



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 301 194**

(51) Int. Cl.:  
**C07D 471/00** (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **98908442 .1**

(86) Fecha de presentación : **26.01.1998**

(87) Número de publicación de la solicitud: **0964864**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **22.12.1999**

(54) Título: **Pirido 2,3-d pirimidinas y 4-aminopirimidinas como inhibidores de la proliferación celular.**

(30) Prioridad: **05.02.1997 US 37220 P**  
**16.12.1997 US 69743 P**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.06.2008**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.06.2008**

(73) Titular/es: **Warner-Lambert Company L.L.C.**  
**235 East 42nd Street**  
**New York, New York 10017, US**

(72) Inventor/es: **Boschelli, Diane, Harris;**  
**Dobrusin, Ellen, Myra;**  
**Doherty, Annette, Marian;**  
**Fattaey, Ali;**  
**Fry, David, W.;**  
**Barvian, Mark, R.;**  
**Trumpp-Kallmeyer, Susanne, A. y**  
**Wu, Zhipei**

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 301 194 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

Pirido 2,3-d pirimidinas y 4-aminopirimidinas como inhibidores de la proliferación celular.

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere a piridopirimidinas y 4-aminopirimidinas que inhiben las enzimas quinasa dependiente de ciclina y quinasa mediada por factor de crecimiento y que, por lo tanto, son útiles para tratar trastornos proliferativos celulares tales como aterosclerosis, reestenosis y cáncer.

10 **Compendio de la técnica relacionada**

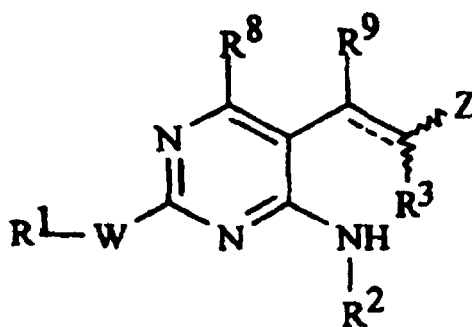
Las quinasas del ciclo celular son enzimas naturales implicadas en la regulación del ciclo celular (Meijer L., "Chemical Inhibitors of Cyclin-Dependent Kinases", Progress in Cell Cycle Research, 1995;1:351-363). Las enzimas típicas incluyen las quinasas dependientes de ciclina (cdk) cdk1, cdk2, cdk4, cdk5, cdk6 y la quinasa wee-1. Se ha demostrado que una actividad aumentada o una activación temporalmente anómala de estas quinasas ocasiona el desarrollo de tumores humanos y otros trastornos proliferativos tales como reestenosis. Los compuestos que inhiben cdk, bien al bloquear la interacción entre una ciclina y su quinasa asociada o bien al unirse a e inactivar la quinasa, provocan la inhibición de la proliferación celular y son así útiles para tratar tumores u otras células que proliferan anormalmente.

Varios compuestos que inhiben cdk han demostrado actividad antitumoral tanto preclínica como clínica. Por ejemplo, el flavopiridol es un flavonoide que se ha observado que es un potente inhibidor de varios tipos de células de cáncer de mama y pulmón (Kaur, *et al.*, J. Natl. Cancer Inst., 1992;84:1736-1740; Int. J. Oncol., 1996;9:1143-1168). Se ha demostrado que el compuesto inhibe cdk2 y cdk4. La olomoucina [2-(hidroxietilamino)-6-bencilamino-9-metil-purina] es un potente inhibidor de cdk2 y cdk5 (Vesely *et al.*, Eur. J. Biochem., 1994;224:771-786) y se ha observado que inhibe la proliferación de aproximadamente 60 líneas de células tumorales humanas diferentes usadas por the National Cancer Institute (NCI) para explorar nuevas terapias para el cáncer (Abraham y otros, Biology of the Cell, 1995;83:105-120).

A pesar del progreso que se ha conseguido, continúa la búsqueda de compuestos de bajo peso molecular que tengan biodisponibilidad oral y sean útiles para tratar una gran diversidad de tumores humanos y otros trastornos proliferativos tales como reestenosis y aterosclerosis.

35 **Compendio de la invención**

Esta invención proporciona piridopirimidinas y 4-aminopirimidinas que son útiles para tratar trastornos proliferativos celulares, tales como cáncer, aterosclerosis, reestenosis, psoriasis y endometriosis. Se ha descubierto un grupo de 7,8-dihidro-2-(amino y tio)-7-(oxo, tio, o imino)-pirido[2,3-d]pirimidinas y 4-aminopirimidinas que son potentes inhibidores de quinasas dependientes de ciclina (cdk). Los compuestos se sintetizan fácilmente y pueden administrarse por una diversidad de vías, incluyendo las vías oral y parenteral, y tienen poca o ninguna toxicidad. Los compuestos de la invención son miembros de la clase de compuestos de Fórmula II:



en la que:

W es NH, S, SO o SO<sub>2</sub>;

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> incluyen alquilo, cicloalquilo, alquilo sustituido y cicloalquilo sustituido;

R<sup>3</sup> incluye hidrógeno, alquilo y halógeno;

X es O, S o NH;

R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son independientemente hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, amino y similares; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Esta invención también proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula II junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos dentro del alcance de la presente invención son inhibidores de las quinasas dependientes de ciclina tales como cdk2, cdc2 y cdk4. Algunos de los compuestos de la presente invención también inhiben las tirosina quinasas mediadas por factor de crecimiento, incluyendo el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y factor de crecimiento epidérmico (EGF). Como inhibidores de tirosina quinasas dependientes de ciclina, así como mediadas por factor de crecimiento, los compuestos de la presente invención son útiles para controlar trastornos proliferativos tales como cáncer, psoriasis, proliferación celular del músculo liso vascular asociada con aterosclerosis y estenosis y reestenosis vascular post-quirúrgica en mamíferos.

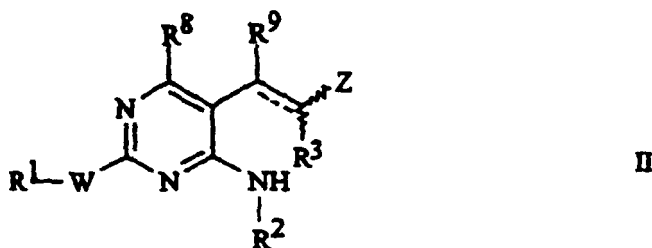
Una realización adicional de esta invención es un método para tratar a sujetos que padecen enfermedades provocadas por la proliferación celular. El método implica inhibir la proliferación de células tumorigénicas de origen epitelial y la proliferación del músculo liso vascular y/o la migración celular, mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I a un sujeto que necesita tratamiento.

Una realización adicional de esta invención es un método para tratar a sujetos que padecen enfermedades provocadas por virus tumorales de ADN tales como herpesvirus.

## Descripción detallada de la invención

Se ha descubierto una nueva clase de compuestos que son potentes inhibidores de quinasas dependientes de ciclina (cdk) y que son agentes útiles para tratar sujetos que padecen enfermedades provocadas por la proliferación celular anormal. Los compuestos dentro del alcance de la presente invención son inhibidores de las quinasas dependientes de ciclina, tales como cdk2, cdc2 y cdk4. Como inhibidores de quinasas dependientes de ciclina, los compuestos de la presente invención son útiles para controlar trastornos proliferativos, tales como cáncer, psoriasis, proliferación del músculo liso vascular asociada con aterosclerosis, estenosis vascular post-quirúrgica y reestenosis en mamíferos.

Los compuestos de la invención comprenden los de fórmula II:



en la que:

la línea de puntos representa un doble enlace opcional de estereoquímica trans o cis;

W es NH, S, SO o SO<sub>2</sub>;

Z es COOR<sup>7</sup>, CN, CHO, CH<sub>2</sub>OR<sup>7</sup>, CH<sub>2</sub>NHR<sup>7</sup>, CONHR<sup>7</sup> o COR<sup>7</sup>;

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en H,

(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>Ar, donde el grupo arilo se selecciona entre fenilo o naftilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>heteroarilo, donde el grupo heteroarilo tiene de 4 a 9 átomos en el anillo, 1 a 4 de los cuales se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en O, S y N, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>heterociclo, que se refiere a un grupo cicloalquilo como se define a continuación, que tiene al menos un heteroátomo seleccionado entre O, S y NR<sub>2</sub>,

alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>,

cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>,

alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, y

alquino C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>,

donde n es 0, 1, 2 ó 3 y los grupos

## ES 2 301 194 T3

$(\text{CH}_2)_n\text{Ar}$ , alquilo, cicloalquilo, alqueno y alquino están opcionalmente sustituidos con grupos de

$\text{NR}^4\text{R}^5$ ,

$\text{N}(\text{O})\text{R}^4\text{R}^5$ ,

$\text{NR}^4\text{R}^5\text{R}^6\text{Y}$ ,

fenilo,

fenilo sustituido con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ , alcoxi  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ , tio, tio-alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ , hidroxilo,  $-\text{COOR}^4$ , amino de la fórmula  $-\text{NR}^4\text{R}^5$  y  $\text{T}(\text{CH}_2)_m\text{QR}^4$  o  $\text{T}(\text{CH}_2)_m\text{CO}_2\text{R}^4$ , donde m es de 1 a 8, T es O, S,  $\text{NR}^4$ ,  $\text{N}(\text{O})\text{R}^4$ ,  $\text{NR}_4\text{R}^6\text{Y}$  o  $\text{CR}^4\text{R}^5$ , Q es O, S,  $\text{NR}^5$ ,  $\text{N}(\text{O})\text{R}^5$  o  $\text{NR}^5\text{R}^6\text{Y}$ , hidroxilo,

alcoxi  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ ,

fenoxi,

tiol,

tio-alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$

halo,

$\text{COR}^4$ ,

$\text{CO}_2\text{R}^4$ ,

$\text{CONR}^4\text{R}^5$ ,

$\text{SO}_2\text{NR}^4\text{R}^5$ ,

$\text{SO}_3\text{R}^4$ ,

$\text{PO}_3\text{R}^4$ ,

aldehído,

nitrilo,

nitro,

heteroariloxi, donde el grupo heteroarilo es como se ha definido anteriormente,

$\text{T}(\text{CH}_2)_m\text{QR}^4$ ,  $\text{C}(\text{O})\text{T}(\text{CH}_2)_m\text{QR}^4$ ,  $\text{NHC}(\text{O})\text{T}(\text{CH}_2)_m\text{QR}^4$  o  $\text{T}(\text{CH}_2)_m\text{CO}_2\text{R}^4$ , donde m es de 1 a 8, T es O, S,  $\text{NR}^4$ ,  $\text{N}(\text{O})\text{R}^4$ ,  $\text{NR}^4\text{R}^5\text{Y}$  o  $\text{CR}^4\text{R}^5$ , Q es O, S,  $\text{NR}^5$ ,  $\text{N}(\text{O})\text{R}^5$  o  $\text{NR}^5\text{R}^6\text{Y}$

