro de emisión HQ de 535/50 nm, un filtro dicróico Q50S5LP y un tiempo de exposición de 100 a 150 ms (ajustado para obtener un intervalo dinámico de ~200 a 1750), sin agrupamiento de píxeles de la cámara. El instrumento adquiría imágenes de cada pocillo de una placa de 1536 pocillos con un sistema de autoenfoco basado en láser. Para puntuar la prevalencia de CNP en una producción de alto contenido, se usó el algoritmo de análisis multidiana (MTA) (GE Healthcare, Investigator v3.5) para identificar células y gránulos individuales (CNP) en estas células. Se segmentó el núcleo mediante un método de crecimiento de región (área mínima de 50 μm^2) con sombreado de luz y retirada de ruido para permitir separar los núcleos "en contacto". Se segmentaron los gránulos en el núcleo (CNP) usando un método de sombrero de copa multiescala que mide gránulos de 1 a 2 μm de tamaño y usaba un método de enmascaramiento inteligente para identificar los límites de cada gránulo segmentado. Se optimizó y validó el algoritmo usando controles positivos y negativos (camptotecina 50 μM y DMSO, respectivamente). En particular, el algoritmo MTA permite la identificación de múltiples compartimentos y orgánulos subcelulares (o gránulos) dentro de estos compartimentos. En este caso, se utilizó la capacidad del algoritmo de identificar objetos dentro del mismo canal de color que difieren solo en tamaño o intensidad fluorescente. También, el algoritmo permite la construcción de sistemas de clasificación jerárquicos complejos, usando medidas de salida dentro del algoritmo para filtrar y definir subpoblaciones. Para este ensayo particular, se puntuaron las células positivas de CNP cuando se detectaban 1 a 3 gránulos de CNP por núcleo. Las células que contenían 0 gránulos se puntuaron como negativas de CNP y las células con >3 gránulos se supuso que eran falsos positivos (muy pocas células tienen más de 3 CNP en un plano de foco), y se puntuaron también como negativas de CNP. Se realizó el ensayo usando la secuencia expuesta en la Tabla 1.

Tabla 1

Secuencia	Valor	Parámetro	Descripción
1	Células	5 μl	750-1000 células/pocillo
2	Tiempo	4 horas	Incubar a 37 °C y 5 % de CO_2
3	Reactivo	23 nl	Concentraciones finales de 0,5 nM a 58 μM (en titulación)
4	Tiempo	16 horas	Incubar a 37 °C y 5 % de CO_2
5	Reactivo	4 μl	Etapas de fijación con paraformaldehído de pureza EM al 6 % y 0,1% de Triton X-100
6	Tiempo	20 min	Incubación a TA
7	Lavado	5 μl	Se aspiró líquido y se añadieron 5 μl de PBS

8	Lavado	5 µl	Se aspiró líquido y se añadieron 5 µl de PBS
9	Reactivo	5 µl	Tinción con PBS que contiene 1 µg/ml de Hoechst 33342
10	Detector	Fluorescencia	IN Cell 1000, objetivo de 20x

Ejemplo 3

Este ejemplo demuestra un ensayo de cuantificación de trifosfato de adenosina (ATP).

5 Se realizó este ensayo de seguimiento para medir el efecto de los compuestos sobre la salud celular midiendo los niveles de ATP (ATPLite™). ATPLite™ es un sistema de monitorización de ATP basado en la luciferasa de luciérnaga (*Photinus pyralis*). El nivel de ATP en una célula metabólicamente activa es un marcador general de su viabilidad. Los niveles de ATP a menudo se reducen durante la necrosis o apoptosis. En este ensayo, la enzima luciferasa cataliza la conversión del sustrato añadido D-luciferina en oxiluciferina y luz con ATP. Por tanto, la luz emitida es proporcional a la concentración de ATP. Para este ensayo, se proporcionó la estirpe celular indicadora PC3M altamente metastásica que expresa establemente PTB-GFP por el Profesor Sui Huang de la Northwestern University. Los medios y reactivos de cultivo celular se compraron en Invitrogen (Carlsbad, CA), ATPLite™ procedía de PerkinElmer. Se realizó el ensayo usando la secuencia expuesta en la Tabla 2.

Tabla 2

Secuencia	Valor	Parámetro	Descripción
1	Células	5 µl	2000 células/pocillo
2	Tiempo	4 horas	Incubar a 37 °C y 5 % de CO ₂
3	Reactivo	23 nl	Concentraciones finales de 0,5 nM a 58 µM (en titulación)
4	Tiempo	24 horas	Incubar a 37 °C y 5 % de CO ₂
5	Reactivo	3 µl	ATPLite
6	Tiempo	20 min	Incubación a TA
7	Centrifugado	1 min	1500 rpm
8	Detector	Luminiscencia	ViewLux

15 Ejemplo 4

Este ejemplo demuestra un ensayo de migración de células tumorales.

20 Los ensayos de migración de células tumorales de alto contenido en matrices extracelulares tridimensionales son potentes herramientas para modelizar y comprender la biología de esta etapa crítica en el proceso de metástasis. Sin embargo, la mayoría de los métodos disponibles no son susceptibles de la producción requerida por estudios de farmacología comparativa o cribado a pequeña escala. Por esta razón, los compuestos se probaron en ensayos de invasión de células tumorales de alto contenido automatizados BellBrook Labs™. Se diseñó y construyó una placa de tamaño de cribado estándar con un conjunto de microcanales embebidos con termoplástico común.

25 Se probó en las células PC3M la invasión a través de colágeno fibrilar tridimensional en la luvo Single Microchannel Plate, en presencia de niveles variables de compuestos de prueba. Se prellenaron los canales con 820 nl de colágeno de tipo I tridimensional a 1 mg/ml, a través del puerto de entrada. Después de la gelificación, se sembraron 2000 células PC3M en el puerto de salida usando medios de crecimiento (RPMI + FBS al 10 % con antibióticos) en un volumen de 5 µl. Se incubaron las células en una incubadora a 37 °C dentro de un recipiente humidificado para controlar la evaporación (Bioassay dish, Corning). Se cambiaron los medios, incluyendo compuestos de prueba, diariamente durante 5 días. Al final del ensayo, se fijaron las células y se tiñeron con Hoechst 33342, se tomaron entonces imágenes con un objetivo 4x con epifluorescencia. En estas condiciones, pueden identificarse fiablemente células en el intervalo de altura de 140 µm del microcanal. Se diluyeron en serie los compuestos de prueba por un factor de 3 para producir 10 concentraciones en el intervalo de 50 o 100 µM a 2,5 nM. Se realizaron todos los ensayos en presencia de DMSO al 0,1 %. Se efectuaron cuatro duplicados para todas las concentraciones de prueba. Cada placa tenía 4 curvas de respuesta a la dosis, así como 16 canales sin compuesto y 16 canales con blebistatina 50 µM (control positivo). Se realizó el análisis por recogida automática de cada imagen en el lado derecho del canal y contando las células mediante la función de "recuento de núcleos" en Metamorph (Molecular Devices). Se efectuó un

análisis de regresión no lineal con GraphPad Prism. Se exponen los resultados en la Tabla 3.

Tabla 3

Compuesto	CA ₅₀ de CNP (μM)	CI ₅₀ del nº de células de invasión (μM)	CI ₅₀ del puerto de salida de proliferación (μM)	Comentarios
2	0,40	3,16	3,98	Realización
Control	Inactivo	79,43	19,95	Control negativo
1	0,09	3,16	5,01	Realización

Ejemplo 5

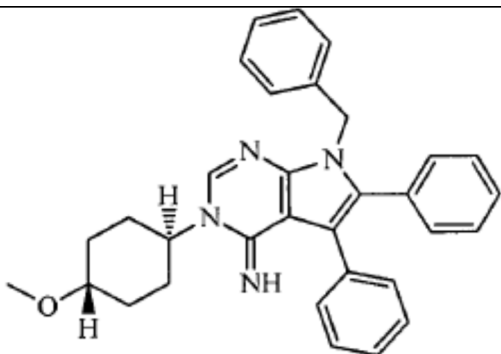
5 Este ejemplo demuestra el efecto de una realización de la invención sobre la formación de colonias de células PC3M.

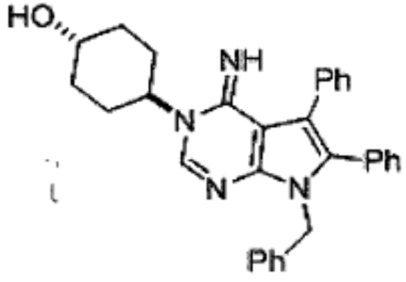
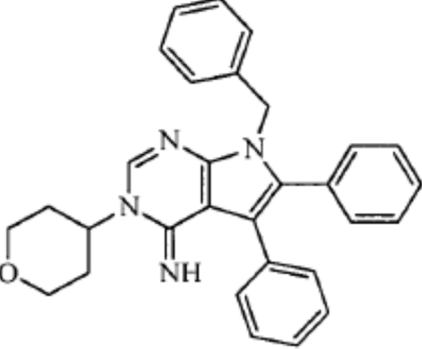
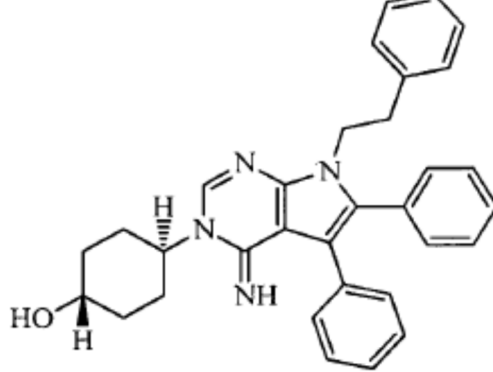
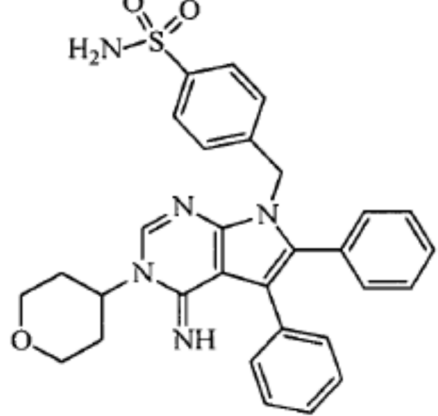
Se probó la capacidad del compuesto **2** de afectar al crecimiento independiente del anclaje en un ensayo de agar blando, un método estricto para detectar la transformación maligna de células in vitro. El compuesto **2** demostraba una reducción dependiente de la dosis del número de colonias después de 14 días a concentraciones muy bajas (3,8, 18,6 nM), sin impacto sobre la viabilidad celular. Por tanto, el compuesto exhibe una potente inhibición del crecimiento independiente del anclaje en células PC3M. El lado izquierdo de la Fig. 1 ilustra un histograma que representa el número y tamaño de colonias de agar blando PC3M después de 14 días de tratamiento con compuesto **2** a dos concentraciones diferentes. Se observó una clara reducción del número de colonias de células PC3M, particularmente a una concentración de compuesto de 18,6 nM. El lado derecho de la Fig. 1 ilustra dos imágenes representativas tomadas en dos regiones diferentes del medio de agar blando después de tratamiento con DMSO (vehículo) (fila superior), compuesto **2** a 3,8 nM (fila media) y compuesto **2** a 18,6 nM (fila inferior).

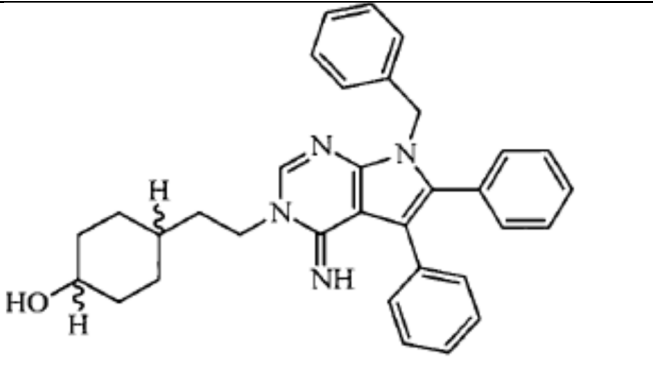
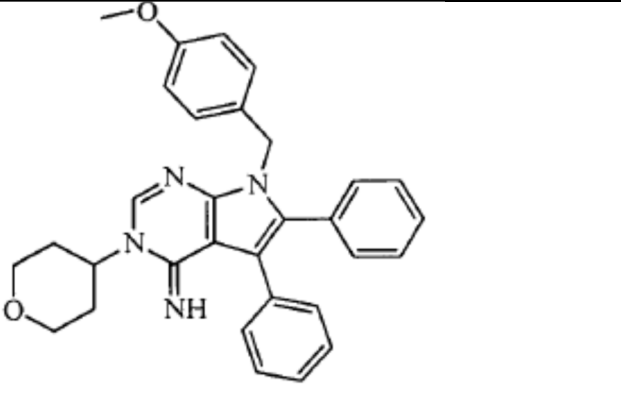
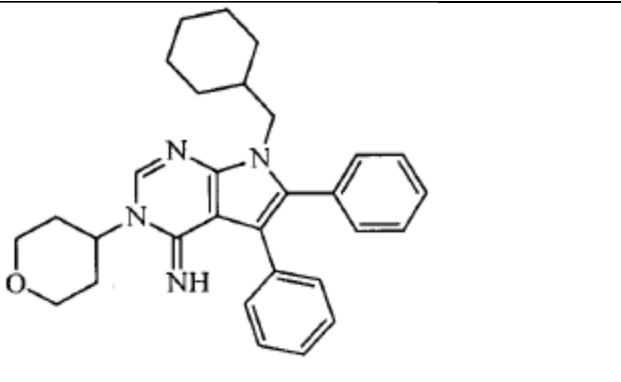
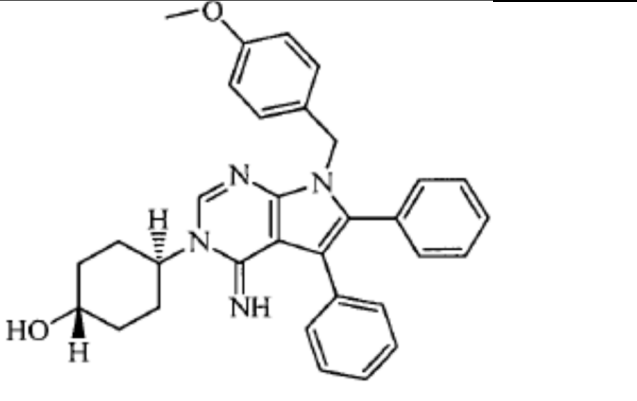
Ejemplo 6

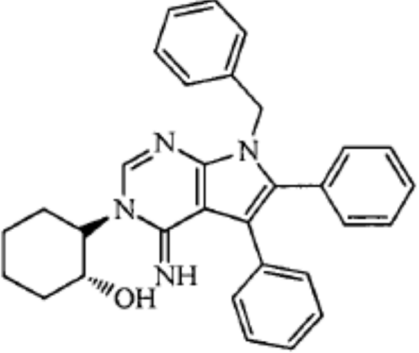
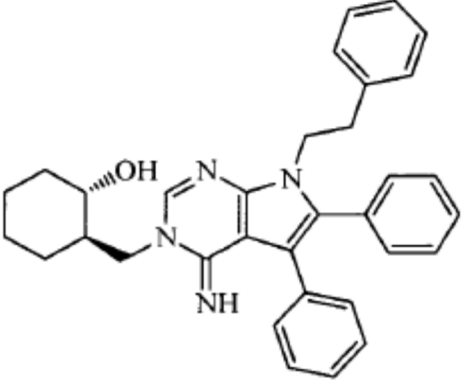
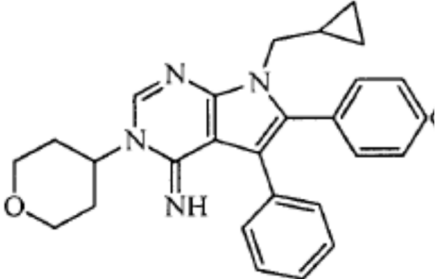
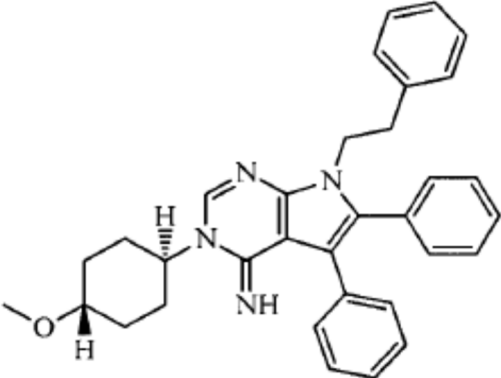
Este ejemplo demuestra las actividades biológicas de realizaciones de la invención. Se usó el ensayo de alto contenido para detección de CNP como se describe en el Ejemplo 2 para proporcionar los resultados de CA₅₀ de CNP. Se usó el ensayo de cuantificación de ATP como se describe en el Ejemplo 3 para proporcionar los resultados de CA₅₀ de ATP. Los resultados se exponen en la Tabla 4. Los compuestos 63, 68, 34, 35, 80, 100, 141, 44, 107, 45 y 50 entran fuera del alcance de las reivindicaciones y son ejemplos de referencia.

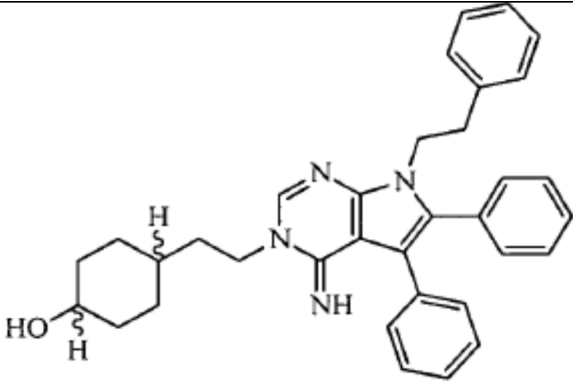
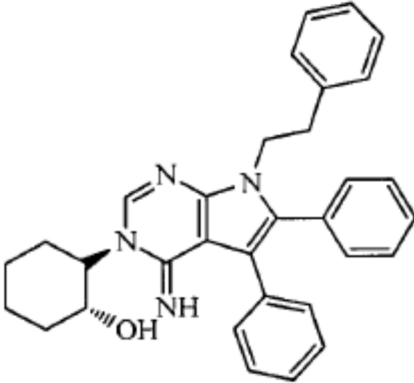
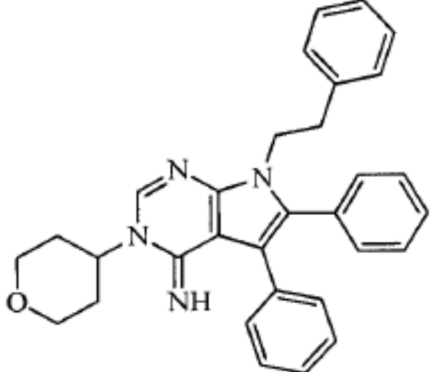
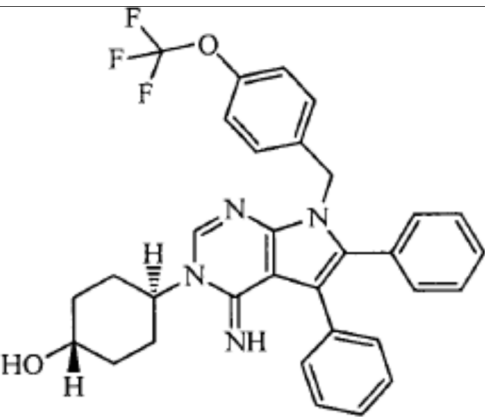
Tabla 4