$\text{R}^3$  es H o alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$

$\text{R}^4$  y  $\text{R}^5$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en

hidrógeno,

alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$

alquilo sustituido como se ha definido anteriormente

alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_6$ ,

alquino  $\text{C}_2\text{-C}_6$ ,

$(\text{CH}_2)_r\text{Ar}$  como se ha definido anteriormente

cicloalquilo  $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ ,

o

## ES 2 301 194 T3

R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman opcionalmente un anillo que tiene de 3 a 7 átomos de carbono y dicho anillo contiene opcionalmente 1, 2 ó 3 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en

5 nitrógeno,

nitrógeno sustituido, donde la expresión “nitrógeno sustituido” se refiere al nitrógeno que tiene el grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>Ph, donde n es 1, 2 ó 3,

10 oxígeno, y

azufre;

R<sup>6</sup> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>;

15 Y es un contraión halo;

R<sup>7</sup> es uno de H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> o fenilo;

20 R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son independientemente

H,

alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>,

25 NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>,

N(O)R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>,

30 NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>R<sup>6</sup>Y,

hidroxi,

alcoxi como se ha definido anteriormente,

35 tiol,

tioalquilo como se ha definido anteriormente,

40 halo,

COR<sup>4</sup>, CO<sup>2</sup>R<sup>4</sup>,

45 CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, SO<sub>2</sub>NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, SO<sub>3</sub>R<sup>4</sup>, PO<sub>3</sub>R<sup>4</sup>, CHO, CN o NO<sub>2</sub>;

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Preferiblemente, los compuestos de fórmula II tienen un doble enlace trans entre C<sub>5</sub> y C<sub>6</sub>, más preferiblemente siendo el grupo R<sup>1</sup> fenilo, y aún más preferiblemente siendo los dos grupos R<sup>1</sup> fenilo y siendo el grupo R<sup>2</sup> alquilo o cicloalquilo.

También se prefieren compuestos de fórmula II en la que R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son los dos hidrógeno.

Los ejemplos de grupos NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup> incluyen amino, metilamino, di-isopropilamino, acetilamino, propionilamino, 3-aminopropilamino, 3-etilaminobutilamino, 3-di-n-propilamino-propilamino, 4-dietilaminobutilamino y 3-carboxipropionilamino. R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> pueden tomarse junto con el nitrógeno al que están unidos para formar un anillo que tiene de 3 a 7 átomos de carbono y 1, 2 ó 3 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en nitrógeno, nitrógeno sustituido, oxígeno y azufre. Los ejemplos de tales grupos NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup> cíclicos incluyen pirrolidinilo, piperazinilo, 4-metilpiperazinilo, 4-bencilpiperazinilo, piridinilo, piperidinilo, pirazinilo, morfolinilo y similares.

A no ser que se indique expresamente otra cosa, las siguientes definiciones se cumplen a lo largo de esta descripción.

El término “alquilo” se refiere a un radical de hidrocarburo lineal o ramificado que tiene de 1 a 10 átomos de carbono (a menos que se indique otra cosa) e incluye, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, n-hexilo y similares.

## ES 2 301 194 T3

El término “halógeno” incluye flúor, cloro, bromo y yodo.

El término “alqueno” se refiere a radicales de hidrocarburo lineales y ramificados que tienen de 2 a 6 átomos de carbono y un doble enlace e incluye etenilo, 3-buten-1-ilo, 2-etenilbutilo, 3-hexen-1-ilo y similares.

El término “alquino” se refiere a radicales de hidrocarburo lineales y ramificados que tienen de 2 a 6 átomos de carbono y un triple enlace e incluye etinilo, 3-butin-1-ilo, propinilo, 2-butin-1-ilo, 3-pentin-1-ilo y similares.

El término “cicloalquilo” se refiere a un grupo hidrocarbilo monocíclico o policíclico tal como ciclopropilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclodecilo, ciclobutilo, adamantilo, norpinanilo, decalinilo, norbornilo, ciclohexilo y ciclopentilo. Tales grupos pueden estar sustituidos con grupos tales como hidroxilo, ceto y similares. También se incluyen anillos en los que 1 a 3 heteroátomos reemplazan a carbonos. Tales grupos se denominan “heterociclilo”, que significa un grupo cicloalquilo que también tiene al menos un heteroátomo seleccionado entre O, S o NR<sub>2</sub>, siendo ejemplos oxiranol, pirrolidinilo, piperidilo, tetrahidropirano y morfolina.

El término “alcoxi” se refiere a los grupos alquilo mencionados anteriormente unidos a través de oxígeno, cuyos ejemplos incluyen metoxi, etoxi, isopropoxi, *tert*-butoxi y similares. Además, alcoxi se refiere a poliéteres como -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-OH<sub>3</sub> y similares.

Los grupos “alcanoilo” son grupos alquilo unidos a través de un grupo carbonilo, es decir, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>-C(O)-. Estos grupos incluyen formilo, acetilo, propionilo, butirilo e isobutirilo.

El término “acilo” se refiere a un grupo alquilo o arilo (Ar) unido a través de un grupo carbonilo, es decir, R-C(O)-. Por ejemplo, acilo incluye un alcanoilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, incluyendo alcanoilo sustituido, en el que la porción alquilo puede estar sustituida con NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup> o un grupo carboxílico o heterocíclico. Los grupos acilo típicos incluyen acetilo, benzilo y similares.

Los grupos alquilo, alqueno, alcoxi y alquino descritos anteriormente están opcionalmente sustituidos, preferiblemente con 1 a 3 grupos seleccionados entre NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, fenilo, fenilo sustituido, tio-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxilo, carboxilo, alcocarbonilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo, nitrilo, cicloalquilo y un anillo carbocíclico o un anillo heterocíclico de 5 ó 6 miembros que tiene 1 ó 2 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, nitrógeno sustituido, oxígeno y azufre. La expresión “nitrógeno sustituido” significa que el nitrógeno tiene el grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>Ph, donde n es 1, 2 ó 3. También está comprendida la sustitución perhalo y polihalo.

Los ejemplos de grupos alquilo sustituido incluyen 2-aminoetilo, pentacloroetilo, trifluorometilo, 2-dietilaminometilo, 2-dimetilaminopropilo, etoxycarbonilmetilo, 3-fenilbutilo, metanilsulfanilmetilo, metoximetilo, 3-hidroxipentilo, 2-carboxibutilo, 4-clorobutilo, 3-ciclopropilpropilo, pentafluoroetilo, 3-morfolinopropilo, piperazinilmetilo y 2-(4-metilpiperazinil)etilo.

Los ejemplos de grupos alquino sustituidos incluyen 2-metoxietinilo, 2-etilsulfanyetinilo, 4-(1-piperazinil)-3-(butinilo), 3-fenil-5-hexinilo, 3-dietilamino-3-butinilo, 4-cloro-3-butinilo, 4-ciclobutil-4-hexenilo y similares.

Los grupos alcoxi sustituidos típicos incluyen aminometoxi, trifluorometoxi, 2-dietilaminoetoxi, 2-etoxycarboniletoxi, 3-hidroxipropoxi, 6-carboxihexiloxi y similares.

Además, los ejemplos de grupos alquilo, alqueno y alquino sustituidos incluyen dimetilaminometilo, carboximetilo, 4-dimetilamino-3-buten-1-ilo, 5-etilmetilamino-3-pentin-1-ilo, 4-morfolinobutilo, 4-tetrahidropirimidilbutilo, 3-imidazolidin-1-ilpropilo, 4-tetrahidrotiazol-3-ilbutilo, fenilmetilo, 3-clorofenilmetilo y similares.

Los términos Ar y arilo se refieren a grupos aromáticos no sustituidos y sustituidos. Los grupos heteroarilo tienen de 4 a 9 átomos en el anillo, 1 a 4 de los cuales se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en O, S y N. Los grupos heteroarilo preferidos tienen 1 ó 2 heteroátomos en un anillo aromático de 5 ó 6 miembros. Se incluyen sistemas de anillos aromáticos mono- y bi-cíclicos en la definición de arilo y heteroarilo. Los grupos arilo y heteroarilo típicos incluyen fenilo, 3-clorofenilo, 2,6-dibromofenilo, piridilo, 3-metilpiridilo, benzotienilo, 2,4,6-tribromofenilo, 4-etilbenzotienilo, furanilo, 3,4-dietilfuranilo, naftilo, 4,7-dicloronaftilo, pirrol, pirazol, imidazol, tiazol y similares.

Los grupos Ar preferidos son fenilo y fenilo sustituido con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo, alcoxi, tio, tioalquilo, hidroxilo, -COOR<sup>7</sup>, amino de la fórmula -NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup> y T(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>QR<sup>4</sup>, o T(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>, donde m es de 1 a 6, T es O, S, NR<sup>4</sup>, N(O)R<sup>4</sup>, NR<sup>4</sup>R<sup>6</sup>Y o CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, Q es O, S, NR<sup>5</sup>, N(O)R<sup>5</sup> o NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>Y, donde R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son como se han descrito anteriormente, y R<sup>7</sup> es alquilo o alquilo sustituido, por ejemplo, metilo, tricloroetilo, difenilmetilo y similares. Los grupos alquilo y alcoxi pueden estar sustituidos como se ha definido anteriormente. Por ejemplo, grupos típicos son carboxialquilo, alcocarbonilalquilo, hidroxialquilo, hidroxialcoxi y alcóxialquilo.

Los compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas, incluyendo las formas hidratadas, son equivalentes a las formas no solvatadas y se pretende que estén englobadas dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos de fórmula II pueden formar adicionalmente formulaciones farmacéuticamente aceptables que comprenden sales, incluyendo, pero sin limitación, sales de adición de ácidos y/o bases, disolventes y N-óxidos de un compuesto de fórmula II. Esta invención también proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula II junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable del mismo. Todas estas formas están dentro de la presente invención.

Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula II incluyen sales derivadas de ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, bromhídrico, yodhídrico, fosforoso y similares, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos, tales como ácidos alifáticos mono- y di-carboxílicos, ácidos alcanóicos sustituidos con fenilo, ácidos hidroxialcanóicos, ácidos alcanodioicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos, etc. Por lo tanto, tales sales incluyen sulfato, piro sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, nitrato, fosfato, monohidrogenofosfato, dihidrogenofosfato, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, propionato, caprilato, isobutirato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, mandelato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, ftalato, bencenosulfonato, toluenosulfonato, fenilacetato, citrato, lactato, maleato, tartrato, metanosulfonato y similares. También se contemplan las sales de aminoácidos tales como arginato, gluconato, galacturonato y similares; véase, por ejemplo, Berge y otros, "Pharmaceutical Salts," *J. of Pharmaceutical Science*, 1977;66:1-19.