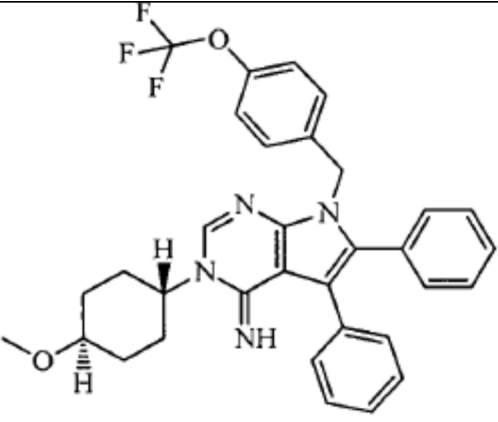
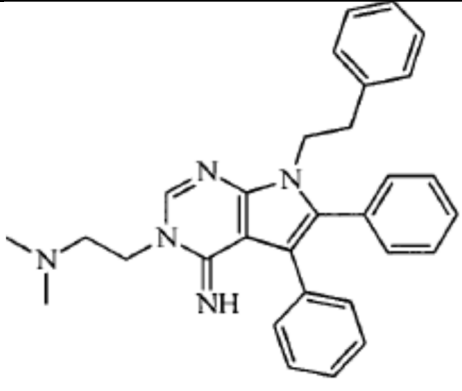
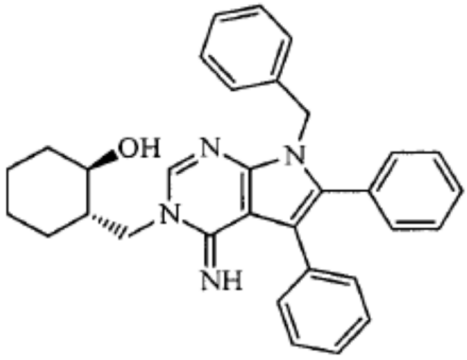
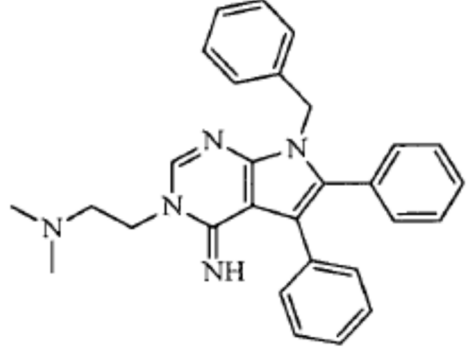
Compuesto	Estructura	CI ₅₀ de CNP (μM)	CI ₅₀ de ATP (μM)
56		0,009	19,182

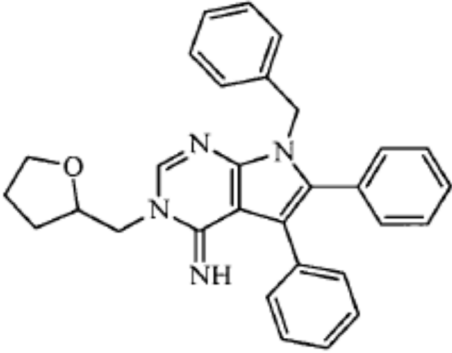
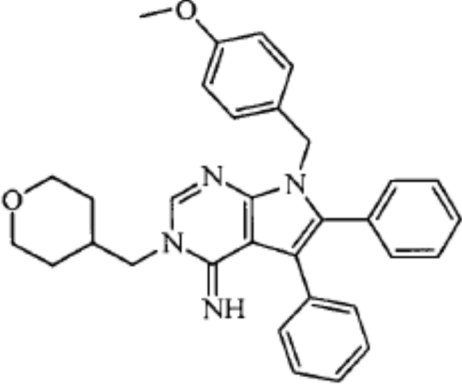
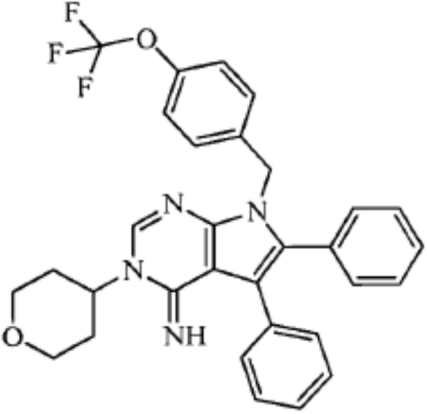
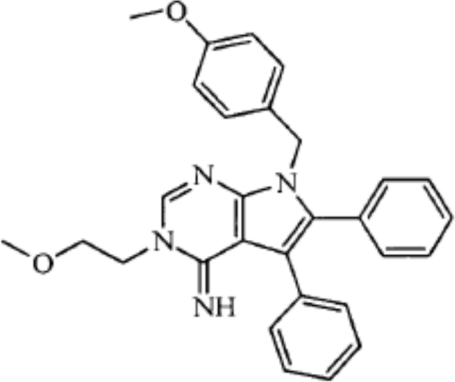
2		0,024	19,182
1		0,030	152,369
3		0,047	9,614
57		0,059	96,138

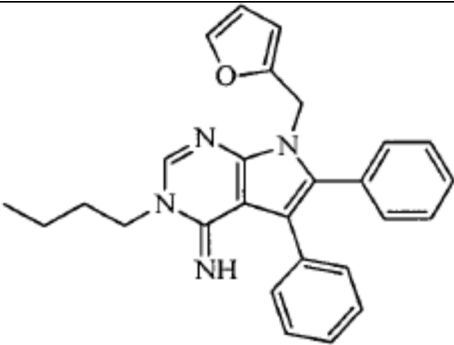
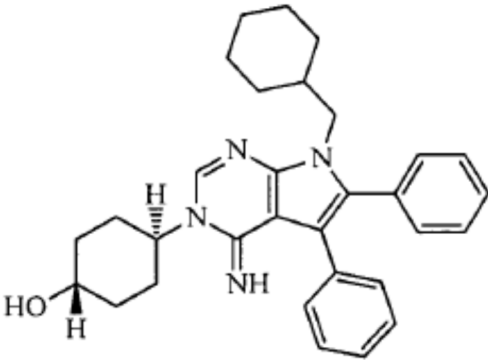
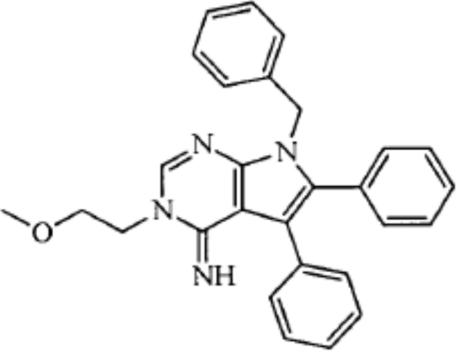
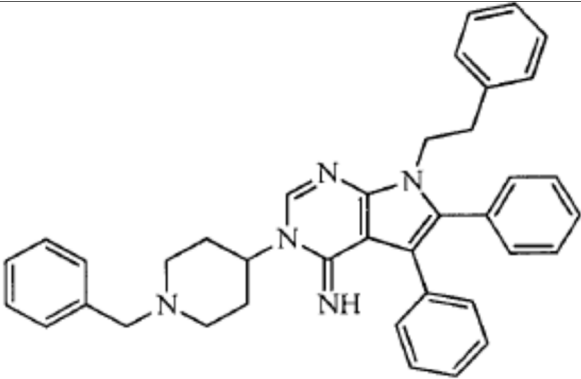
61		0,118	24,149
59		0,118	24,149
60		0,118	24,149
58		0,118	24,149

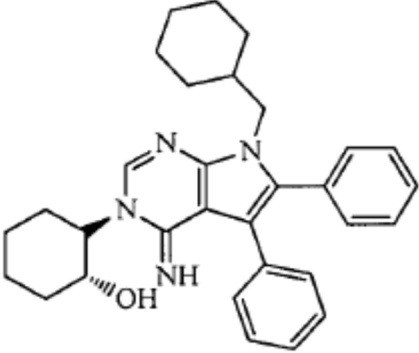
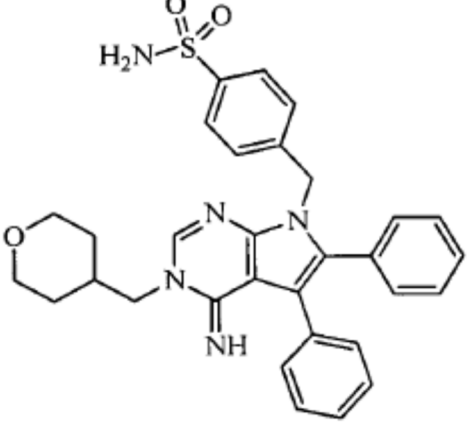
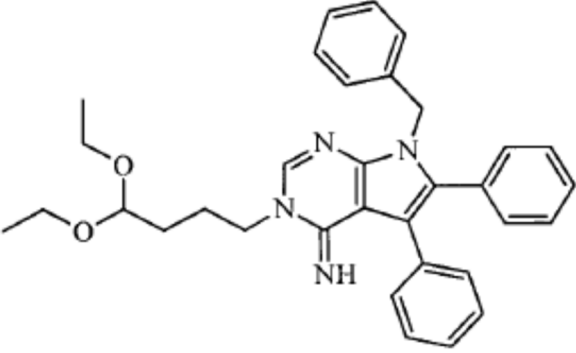
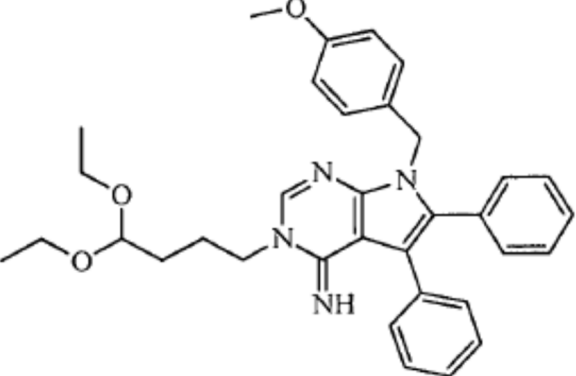
63		0,148	19,182
62		0,148	24,149
64		0,187	38,273
65		0,235	19,182

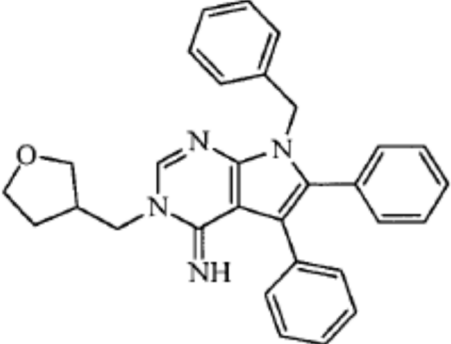
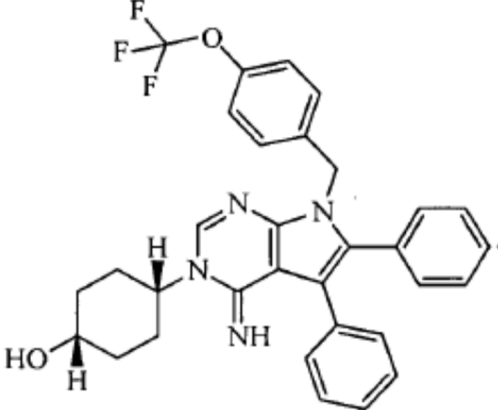
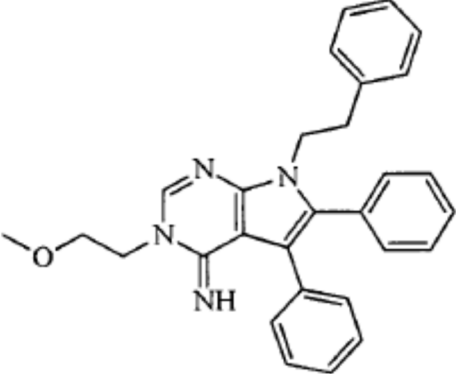
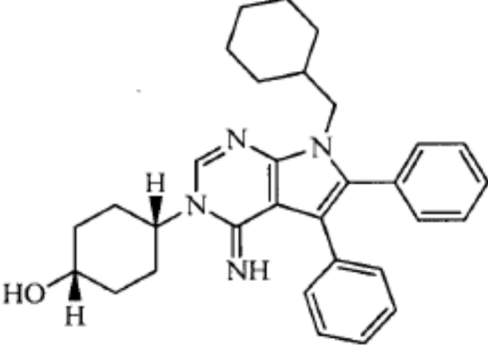
67		0,296	24,149
68		0,296	38,273
71		0,372	121,031
70		0,372	24,149

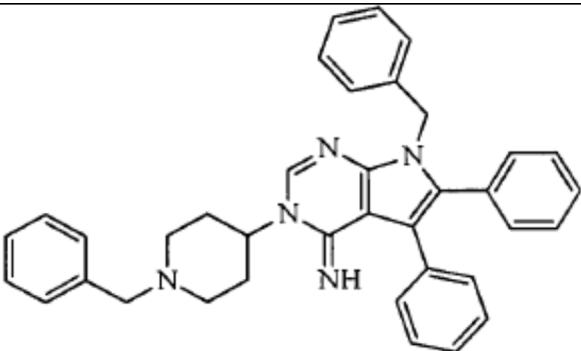
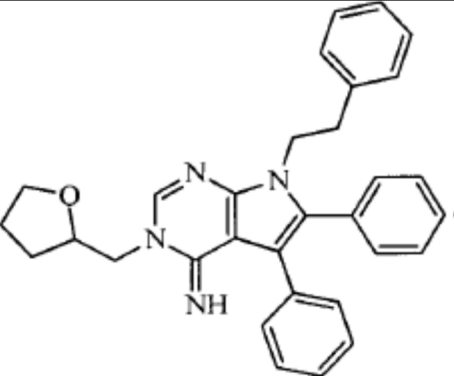
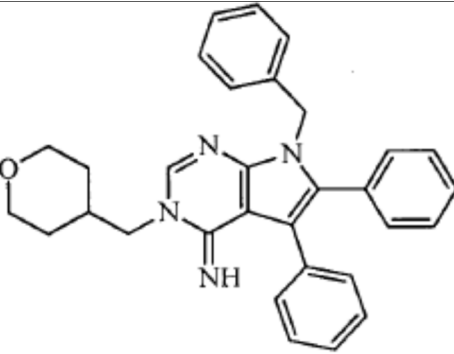
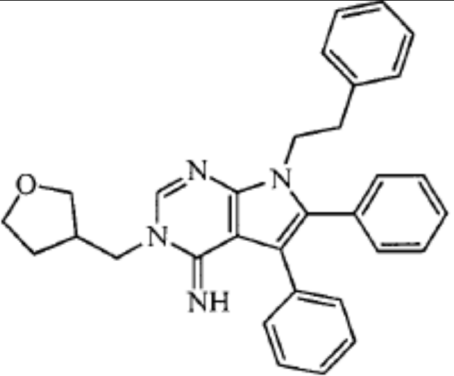
<p>69</p>		<p>0,372</p>	<p>19,182</p>
<p>20</p>		<p>0,469</p>	<p>96,138</p>
<p>73</p>		<p>0,590</p>	<p>24,149</p>
<p>19</p>		<p>0,935</p>	<p>24,149</p>

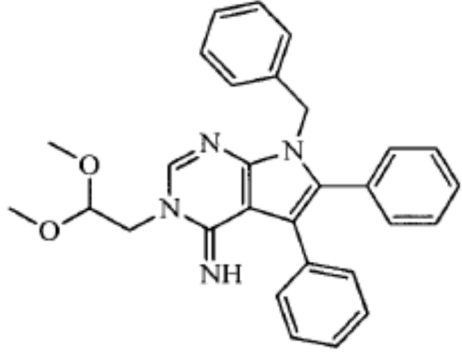
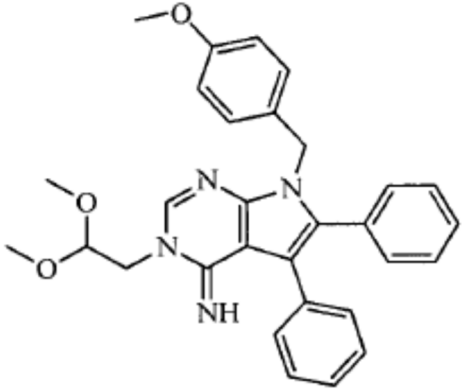
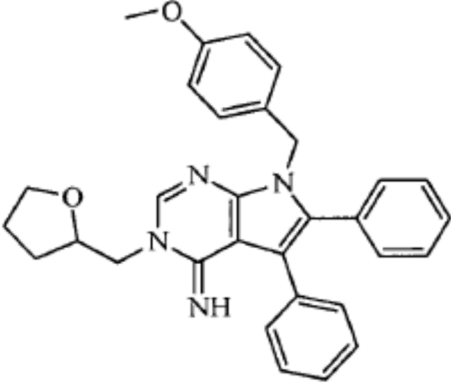
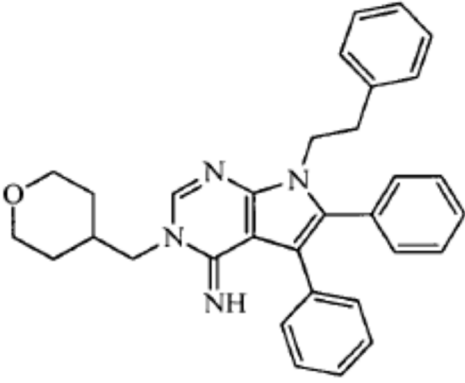
38	 <chem>C1CCOC1CN2C(=N)C(=NC2C3=CC=CC=C3)C4=CC=CC=C4CN5C=CC=C5</chem>	0,935	96,138
76	 <chem>COC1=CC=C(C=C1)CN2C(=N)C(=NC2C3=CC=CC=C3)C4=CC=CC=C4C5COCCO5</chem>	0,935	48,183
75	 <chem>FC1(F)F(C1)OC2=CC=C(C=C2)CN3C(=N)C(=NC3C4=CC=CC=C4)C5=CC=CC=C5C6COCCO6</chem>	0,935	24,149
27	 <chem>COC1=CC=C(C=C1)CN2C(=N)C(=NC2C3=CC=CC=C3)C4=CC=CC=C4C5COCCO5</chem>	1,177	24,149