Las sales de adición de ácidos de los compuestos básicos se preparan poniendo en contacto la forma de base libre con una cantidad suficiente del ácido deseado para producir la sal de manera convencional. La forma de base libre puede regenerarse poniendo en contacto la forma salina con una base y aislando la base libre de manera convencional. Las formas de base libre difieren algo de sus respectivas formas salinas en ciertas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a sus respectivas bases libres para los fines de la presente invención.

Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables están formadas con metales o aminas, tales como hidróxidos de metales alcalinos y alcalinotérreos, o de aminas orgánicas. Ejemplos de metales utilizados como cationes son sodio, potasio, magnesio, calcio y similares. Ejemplos de aminas adecuadas son N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilendiamina, N-metilglucamina y procaina; véase, por ejemplo, Berge y otros, anteriormente.

Las sales de adición de bases de los compuestos ácidos se preparan poniendo en contacto la forma de ácido libre con una cantidad suficiente de la base deseada para producir la sal de la manera convencional. La forma de ácido libre se puede regenerar poniendo en contacto la forma salina con un ácido y aislando el ácido libre de manera convencional. Las formas de ácido libre difieren algo de sus respectivas formas salinas en ciertas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a sus respectivos ácidos libres para los fines de la presente invención.

Los compuestos de la presente invención son útiles para tratar un cáncer (por ejemplo, leucemia y cáncer de pulmón, mama, próstata y piel, tal como melanoma) y otras enfermedades proliferativas incluyendo, pero sin limitación, psoriasis, HSV, VIH, reestenosis y aterosclerosis. Para utilizar un compuesto de la presente invención para tratar un cáncer, a un paciente que tiene cáncer se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéuticamente aceptable que comprende un compuesto de la invención.

Una realización adicional de esta invención es un método para tratar sujetos que padecen enfermedades provocadas por la proliferación de células del músculo liso vascular. Los compuestos dentro del alcance de la presente invención inhiben eficazmente la proliferación y la migración de células del músculo liso vascular. El método implica inhibir la proliferación y/o la migración del músculo liso vascular mediante la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula II a un sujeto que necesita tratamiento.

Los compuestos de la presente invención se pueden formular y administrar en una amplia variedad de formas farmacéuticas orales y parenterales, incluyendo la administración transdérmica y rectal. Será reconocible por los especialistas en la técnica que las siguientes formas farmacéuticas pueden comprender como componente activo, o bien un compuesto de la fórmula II o una sal o solvato correspondientes farmacéuticamente aceptables de un compuesto de la fórmula II.

Una realización adicional de esta invención es una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula II junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable del mismo. Para preparar composiciones farmacéuticas con los compuestos de la presente invención, los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser bien sólidos o bien líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, cápsulas planas, supositorios y gránulos dispersables. Un vehículo sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes aromatizantes, aglutinantes, conservantes, agentes disgregantes de comprimidos o un material de encapsulación.

En los polvos, el vehículo es un sólido finamente dividido tal como talco o almidón que está en una mezcla con el componente activo finamente dividido. En los comprimidos, el componente activo se mezcla con el vehículo que tiene las necesarias propiedades de aglutinación en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y tamaño deseado.

## ES 2 301 194 T3

Las formulaciones de esta invención contienen preferiblemente de aproximadamente 5% a aproximadamente 70% o más del compuesto activo. Los vehículos adecuados incluyen carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao y similares. Una forma preferida para el uso oral son las cápsulas, que incluyen la formulación del compuesto activo con un material de encapsulación como vehículo que proporciona una cápsula en la que el componente activo, con o sin otros vehículos, está rodeado por un vehículo que está así en asociación con él. De forma similar, están incluidas las cápsulas planas y las pastillas para chupar. Los comprimidos, polvos, cápsulas, píldoras, cápsulas planas y pastillas para chupar pueden utilizarse como formas de dosificación sólidas adecuadas para la administración oral.

Para preparar supositorios, se funde en primer lugar una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácido graso o manteca de cacao y se dispersa en la misma el componente activo homogéneamente, por ejemplo mediante agitación. La mezcla homogénea fundida se vierte a continuación en moldes de tamaño conveniente, se deja enfriar y de esta manera solidifica.

Las preparaciones en forma líquida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones, tales como soluciones en agua o agua/propilenglicol. Para la inyección parenteral, las preparaciones líquidas pueden formularse en solución en una solución acuosa de polietilenglicol, solución salina isotónica, glucosa acuosa al 5% y similares. Las soluciones acuosas adecuadas para uso oral se pueden preparar al disolver el componente activo en agua y añadir colorantes, sabores, agentes estabilizantes y espesantes adecuados según se desee. Las suspensiones acuosas adecuadas para uso oral pueden elaborarse al dispersar el componente activo finamente dividido en agua y mezclar con un material viscoso, tal como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y otros agentes de suspensión bien conocidos.

También se incluyen preparaciones en forma sólida que están previstas para convertirse, inmediatamente antes de su uso, en preparaciones en forma líquida para la administración oral. Estas formas líquidas incluyen disoluciones, suspensiones, y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, colorantes, sabores, estabilizantes, tampones, edulcorantes sintéticos y naturales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes y similares. Pueden utilizarse ceras, polímeros, micropartículas y similares para preparar formas de dosificación de liberación sostenida. Además, pueden emplearse bombas osmóticas para aportar el compuesto activo uniformemente a lo largo de un período prolongado.

Las preparaciones farmacéuticas de la invención están preferiblemente en forma de dosificación unitaria. En dicha forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades discretas de la preparación, tales como comprimidos envasados, cápsulas y polvos en viales o ampollas. Además, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula, comprimido, cápsula plana o pastilla para chupar en sí mismos, o puede ser un número apropiado de una cualquiera de estas formas envasadas.

La dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula II será generalmente de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día. Las dosis típicas para adultos serán de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 800 mg al día. La cantidad de componente activo en una preparación de dosis unitaria puede variarse o ajustarse de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg, preferiblemente de aproximadamente 0,5 mg a 100 mg, de acuerdo con la aplicación particular y la potencia del componente activo. Si se desea, la composición también puede contener otros agentes terapéuticos compatibles. A un sujeto que necesite tratamiento con un compuesto de fórmula I y/o II se le administra una dosificación de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 al día, de forma individual o en múltiples dosis durante un período de 24 horas.

Los compuestos de la presente invención pueden unirse a e inhibir la actividad de proteínas que tienen la capacidad de fosforilar otras proteínas, tales como cdk, PDGFr, FGFr, c-src y EGFr-FL. Las cdk forman complejos con ciclinas, y estos complejos fosforilan proteínas clave que permiten a las células progresar a lo largo del ciclo celular (Meijer L., Progress in Cell Cycle Research, 1995;1:351-363). Los compuestos de esta invención inhiben esta fosforilación y por lo tanto pueden usarse como agentes antiproliferativos para el tratamiento de cáncer y/o reestenosis y otras enfermedades proliferativas.

Debido a su actividad contra cdk y otras quinasas, los compuestos de la presente invención también son herramientas de investigación útiles para estudiar el mecanismo de acción de esas quinasas, tanto *in vitro* como *in vivo*.

Aunque las formas de la invención en la presente memoria constituyen realizaciones actualmente preferidas, son posibles muchas otras. No se pretende en la presente memoria mencionar todas las posibles formas equivalentes o ramificaciones de la invención. Se entiende que los términos usados en la presente memoria son meramente descriptivos en vez de limitantes, y los especialistas en la técnica apreciarán que esos diversos cambios pueden realizarse sin apartarse del espíritu o el alcance de la invención.

Los siguientes compuestos ilustran realizaciones específicas proporcionadas por la presente invención, y los compuestos que se indican a continuación están entre las realizaciones preferidas.



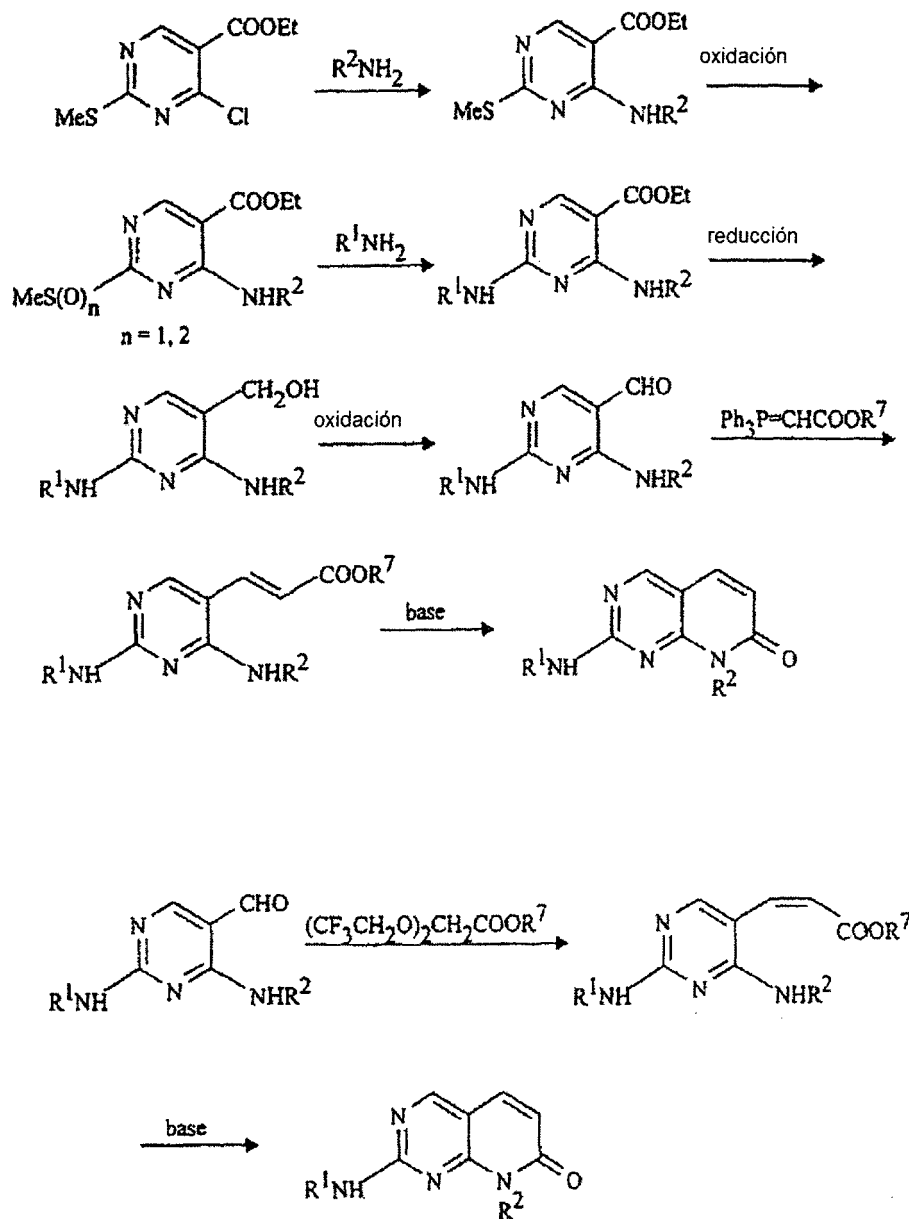
Los compuestos de fórmula II pueden prepararse de acuerdo con las síntesis expuestas en los Esquemas 1 a 9, *infra*. Aunque estos esquemas a menudo indican estructuras exactas, los especialistas en la técnica apreciarán que los métodos se aplican ampliamente a compuestos análogos de fórmula II, prestando la consideración apropiada a la protección y desprotección de grupos funcionales reactivos por métodos convencionales para la técnica de la química orgánica. Por ejemplo, los grupos hidroxilo, para evitar reacciones secundarias no deseadas, generalmente necesitan convertirse en éteres o ésteres durante las reacciones químicas en otros sitios de la molécula. El grupo protector de hidroxilo se retira fácilmente para proporcionar el grupo hidroxilo libre. Los grupos amino y los grupos ácido carboxílico se derivan de forma similar para protegerlos contra reacciones secundarias no deseadas. Los grupos protectores típicos y métodos para unirlos y escindirlos se describen completamente por Greene y Wuts en *Protective Groups In Organic Synthesis*, John Wiley y Sons, Nueva York, (2ª Ed., 1991), y McOmie, *Protective Groups in Organic Chemistry*, Pleura Press, Nueva York, 1973.