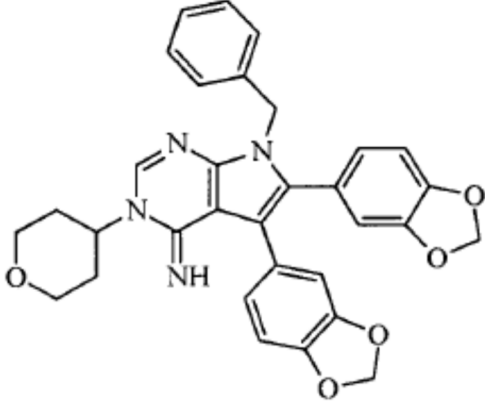
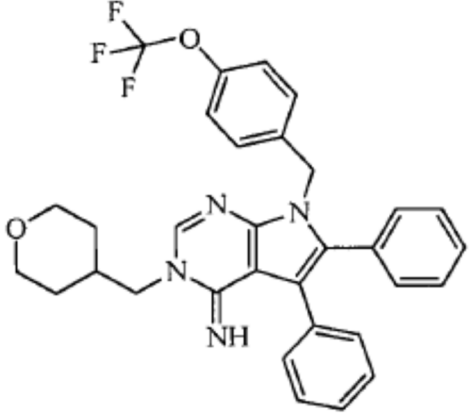
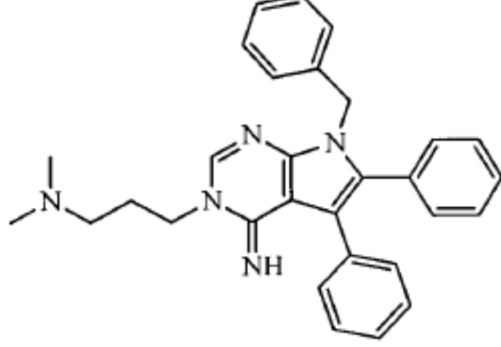
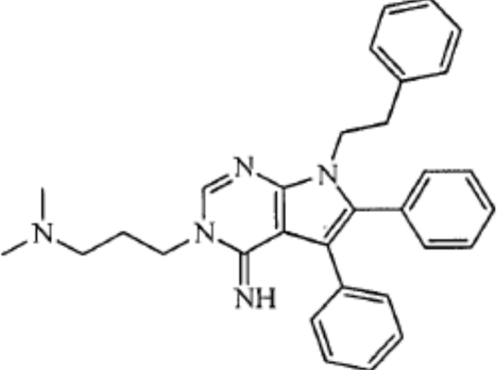
34	 <chem>CCCCN1C=NC2=C1C(=N2)C(C3=CC=CC=C3)C(C4=CC=CC=C4)CN5C=CC=CO5</chem>	1,254	20,434
78	 <chem>C1CCC(CC1)CN2C=NC3=C2C(=N3)C(C4=CC=CC=C4)C(C5=CC=CC=C5)CN6CCCCC6</chem>	1,482	30,402
25	 <chem>COCCCN1C=NC2=C1C(=N2)C(C3=CC=CC=C3)C(C4=CC=CC=C4)CN5C=CC=CC=C5</chem>	1,866	60,659
24	 <chem>C1CCN(CC1)CC2=CC=CC=C2CN3C=NC4=C3C(=N4)C(C5=CC=CC=C5)C(C6=CC=CC=C6)CC7=CC=CC=C7</chem>	1,866	24,149

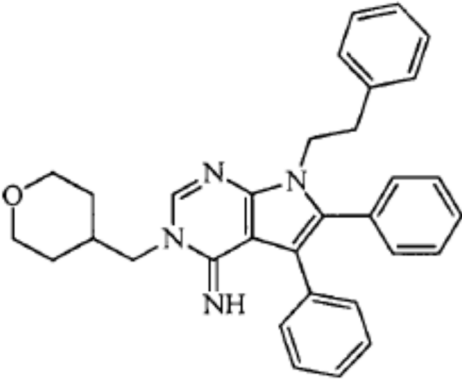
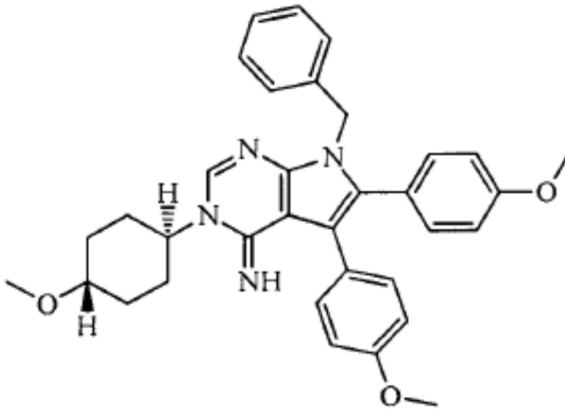
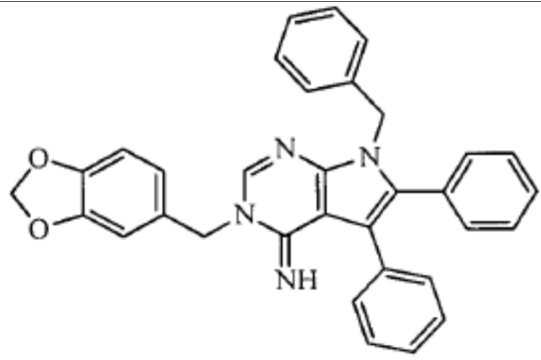
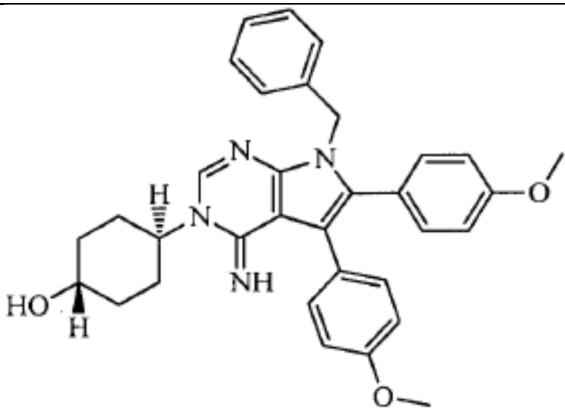
80		1,866	21,523
79		1,866	382,734
31		2,957	24,149
33		2,957	48,183

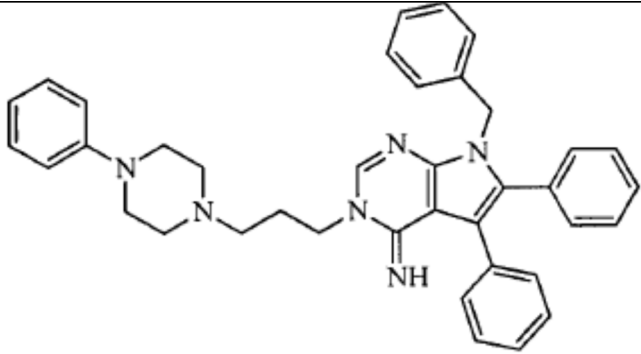
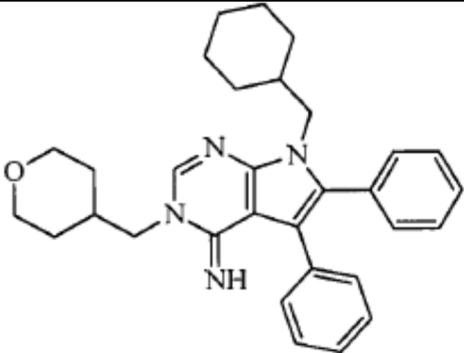
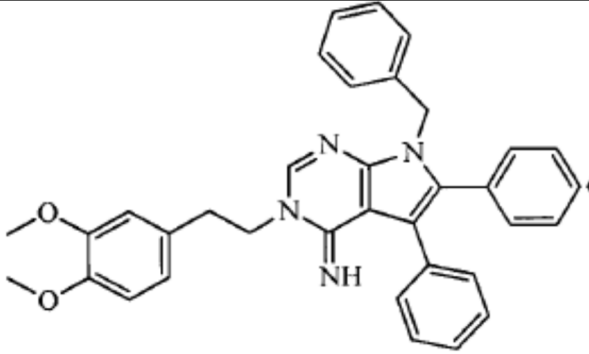
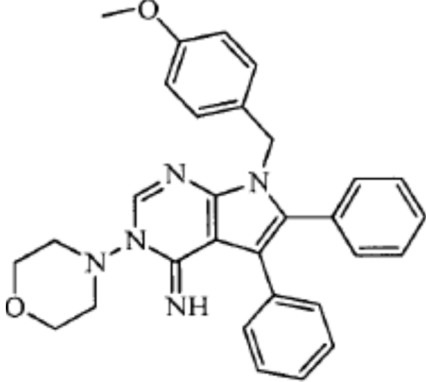
85		2,957	24,149
84		2,957	24,149
26		3,722	60,659
86		3,722	24,149

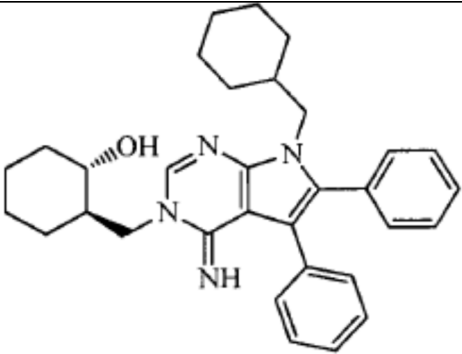
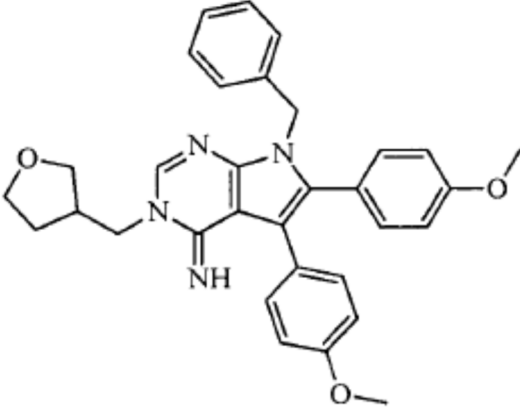
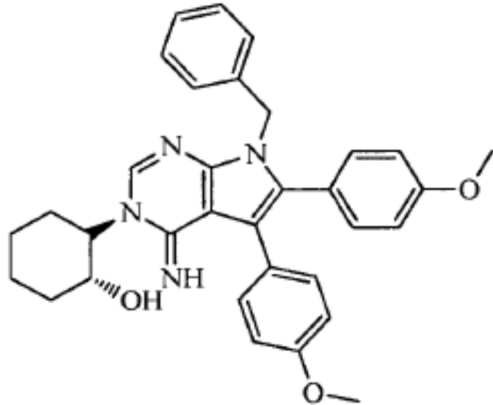
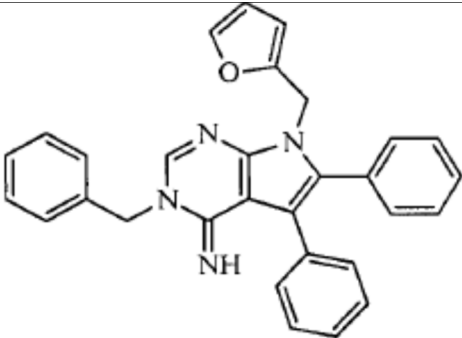
23	 <p>The structure shows a benzimidazole core. The 2-position is substituted with a piperidine ring, which is further substituted with a benzyl group. The 4 and 5 positions of the benzimidazole are substituted with phenyl groups, and the 1-position is substituted with a benzyl group.</p>	4,686	121,031
39	 <p>The structure shows a benzimidazole core. The 2-position is substituted with a tetrahydrofuran ring, which is further substituted with a benzyl group. The 4 and 5 positions of the benzimidazole are substituted with phenyl groups, and the 1-position is substituted with a benzyl group.</p>	4,686	48,183
88	 <p>The structure shows a benzimidazole core. The 2-position is substituted with a tetrahydropyran ring, which is further substituted with a benzyl group. The 4 and 5 positions of the benzimidazole are substituted with phenyl groups, and the 1-position is substituted with a benzyl group.</p>	4,686	30,402
87	 <p>The structure shows a benzimidazole core. The 2-position is substituted with a tetrahydrofuran ring, which is further substituted with a benzyl group. The 4 and 5 positions of the benzimidazole are substituted with phenyl groups, and the 1-position is substituted with a benzyl group.</p>	4,686	60,659

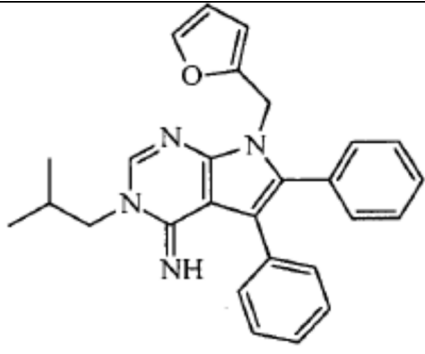
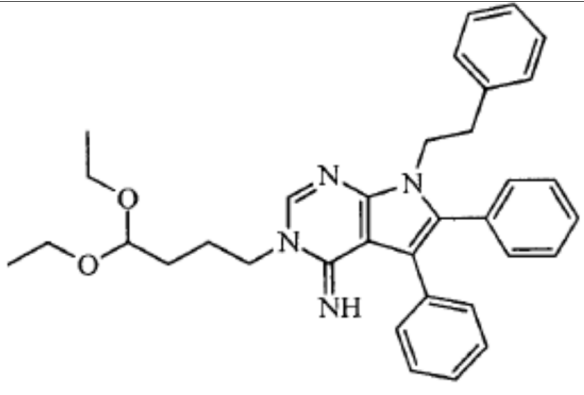
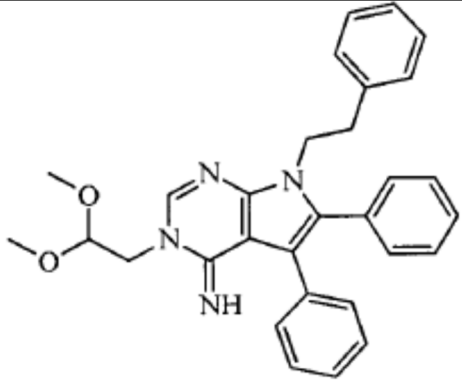
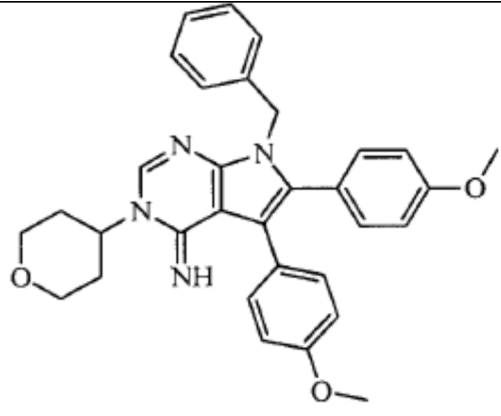
		5,899	38,273
30		5,899	24,149
40		5,899	38,273
90		5,899	76,365

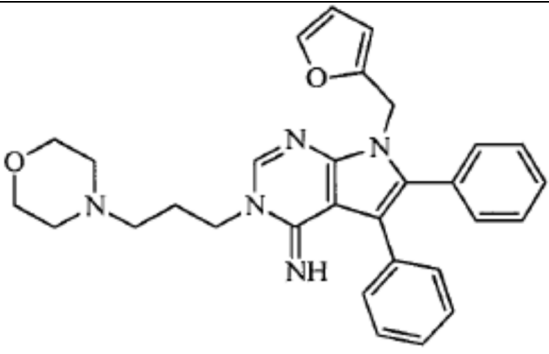
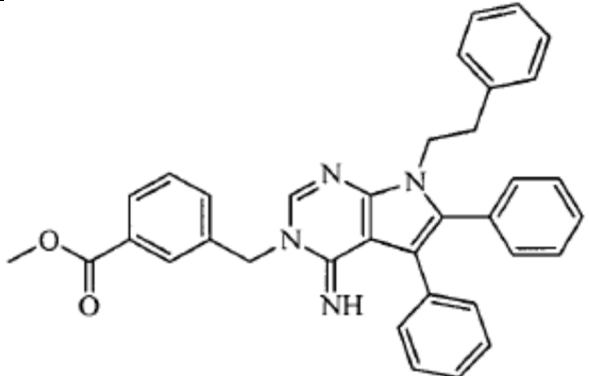
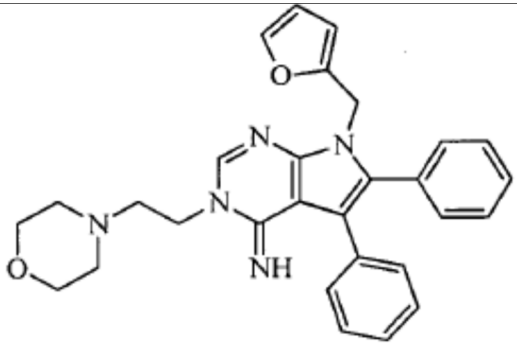
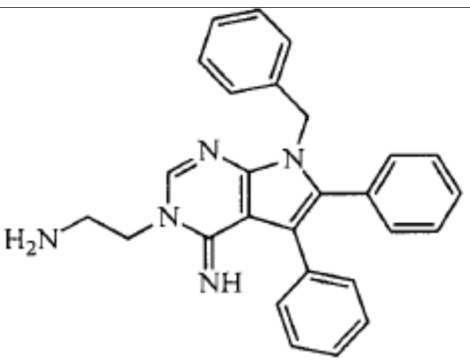
89		5,899	24,149
91		5,899	30,402
21		7,427	24,149
22		7,427	24,149