El Esquema 1 describe un método típico para la preparación de las pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-onas. La síntesis comienza con el éster etílico del ácido 4-cloro-2-metiltio-pirimidina-5-carboxílico disponible en el mercado (Aldrich). El desplazamiento del grupo 4-cloro con una amina en un disolvente tal como tetrahidrofurano en presencia o ausencia de una amina terciaria, tal como trietilamina, proporciona el éster etílico del ácido 4-amino-2-metiltio-pirimidina-5-carboxílico correspondiente. La amina usada puede ser anhidra o estar en una solución acuosa, como con metilo o etil-amina. El uso de hidróxido amónico acuoso proporciona la amina primaria correspondiente en la posición 4. La oxidación del grupo metiltio con un oxidante tal como una oxaziridina en un disolvente tal como cloroformo a temperatura ambiente proporciona el derivado de sulfóxido de metilo. El desplazamiento del sulfóxido con una amina da como resultado la formación del éster etílico del ácido 2,4-diamino-pirimidina-5-carboxílico correspondiente. La temperatura requerida para el desplazamiento depende de la amina usada. Las aminas aromáticas, secundarias y terciarias requieren habitualmente temperaturas superiores que las aminas alifáticas primarias o las bencilaminas. Cuando se usan aminas aromáticas, tales como anilina, la reacción se realiza normalmente con la amina como disolvente a temperaturas elevadas. El grupo éster se reduce secuencialmente para dar el alcohol, preferiblemente con hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano, y después se oxida para dar el aldehído. Aunque puede usarse dicromato sódico como oxidante, se obtienen resultados superiores con óxido de manganeso II en cloroformo.

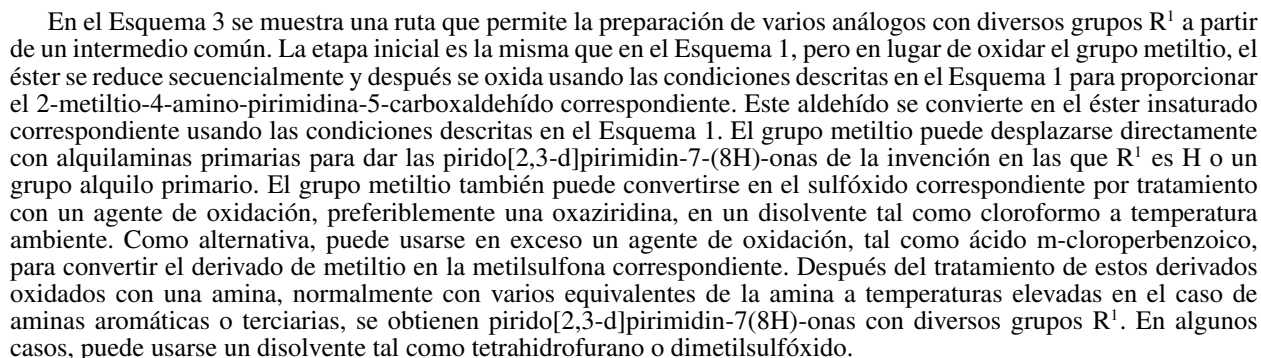
Los 2,4-di-amino-pirimidina-5-carboxaldehídos pueden hacerse reaccionar con un fosforano estabilizado, un éster de fosfonato en presencia de una base, o cualquier reactivo de Wittig o Horner-Emmons alternativo para proporcionar el éster insaturado correspondiente. El doble enlace resultante puede ser *trans*, *cis* o una mezcla de los dos. Por ejemplo, la reacción de un 2,4-diamino-pirimidina-5-carboxaldehído con una cantidad en exceso del fosforano estabilizado (carbeto-ximetileno)trifenilfosforano en tetrahidrofurano a la temperatura de reflujo da, principalmente, o en algunos casos exclusivamente, el éster etílico insaturado *trans*. Después del tratamiento con una base, se produce el cierre del anillo para dar la pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona deseada. Esta reacción puede realizarse usando una amina terciaria, tal como trietilamina o, preferiblemente, N,N-diisopropiletilamina como disolvente, con la presencia de 1 a 10 equivalentes de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno. La reacción se realiza a temperatura elevada y normalmente se completa en 2 a 24 horas. Como alternativa, el 2,4-diamino-pirimidina-5-carboxaldehído puede hacerse reaccionar con un éster de fosfonato, tal como bis(2,2,2-trifluoroetil)(metoxycarbonil-metil)-fosfonato, usando una base fuertemente disociada (Tetrahedron Lett., 1983:4405) para dar principalmente, si no exclusivamente, el éster insaturado *cis*. Después del tratamiento con una base en las condiciones analizadas previamente, se produce el cierre del anillo.

(Esquema pasa a página siguiente)

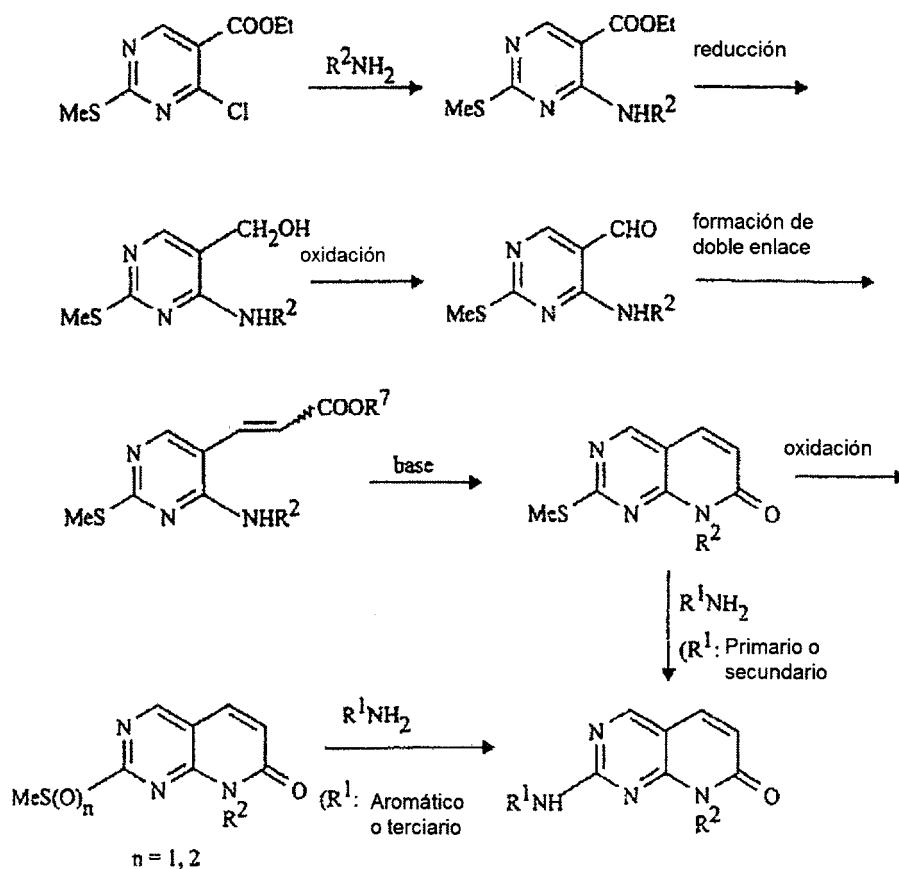
Esquema 1



El Esquema 2 representa la preparación de pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-onas en las que  $R^2$  es H. La secuencia de reacciones es la misma que en el Esquema 1, donde la etapa inicial usa hidróxido de amonio para dar la amino pirimidina 4-primaria. Las pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-onas resultantes en las que  $R^2$  es igual a H pueden alquilarse en la posición 8 por tratamiento con una base tal como hidruro sódico en un disolvente tal como dimetilformamida o tetrahydrofurano a temperaturas que varían de 40°C a la temperatura de reflujo, proporcionando de esta manera las pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-onas correspondientes en las que  $R^2$  es distinto de H. La ventaja de la ruta mostrada en el Esquema 2 es que permite la preparación de diversos análogos de  $R^2$  a partir de un intermedio común. El aldehído requerido también puede obtenerse por reducción del nitrilo correspondiente (J. Org. Chem., 1960;82:5711) con un agente reductor, preferiblemente hidruro de diisobutilaluminio.