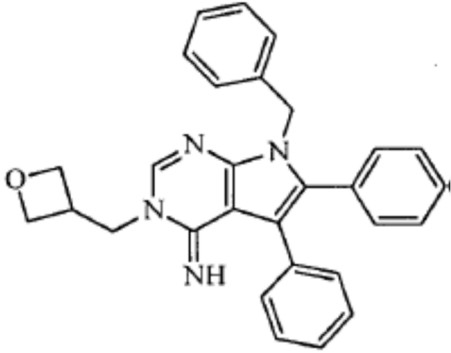
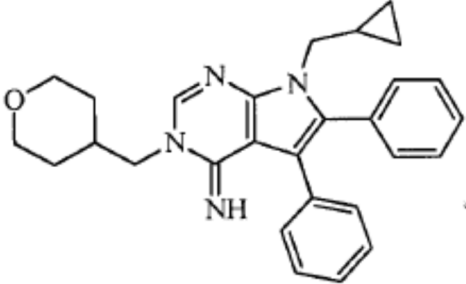
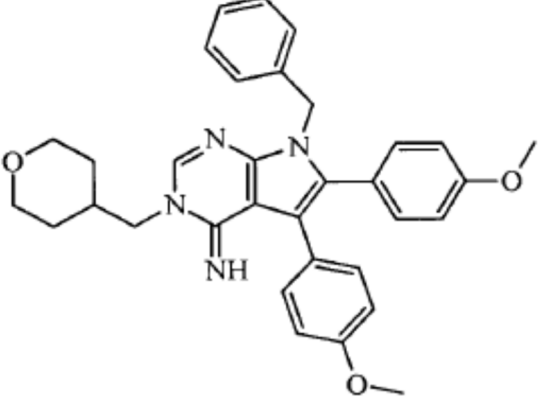
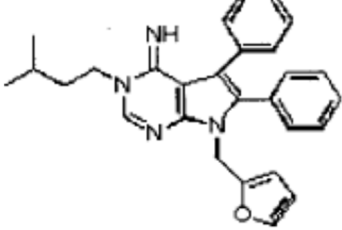
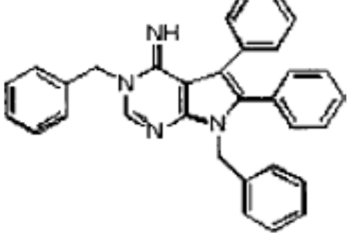
<p>97</p>		<p>7,427</p>	<p>96,138</p>
<p>93</p>		<p>7,427</p>	<p>60,659</p>
<p>45</p>		<p>9,350</p>	<p>24,149</p>
<p>94</p>		<p>9,350</p>	<p>24,149</p>

96		11,770	30,402
95		11,770	24,149
46		14,818	24,149
98		14,818	121,031

101		14,818	24,149
97		14,818	48,183
100		14,818	48,183
102		15,785	25,725

141		15,785	20,434
32		18,655	24,149
29		23,485	27,096
104		23,485	30,402

107		25,018	32,386
53		29,566	24,419
50		Inactivo	32,386
18		Inactivo	76,365

126		Inactivo	96,138
134		Inactivo	60,659
123		Inactivo	24,149
35		Inactivo	19,87
44		15,79	19,87

Los términos “comprende”, “tiene”, “incluye” y “contiene” han de considerarse como términos de extremos abiertos (es decir que significan “incluyendo pero sin limitación”) a menos que se señale otra cosa. La enumeración de intervalos de valores en la presente memoria se pretende simplemente que sirva como método abreviado para hacer referencia

5 individualmente a cada valor separado que entre dentro del intervalo, a menos que se indique otra cosa en la presente memoria, y cada valor separado se incorpora a la memoria descriptiva como si se enumerara individualmente en la presente memoria. Todos los métodos descritos en la presente memoria pueden efectuarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique otra cosa en la presente memoria o se contradiga de otro modo claramente por el contexto. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o del vocabulario ejemplar (tal como "tal como") proporcionado en la presente memoria se pretende simplemente que ilustre mejor la invención y no plantea una limitación sobre el alcance de la invención a menos que se reivindique otra cosa. Ningún vocabulario de la memoria descriptiva debería considerarse como indicativo de cualquier elemento no reivindicado esencial para la práctica de la invención.

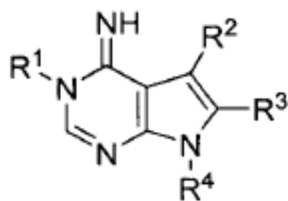
10 Se describen realizaciones preferidas de esta invención en la presente memoria, incluyendo el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la invención. Las variaciones de esas realizaciones preferidas pueden resultar evidentes para los especialistas en la materia tras la lectura de la descripción anterior. Los inventores esperan que los especialistas empleen tales variaciones según sea apropiado, y los inventores pretenden que la invención se practique de otro modo que el descrito específicamente en la presente memoria. Por consiguiente, la invención incluye todas las modificaciones y equivalentes de la materia en cuestión enumerada en las reivindicaciones adjuntas a la misma según permita la ley aplicable. Además, cualquier combinación de los elementos anteriormente descritos en todas las variaciones posibles de los mismos está englobada por la invención, a menos que se indique otra cosa en la presente memoria o se contradiga de otro modo claramente por el contexto.

15 Esta invención se realizó con apoyo del gobierno según R01 GM078555, Ro3 MH082371 y U54 HG005031 concedidas por los Institutos Nacionales de Salud. El gobierno tiene ciertos derechos sobre la invención.

20

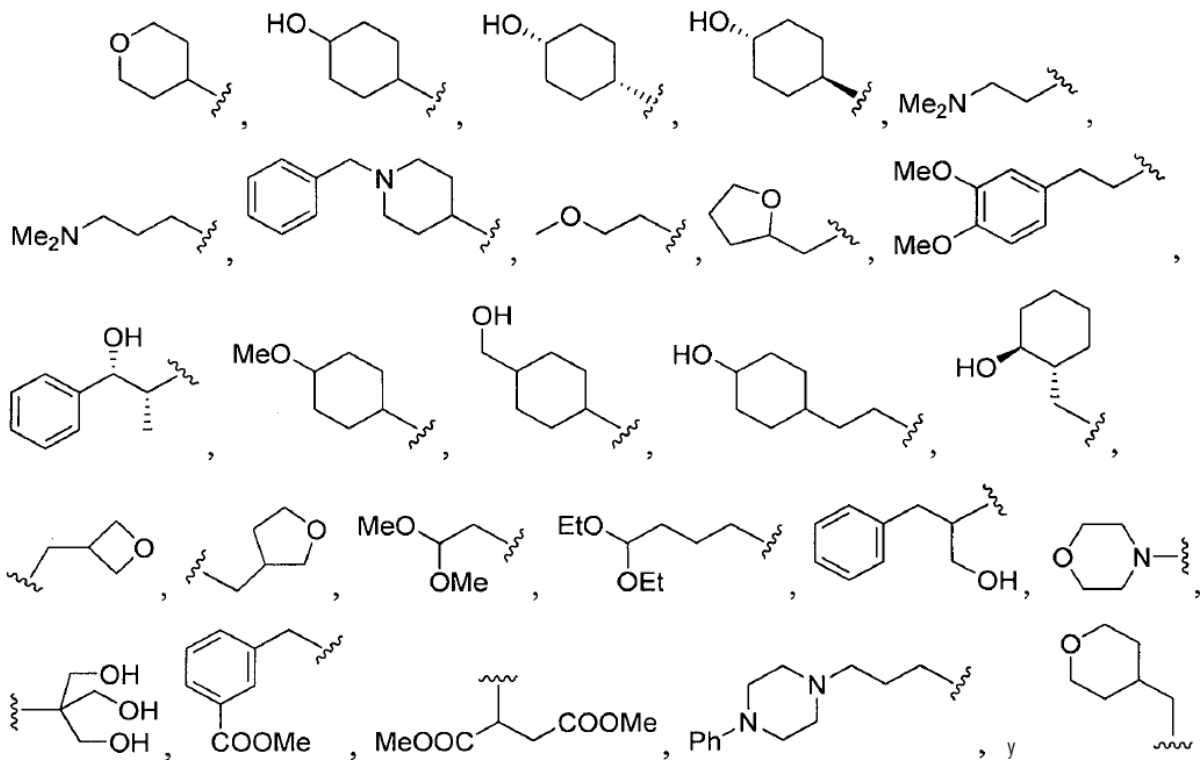
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



(I)

en la que R¹ se selecciona del grupo consistente en uno de los siguientes:



5

R² es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, alquilo, hidroxialquilo, tioalquilo, alcoxi, alquiltioalquilo, alcoxycarbonilo, alquiltiocarbonilo, amino, alquilamino, dialquilamino y alquilcarbonilo,

10

R³ es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, alquilo, hidroxialquilo, tioalquilo, alcoxi, alquiltioalquilo, alcoxycarbonilo, alquiltiocarbonilo, amino, alquilamino, dialquilamino y alquilcarbonilo,

R⁴ se selecciona de alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo y heteroarilalquilo,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,