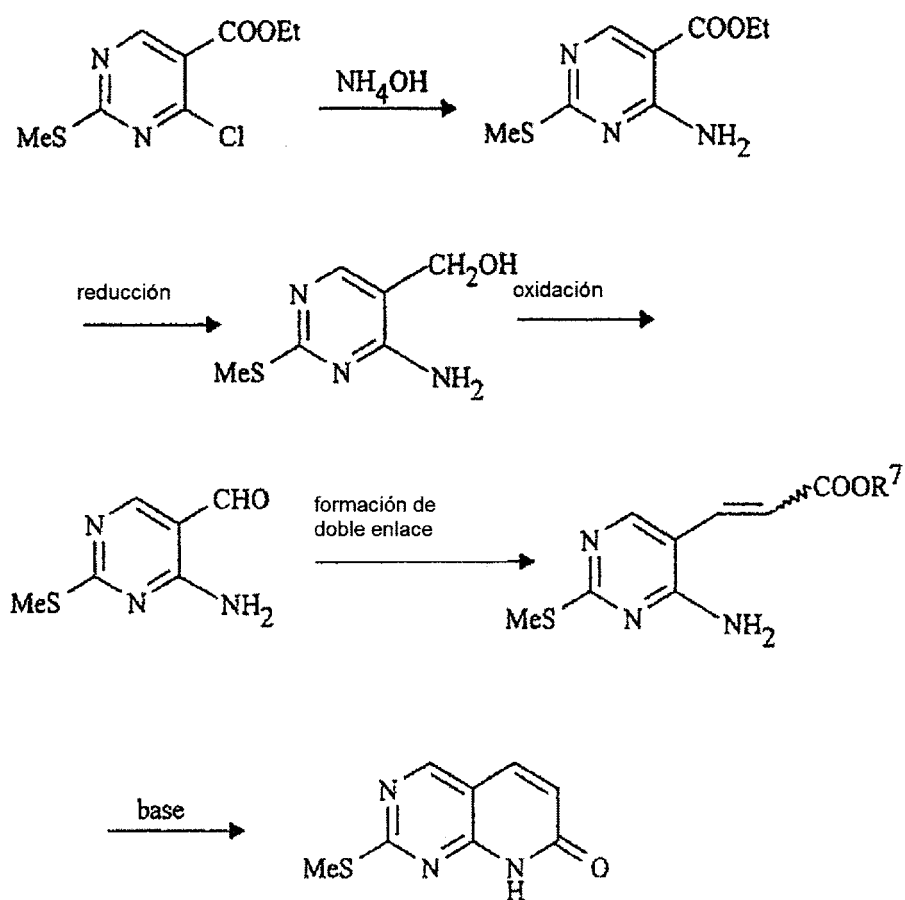
Esquema 3



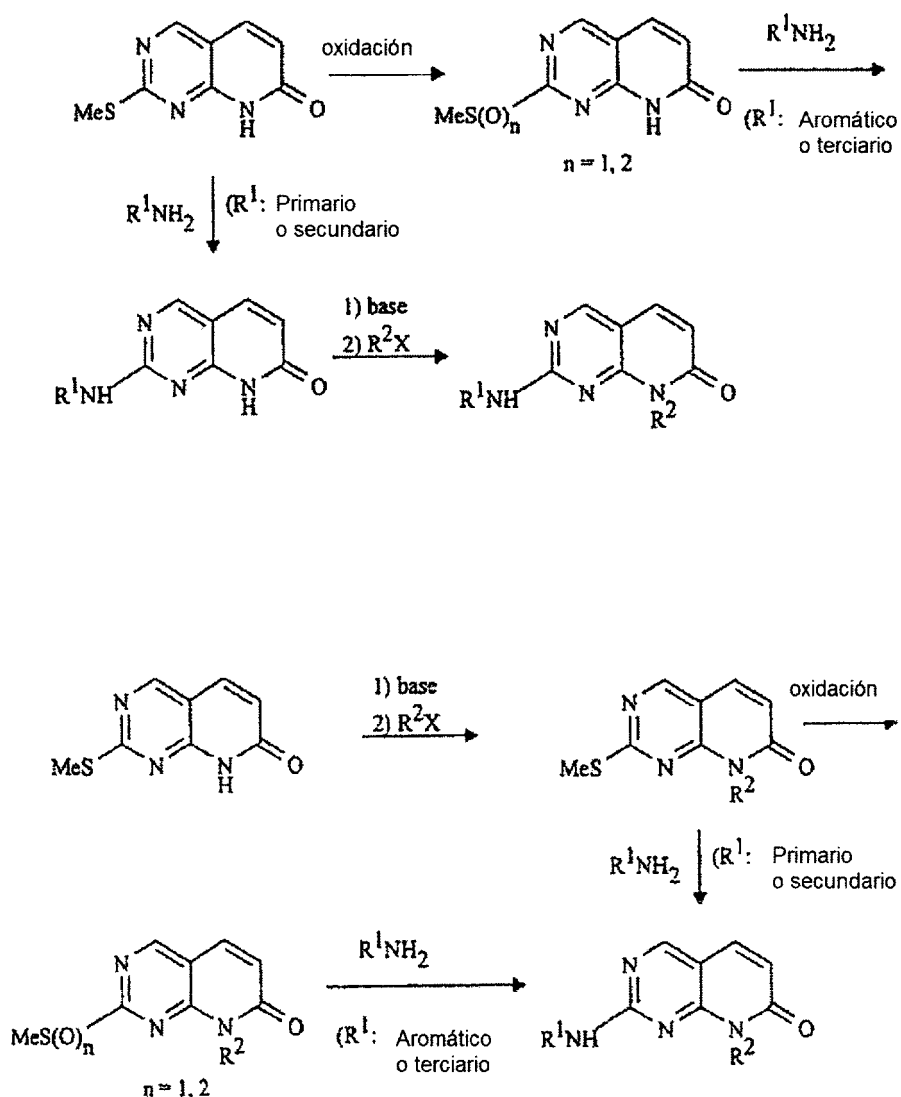
La ruta más convergente para los compuestos de la invención en los que X es O es mediante la síntesis de 2-metanosulfanil-8H-pirido[2,3-d]pirimidin-7-ona que se representa en el Esquema 4. Este intermedio clave se prepara por los métodos analizados en los esquemas anteriores y se convierte en los compuestos de la invención por 2 rutas, que se muestran en el Esquema 5. En primer lugar, el grupo metiltio se convierte en un grupo amino, en algunos casos mediante un intermedio oxidado. Después, estos derivados se alquilan en N8 para dar los compuestos deseados. Como alternativa, la 2-metanosulfanil-8H-pirido[2,3-d]pirimidin-7-ona se alquila primero en N8 y después, el grupo metiltio, o un derivado oxidado, se desplaza por una amina.

(Esquema pasa a página siguiente)

Esquema 4

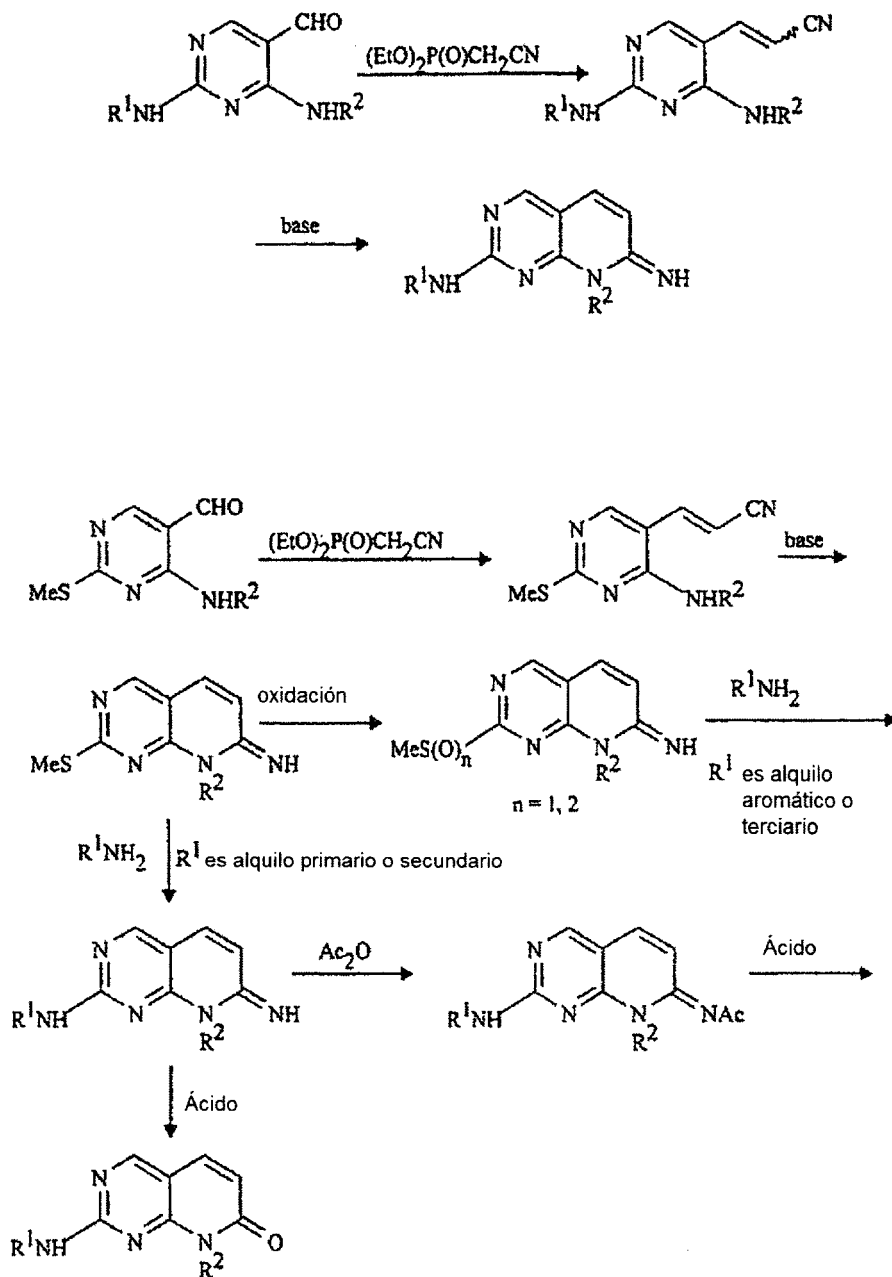


Esquema 5



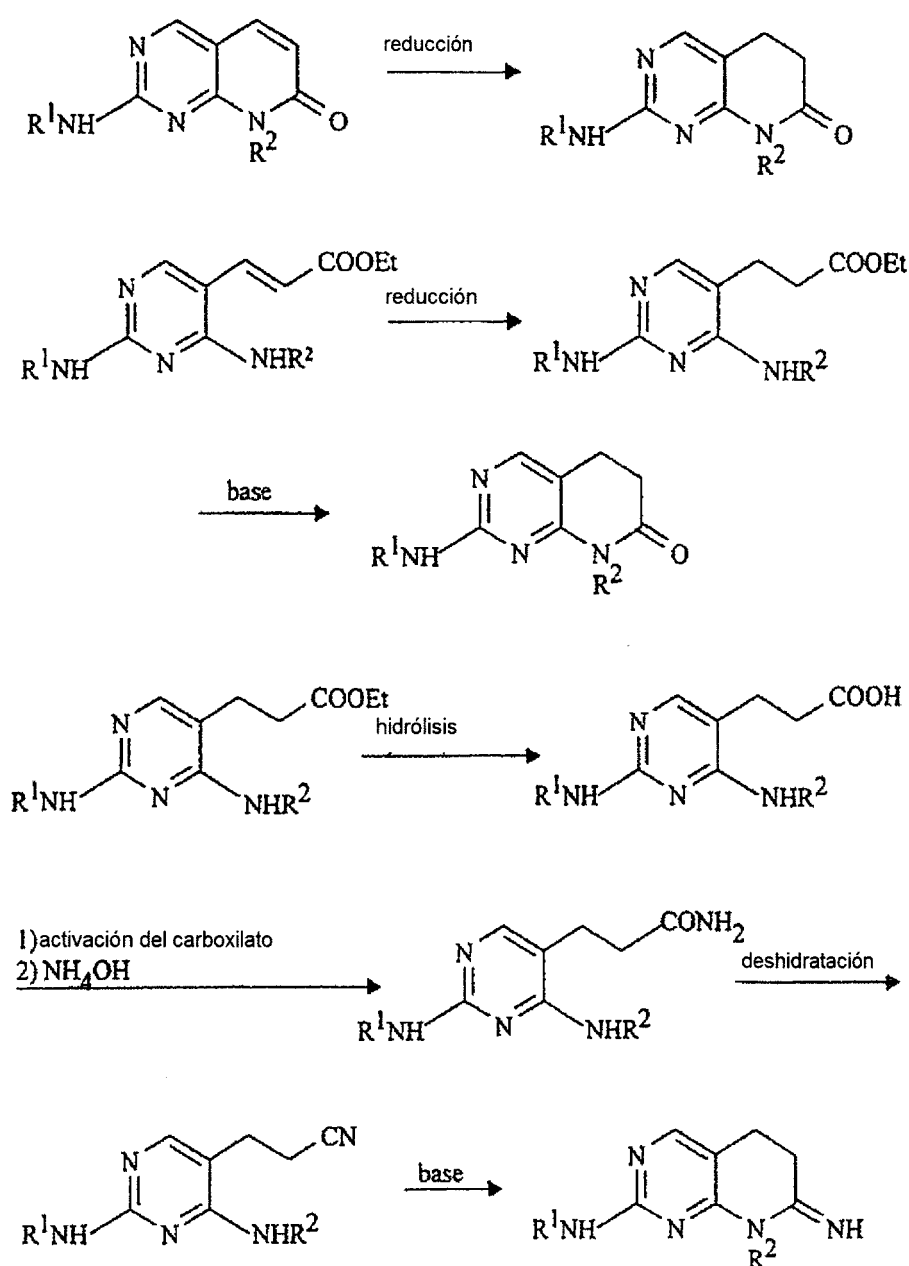
El Esquema 6 describe un método típico para la preparación de las pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-iminas ( $X = NH$ ). La síntesis comienza con el 2,4-diamino-pirimidina-5-carboxaldehído descrito previamente en el Esquema 1. La reacción con cianometilfosfonato de dietilo en presencia de una base, tal como hidruro sódico, en un disolvente, tal como tetrahidrofurano, proporciona el nitrilo insaturado correspondiente. Después, este nitrilo se cicla para dar la pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-imina en las mismas condiciones usadas para preparar las pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-onas del Esquema 1. Como alternativa, el pirimidina-5-carboxaldehído puede contener un grupo metiltio en  $C_2$ . Después de la formación del nitrilo insaturado seguido del cierre del anillo, el grupo metiltio de  $C_2$  puede convertirse en un grupo amino por la metodología mencionada anteriormente. Las pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-iminas también pueden convertirse en las pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-onas por hidrólisis directa con un ácido concentrado, tal como ácido clorhídrico, a temperaturas elevadas. También puede usarse un método más moderado en el que la imina se acila primero con anhídrido acético. La hidrólisis de este intermedio de acilo para dar la 7-ona se realiza durante un tiempo de reacción más corto y a temperaturas de reacción inferiores.

Esquema 6



Como se muestra en el Esquema 7, los compuestos en los que no existe doble enlace entre C<sub>5</sub> y C<sub>6</sub> pueden prepararse por reducción directa del doble enlace para los casos en los que X es O. Como alternativa, una ruta más preferida es reducir el doble enlace del precursor éster insaturado. Esto puede realizarse con un catalizador de metal, tal como paladio, en presencia de hidrógeno a presión. Después, este éster saturado se cicla usando las condiciones analizadas anteriormente. Debido a la propensión de la imina o del grupo nitrilo a reducirse en las condiciones usadas para reducir el doble enlace carbono-carbono, se requiere una ruta diferente para preparar los compuestos de la invención sin un doble enlace en C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub> para los casos en los que X es NH. El éster saturado se hidroliza para dar el ácido y después se convierte en la amida primaria, por activación del carboxilato con un cloruro de ácido o N,N-carbonildiimidazol, seguido de tratamiento con gas amoníaco o hidróxido de amonio acuoso. La amida primaria se deshidrata para dar el nitrilo correspondiente con un reactivo, tal como pentaóxido de fósforo. Después, este nitrilo saturado se cicla usando las condiciones descritas previamente.

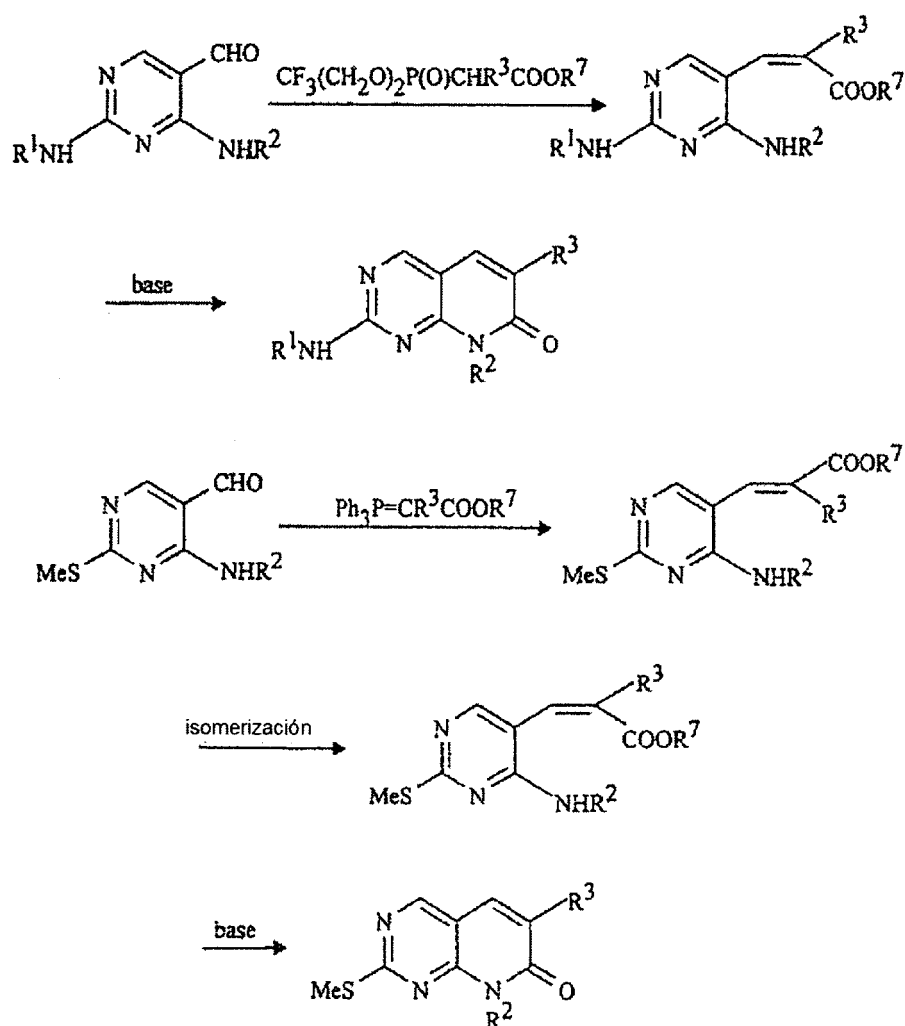
Esquema 7



Debe apreciarse que aunque las rutas representadas en los esquemas anteriores muestran la preparación de las pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-onas en las que  $R^3$  es H, estas rutas pueden modificarse fácilmente para preparar compuestos en los que  $R^3$  es alquilo inferior, como se muestra en el Esquema 8. El tratamiento con una base proporciona compuestos de la invención en los que X es O y  $R^3$  es alquilo inferior. Como alternativa, estas mismas reacciones pueden realizarse sobre el 2-metiltio-4-amino-pirimidina 5-carboxaldehído y, después de la ciclación, el grupo 2-metiltio puede convertirse en la amina correspondiente. La modificación adecuada del Esquema 6 conducirá a la preparación de las pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-iminas en las que  $R^3$  es alquilo inferior.