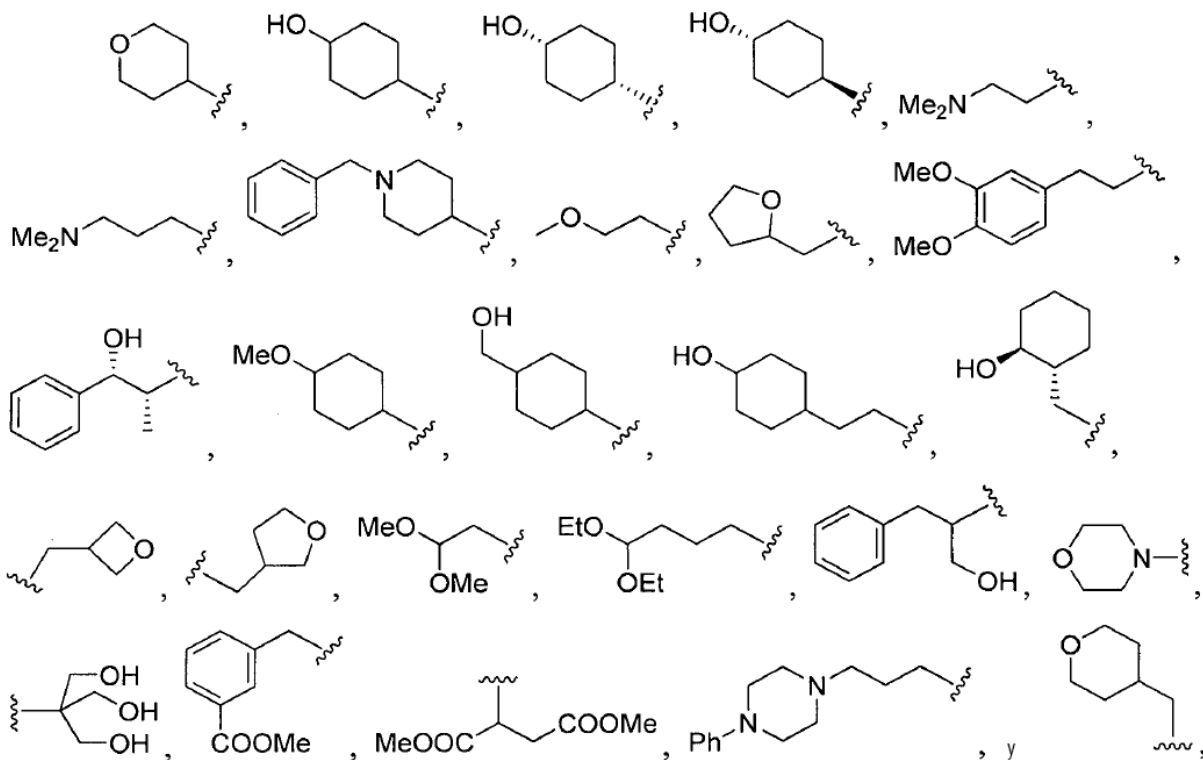
15

en los que R⁴ está opcionalmente sustituido en la porción arilo y/o alquilo con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, alquilo, hidroxialquilo, tioalquilo, alcoxi, alquiltioalquilo, alcoxycarbonilo, alquiltiocarbonilo, amino, alquilamino, dialquilamino, aminosulfonilo, hidroxilo, perfluoroalcoxi, alquilendioxi y alquilcarbonilo.

20

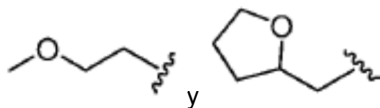
2. El compuesto o sal de la reivindicación 1, en el que R⁴ es bencilo, en el que el anillo de fenilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en alquilo, hidroxialquilo, tioalquilo, alcoxi, alquiltioalquilo, alcoxycarbonilo, alquiltiocarbonilo, amino, alquilamino, dialquilamino, aminosulfonilo, hidroxilo, perfluoroalcoxi y alquilcarbonilo.

3. El compuesto o sal de la reivindicación 1 o 2, en el que R² es fenilo, R³ es fenilo, R⁴ es bencilo y R¹ se selecciona del grupo consistente en los siguientes:

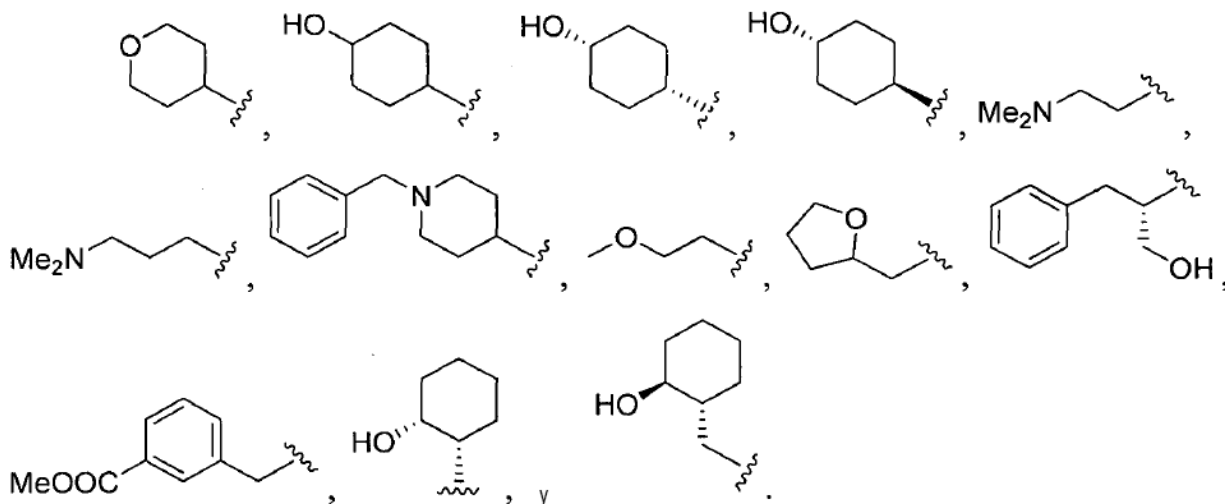


5

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R⁴ es 4-metoxibencilo, R² es fenilo, R³ es fenilo y R¹ se selecciona del grupo consistente en los siguientes

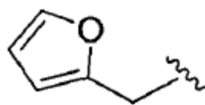


5. El compuesto o sal de la reivindicación 1, en el que R⁴ es feniletilo, R² es fenilo, R³ es fenilo y R¹ se selecciona del grupo consistente en los siguientes

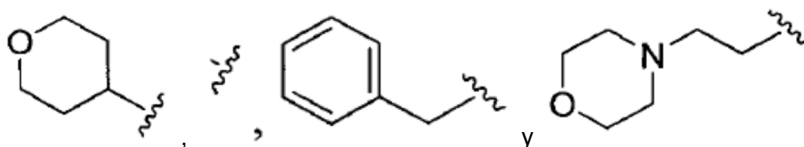


10

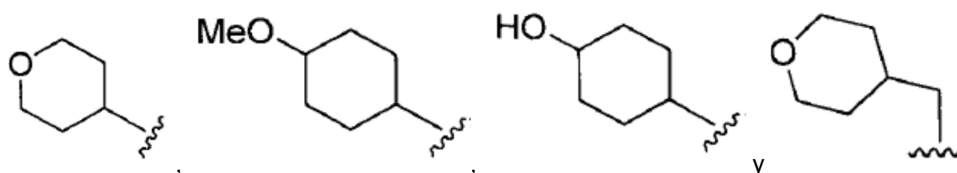
6. El compuesto o sal de la reivindicación 1, en el que R² es fenilo, R³ es fenilo, R⁴ es



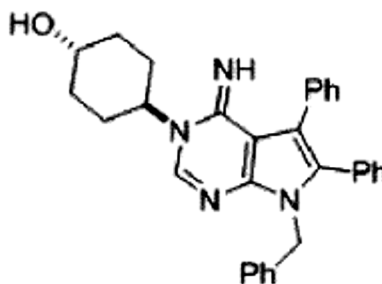
y R¹ se selecciona del grupo consistente en los siguientes:



5 7. El compuesto o sal de la reivindicación 1, en el que R⁴ se selecciona de 4-aminosulfonilbencilo, 4-trifluorometoxibencilo, 4-metoxibencilo y ciclopropilmetilo, y en el que R¹ se selecciona de los siguientes:



8. El compuesto o sal de la reivindicación 1, en el que el compuesto es:



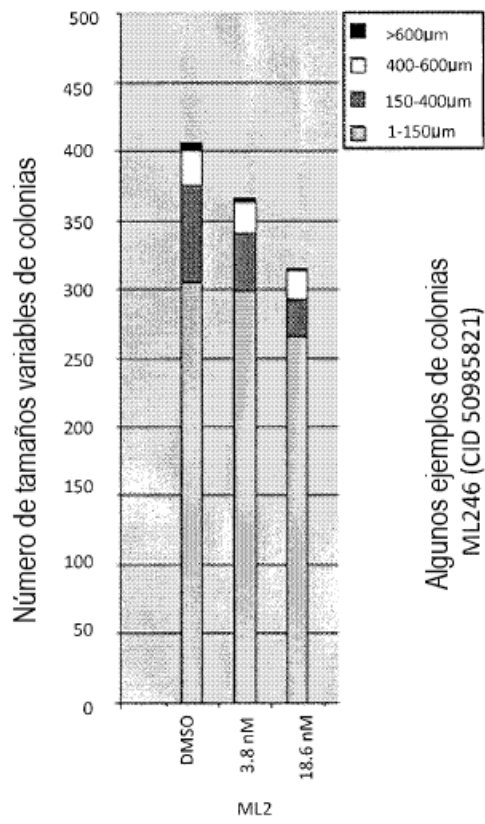
10 9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 y un portador farmacéuticamente aceptable.

10. Un compuesto o sal de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para uso en el tratamiento de cáncer en un mamífero, en el que el cáncer es un cáncer metastásico seleccionado del grupo consistente en cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de cerebro, cáncer de próstata y cáncer pancreático.

15 11. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para uso para (a) desestabilizar un compartimento perinucleolar en una célula, (b) reducir la prevalencia de compartimentos perinucleolares en una célula, (c) reducir los niveles de ATP producidos por células cancerosas metastásicas en un mamífero aquejado de cáncer metastásico, (d) reducir la formación de colonias de células cancerosas en un mamífero o (e) reducir la migración de células cancerosas en un mamífero.

20 12. El compuesto o sal de la reivindicación 10, que es para uso en combinación con el uso de un agente quimioterapéutico o tratamiento de radiación.

FIG. 1



Algunos ejemplos de colonias
ML246 (CID 50985821)