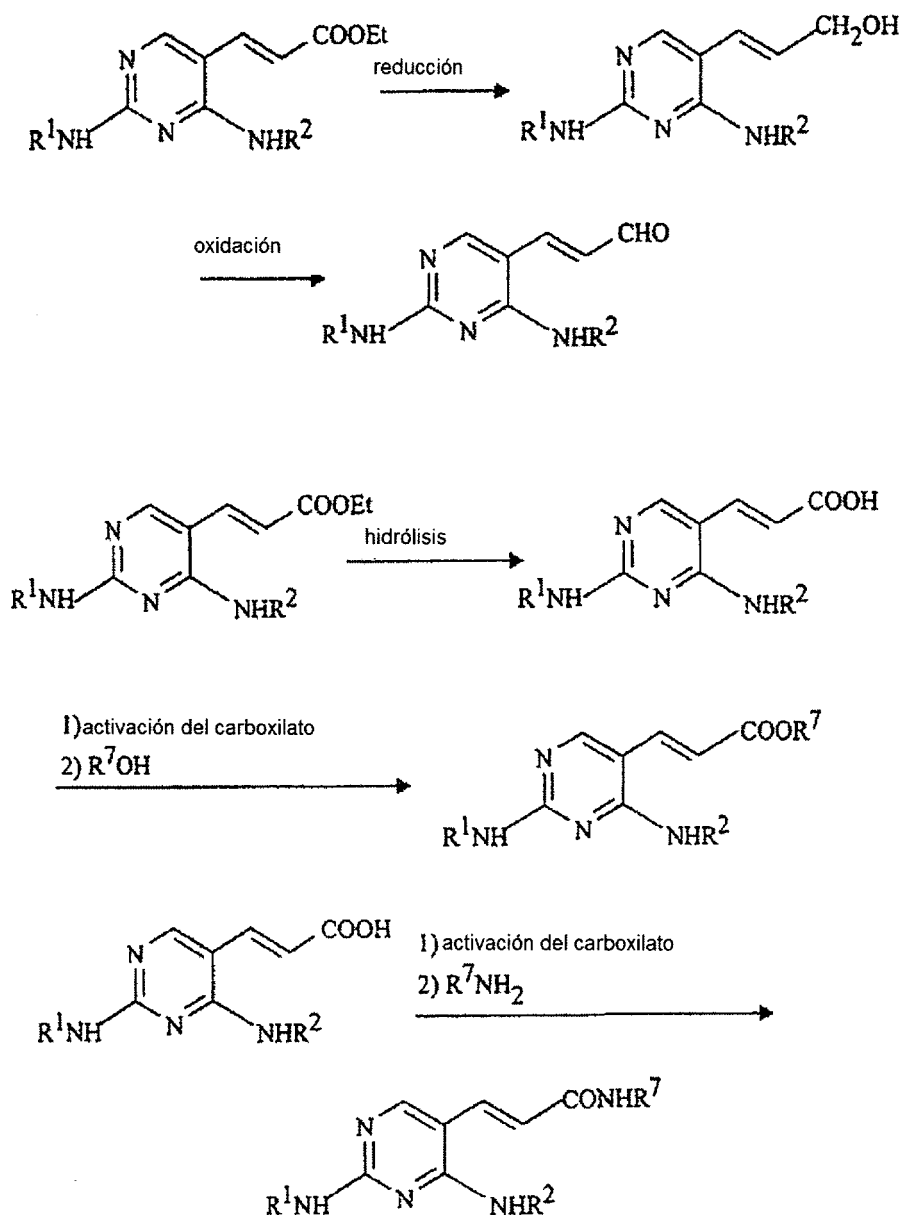


Esquema 8



Otras 2,4-diaminopirimidinas de la invención pueden prepararse como se muestra en el Esquema 9. Por ejemplo, los análogos en los que Z es  $CH_2OH$  se preparan por reducción del éster con un agente reductor, tal como un exceso de hidruro de diisobutilaluminio en un disolvente, tal como tetrahidrofurano o cloroformo. La posterior oxidación con un agente de oxidación, tal como óxido de manganeso, o en condiciones de Swern, proporciona el compuesto en el que Z es  $CHO$ . Los compuestos en los que Z es  $COOR^7$  o  $CONHR^7$  pueden obtenerse a partir del compuesto en el que Z es  $COOH$ . La activación del carboxilato con un cloruro de ácido o 1,1-carbonildiimidazol, seguido de la adición de un alcohol de fórmula  $R^7OH$  o una amina de fórmula  $R^7NH_2$ , proporcionará los compuestos en los que Z es  $COOR^7$  y  $CONHR^7$ , respectivamente.

Esquema 9



## Ejemplos

Los siguientes ejemplos son únicamente para propósitos ilustrativos y no pretenden ser, ni deben interpretarse como, limitantes de la invención de ninguna manera. Los especialistas en la técnica apreciarán que pueden realizarse variaciones y modificaciones sin violar el espíritu o el alcance de la invención.

### Ejemplo 1

#### Éster etílico del ácido 4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico

A una solución a temperatura ambiente de éster etílico del ácido 4-cloro-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (10,00 g, 43,10 mmol) en 150 ml de tetrahidrofurano se le añadió trietilamina (18,5 ml, 133 mmol) seguido de 9 ml de una solución acuosa al 70% de etilamina. La solución se agitó durante 30 minutos, después se concentró al vacío y se repartió entre cloroformo y bicarbonato sódico acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para proporcionar 9,32 g (90%) de éster etílico del ácido 4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico en forma de un aceite.

## ES 2 301 194 T3

Análisis calculado para  $C_{10}H_{15}N_3O_2S$ :

C, 49,77; H, 6,27; N, 17,41.

Encontrado: C, 49,77; H, 6,24; N, 17,30.

### Ejemplo 2

#### *(4-Etilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol*

Una solución de éster etílico del ácido 4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (8,93 g, 37,1 mmol) en 100 ml de tetrahidrofurano se añadió gota a gota a una suspensión a temperatura ambiente de hidruro de litio y aluminio (2,30 g, 60,5 mmol) en 100 ml de tetrahidrofurano. Después de 10 minutos, la reacción se interrumpió cuidadosamente con 4,5 ml de agua, 4,5 ml de NaOH al 15% y 16 ml más de agua y la mezcla se agitó durante 1,5 horas. El precipitado de color blanco se retiró por filtración, lavando con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío y se añadió 1:1 de hexano:acetato de etilo. Los sólidos se recogieron para dar 6,77 g (92%) de (4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol, p.f. 152-156°C.

Análisis calculado para  $C_8H_{13}N_3OS$ :

C, 48,22; H, 6,58; N, 21,09.

Encontrado: C, 48,14; H, 6,61; N, 20,85.

### Ejemplo 3

#### *4-Etilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído*

A (4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol (6,44 g, 32,4 mmol) en 600 ml de cloroformo se le añadió óxido de manganeso (21,0 g, 241 mmol). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se añadieron 5,5 g más de óxido de manganeso. La agitación se continuó durante 4,5 horas. La mezcla se filtró a través de celite, lavando con cloroformo. El filtrado se concentró al vacío para dar 6,25 g (97%) de 4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído, p.f. 58-61°C.

Análisis calculado para  $C_8H_{11}N_3OS$ :

C, 48,71; H, 5,62; N, 21,30.

Encontrado: C, 48,62; H, 5,60; N, 21,28.

### Ejemplo 4

#### *Éster etílico del ácido 4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico*

A una solución a temperatura ambiente de éster etílico de 4-etilamino-2-metanosulfanil-5-pirimidinacarboxilato (2,011 g, 8,34 mmol) en 70 ml de cloroformo se le añadió ( $\pm$ )-*trans*-2-(fenilsulfonil)-3-feniloxaziridina (2,70 g, 10,34 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 7 horas y después se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida, eluyendo con un gradiente de acetato de etilo a metanol al 3% en acetato de etilo, para proporcionar 2,07 g (97%) de éster etílico del ácido 4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico, p.f. 54-56°C.

Análisis calculado para  $C_{10}H_{15}N_3O_3S$ :

C, 46,68; H, 5,88; N, 16,33.

Encontrado: C, 46,56; H, 5,68; N, 16,23.

### Ejemplo 5

#### *Éster etílico del ácido 4-etilamino-2-fenilamino-pirimidina-5-carboxílico*

Una solución de éster etílico del ácido 4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (5,38 g, 20,9 mmol) en 4 ml de anilina se calentó a 130°C durante 1 hora. La solución se enfrió a temperatura ambiente y se añadieron 20 ml de 1:1 de hexano:acetato de etilo. El sólido de color blanco resultante se recogió por filtración para dar 1,96 g (33%) del producto del título. El filtrado se concentró al vacío y se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con 3:1

## ES 2 301 194 T3

de hexano:acetato de etilo para proporcionar 257 mg más (4%) de éster etílico del ácido 4-etilamino-2-fenilamino-pirimidina-5-carboxílico puro, p.f. 145-147°C.

Análisis calculado para  $C_{15}H_{18}N_4O_2$ :

C, 62,92; H, 6,34; N, 19,57.

Encontrado: C, 62,83; H, 6,24; N, 19,50.

### Ejemplo 6

#### *(4-Etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)-metanol*

Una solución de éster etílico del ácido 4-etilamino-2-fenilamino-pirimidina-5-carboxílico (109 mg, 0,38 mmol) en 6 ml de tetrahidrofurano se añadió gota a gota a una suspensión a temperatura ambiente de hidruro de litio y aluminio (35 mg, 0,92 mmol) en 5 ml de tetrahidrofurano. Después de 25 minutos, se añadieron 30 mg más de hidruro de litio y aluminio y la agitación se continuó durante 30 minutos. La reacción se interrumpió cuidadosamente con 120  $\mu$ l de agua, 200  $\mu$ l de NaOH al 15% y 300  $\mu$ l más de agua. Después de agitar durante 1 hora, el precipitado de color blanco se retiró por filtración, lavando con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío y el material bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con acetato de etilo para proporcionar 36 mg (39%) de (4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)-metanol, p.f. 174-176°C.

Análisis calculado para  $C_{13}H_{16}N_4O$ :

C, 63,92; H, 6,60; N, 22,93.

Encontrado: C, 63,97; H, 6,58; N, 22,79.

### Ejemplo 7

#### *4-Etilamino-2-fenilamino-pirimidina-5-carboxaldehído*

A una solución de (4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)-metanol (173 mg, 0,71 mmol) en 15 ml de cloroformo se le añadió óxido de manganeso (600 mg, 6,89 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante una noche, la mezcla se filtró a través de una capa de celite, lavando con cloroformo. El filtrado se concentró al vacío para dar 170 mg (99%) de 4-etilamino-2-fenilamino-pirimidina-5-carboxaldehído, p.f. 155-157°C.

Análisis calculado para  $C_{13}H_{14}N_4O$ :

C, 64,45; H, 5,82; N, 23,12.

Encontrado: C, 64,31; H, 6,01; N, 22,98.

### Ejemplo 8

#### *Éster etílico del ácido 4-metilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico*

A una solución a temperatura ambiente de éster etílico del ácido 4-cloro-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (18,66 g, 80,4 mmol) en 260 ml de tetrahidrofurano se le añadió trietilamina (34 ml, 244 mmol) seguido de 30 ml de una solución acuosa al 40% de metilamina. La solución se agitó durante 30 minutos, después se concentró al vacío y se repartió entre cloroformo y bicarbonato sódico acuoso saturado. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para proporcionar un sólido de color blanco. El sólido se suspendió en hexano y se filtró para proporcionar 14,70 g (81%) de éster etílico del ácido 4-metilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico, p.f. 91-93°C. P.f. según las referencias bibliográficas 93-94°C: J. Org. Chem., 1960:2137.

Análisis calculado para  $C_9H_{13}N_3O_2S$ :

C, 47,56; H, 5,76; N, 18,49.

Encontrado: C, 47,93; H, 5,67; N, 18,58.

## Ejemplo 9

*(4-Metilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol*

Una solución de éster etílico del ácido 4-metilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (4,36 g, 19,3 mmol) en 60 ml de tetrahidrofurano se añadió gota a gota a una suspensión a temperatura ambiente de hidruro de litio y aluminio (1,10 g, 29,0 mmol) en 40 ml de tetrahidrofurano. Después de 10 minutos, la reacción se interrumpió cuidadosamente con 2 ml de agua, 2 ml de NaOH al 15% y 7 ml de agua y la mezcla se agitó durante 1 hora. El precipitado de color blanco se retiró por filtración, lavando con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío y se añadieron 25 ml de 3:1 de hexano:acetato de etilo. Los sólidos se recogieron para dar 2,99 g (84%) de (4-metilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol, p.f. 155-157°C. P.f. según las referencias bibliográficas 157-159°C: J. Chem. Soc., 1968:733.

Análisis calculado para  $C_7H_{11}N_3OS$ :

C, 45,39; H, 5,99; N, 22,68.

Encontrado C, 45,42; H, 5,93; N, 22,42.

## Ejemplo 10

*4-Metilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído*

A (4-metilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol (5,78 g, 31,2 mmol) en 600 ml de cloroformo se le añadió óxido de manganeso (25,0 g, 286 mmol). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas y después se filtró a través de celite, lavando con 300 ml de cloroformo. El filtrado se concentró al vacío y al residuo se le añadió hexano. El sólido se recogió para dar 5,35 g (93%) de 4-metilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído, p.f. 97-100°C.

## Ejemplo 11

*Éster etílico del ácido 4-amino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico*

A una solución a temperatura ambiente de éster etílico del ácido 4-cloro-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (15,0 g, 65 mmol) en 200 ml de tetrahidrofurano se le añadieron 25 ml de trietilamina seguido de 35 ml de hidróxido de amonio acuoso. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1,5 horas, se añadieron 30 ml más de hidróxido de amonio acuoso y la agitación se continuó durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró al vacío y se repartió entre acetato de etilo y bicarbonato sódico acuoso saturado. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró al vacío. Se añadieron acetato de etilo y hexano y el sólido resultante se recogió por filtración para proporcionar 10,84 g (79%) de éster etílico del ácido 4-amino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico.

## Ejemplo 12

*(4-Amino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol*

Una solución de éster etílico del ácido 4-amino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (13,36 g, 63 mmol) en 250 ml de tetrahidrofurano se añadió gota a gota a una suspensión a temperatura ambiente de hidruro de litio y aluminio (3,82 g, 100 mmol) en 250 ml de tetrahidrofurano. Después de 30 minutos, la reacción se enfrió a 0°C y se añadió alcohol isopropílico hasta que disminuyó la formación de burbujas. La reacción se interrumpió con 15 ml de agua, 15 ml de NaOH al 15% y 50 ml de agua y la mezcla se agitó durante 1 hora. El precipitado de color blanco se retiró por filtración, lavando con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío y se añadió 3:1 de hexano:acetato de etilo. Los sólidos se recogieron y se lavaron con 3:1 de hexano:acetato de etilo, seguido de hexano. El sólido se disolvió en acetato de etilo y la solución se secó sobre sulfato de magnesio. La filtración, seguido de concentración al vacío, dio 8,14 g (76%) de (4-amino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol.

Análisis calculado para  $C_6H_9N_3OS$ :

C, 42,09; H, 5,30; N, 24,54.

Encontrado C, 42,31; H, 5,24; N, 24,27.

## ES 2 301 194 T3

### Ejemplo 13

#### *4-Amino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído*

A (4-amino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol (8,14 g, 48 mmol) en 1 ml de cloroformo se le añadió óxido de manganeso (33,13 g, 381 mmol). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después se filtró a través de celite, lavando con 300 ml de cloroformo. El filtrado se concentró al vacío para dar 8,14 g (rendimiento cuantitativo) de 4-amino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído, p.f. 185-187°C. P.f. según las referencias bibliográficas = 183-184°C, JOC, 1958;23:1738.

Análisis calculado para  $C_6H_7N_3OS$ :

C, 42,59; H, 4,17; N, 24,83.

Encontrado C, 42,84; H, 4,21; N, 24,73.

### Ejemplo 14

#### *Éster etílico del ácido 4-(4-metoxibencilamino)-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico*

A una solución a temperatura ambiente de éster etílico del ácido 4-cloro-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (6,05 g, 26,07 mmol) en 60 ml de tetrahidrofurano se le añadió trietilamina (11 ml, 79.5 mmol) seguido de 3,6 ml (27,6 mmol) de 4-metoxibencilamina. La solución se agitó durante 1 hora y después se filtró. El sólido de color blanco se lavó con acetato de etilo y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se repartió entre cloroformo y bicarbonato sódico acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para proporcionar 7,60 g (88%) de éster etílico del ácido 4-(4-metoxibencilamino)-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico, p.f. 72-74°C.

Análisis calculado para  $C_{16}H_{19}N_3O_3S$ :

C, 57,64; H, 5,74; N, 12,60.

Encontrado C, 57,65; H, 5,80; N, 12,57.

### Ejemplo 15

#### *[4-(4-Metoxibencilamino)-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il]-metanol*

Una solución de éster etílico del ácido 4-(4-metoxibencilamino)-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (6,89 g, 20,70 mmol) en 60 ml de tetrahidrofurano se añadió gota a gota a una suspensión a temperatura ambiente de hidruro de litio y aluminio (1,17 g, 30,8 mmol) en 40 ml de tetrahidrofurano. Después de 30 minutos, la reacción se interrumpió cuidadosamente con 2 ml de agua, 2 ml de NaOH al 15% y 7 ml de agua y la mezcla se agitó para dar un precipitado de color blanco. El sólido se retiró por filtración, lavando con acetato de etilo. El filtrado se concentró parcialmente al vacío y el sólido de color blanco se recogió por filtración para dar 1,47 g (24%) del producto. El filtrado se concentró y, después de la adición de 3:1 de hexano:acetato de etilo, se formó más cantidad de sólido. El precipitado se recogió para dar 3,16 g (52%) de [4-(4-metoxibencilamino)-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il]-metanol, p.f. 163-165°C.

Análisis calculado para  $C_{14}H_{17}N_3O_2S$ :

C, 57,71; H, 5,88; N, 14,42.

Encontrado: C, 57,78; H, 5,88; N, 14,36.

### Ejemplo 16

#### *4-(4-Metoxibencilamino)-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído*

A [4-(4-metoxibencilamino)-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il]-metanol (4,08 g, 14,02 mmol) en 400 ml de cloroformo se le añadió óxido de manganeso (10,90 g, 125 mmol). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas y después se filtró a través de celite, lavando con cloroformo. El filtrado se concentró al vacío seguido de la adición de hexano para dar 3,87 g (96%) de 4-(4-metoxibencilamino)-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído, p.f. 87-89°C.

## ES 2 301 194 T3

Análisis calculado para  $C_{14}H_{15}N_3O_2S$ :

C, 58,11; H, 5,23; N, 14,52.

Encontrado C, 57,88; H, 5,12; N, 14,35.

### Ejemplo 17

#### *3-(4-Etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)acrilato de etilo*

A una solución a temperatura ambiente de 4-etilamino-2-fenilamino-pirimidina-5-carboxaldehído (320 mg, 1,32 mmol) en 12 ml de tetrahidrofurano se le añadió (carbetoximetileno)trifenilfosforano (720 mg, 2,07 mmol). La mezcla de reacción se calentó a la temperatura de reflujo durante 7 horas y después se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió una cantidad adicional de (carbetoximetileno)trifenilfosforano (300 mg, 0,86 mmol), la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 8 horas más y después se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida, eluyendo con 1:2 de acetato de etilo:hexano, para proporcionar 357 mg (86%) de 3-(4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)acrilato de etilo, p.f. 125-126°C.

Análisis calculado para  $C_{17}H_{20}N_4O_2$ :

C, 65,37; H, 6,45; N, 17,94.

Encontrado C, 65,40; H, 6,57; N, 17,64.

### Ejemplo 19

#### *3-(4-Amino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo*

A una solución a temperatura ambiente de 4-amino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carbaldehído (4,08 g, 24,14 mmol) en 100 ml de tetrahidrofurano se le añadió (carbetoximetileno)trifenilfosforano (10,80 g, 31 mmol). La mezcla de reacción se calentó a la temperatura de reflujo durante 3 horas y después se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida, eluyendo con 1:1 de acetato de etilo:hexano, para proporcionar 4,30 g (75%) de 3-(4-amino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo, p.f. se reblandece a 108°C.

Análisis calculado para  $C_{10}H_{13}N_3O_2S$ :

C, 50,19; H, 5,48; N, 17,56.

Encontrado C, 50,22; H, 5,45; N, 17,24.

### Ejemplo 24

#### *3-(4-Etilamino-1-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo*

A una solución a temperatura ambiente de 4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído (6,34 g, 32,14 mmol) en 100 ml de tetrahidrofurano se le añadió (carbetoximetileno)trifenilfosforano (14,32 g, 41,14 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 70 minutos, después se concentró al vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo y HCl 1 N. La capa orgánica se extrajo con una cantidad adicional de HCl 1 N y las capas ácidas se combinaron y se trataron con bicarbonato sódico saturado hasta que se hicieron básicas. El producto se extrajo en acetato de etilo y la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Después de la adición de hexano, se formó un sólido. El sólido se recogió por filtración para dar 6,79 g (79%) de 3-(4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo. Se obtuvo una muestra analítica por cromatografía ultrarrápida eluyendo con acetato de etilo, p.f. 79-80°C.

Análisis calculado para  $C_{12}H_{17}N_3O_2S$ :

C, 53,91; H, 6,41; N, 15,72.

Encontrado C, 53,97; H, 6,52; N, 15,78.

## ES 2 301 194 T3

### Ejemplo 25

#### *3-(4-Metilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo*

A una solución a temperatura ambiente de 4-metilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído (5,00 g, 27,30 mmol) en 90 ml de tetrahidrofurano se le añadió (carbetoximetileno)trifenilfosforano (12,35 g, 35,49 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2,5 horas, después se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se repartió entre acetato de etilo y HCl 1 N. La capa orgánica se trató con bicarbonato sódico saturado hasta que se hizo básica. El producto se extrajo en acetato de etilo y la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Después de la adición de 4:1 de hexano:acetato de etilo, se formó un sólido que se recogió por filtración para dar 5,76 g (83%) de 3-(4 metilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo, p.f. 142-144°C.

Análisis calculado para  $C_{11}H_{15}N_3O_2S$ :

C, 52,16; H, 5,97; N, 16,59.

Encontrado C, 51,89; H, 5,87; N, 16,38.

### Ejemplo 28

#### *3-(4-Amino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)acrilato de etilo*

A una solución a 0°C de 4-amino-2-fenilamino-pirimidina-5-carbonitrilo (7,00 g, 33,18 mmol) (prep. según las referencias bibliográficas: J. Org. Chem., 1960:5711) en 170 ml de tetrahidrofurano se le añadieron 45 ml de una solución 1 M de hidruro de diisobutilaluminio en cloruro de metileno. El baño de hielo se retiró y se añadieron 40 ml más de una solución 1 M de hidruro de diisobutilaluminio en cloruro de metileno. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadieron gota a gota 60 ml de metanol. Después, esta mezcla se añadió a una mezcla en agitación rápida de 300 ml de acetato de etilo y 250 ml de HCl 1 N. Las capas se separaron y la capa orgánica se extrajo con una cantidad adicional de HCl 1 N. Las capas ácidas se combinaron, se trataron con 330 ml de NaOH 1 N y se extrajeron con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía ultrarrápida eluyendo con acetato de etilo dio 4,99 g (68%) de 4-amino-2-fenilamino-pirimidina-5-carboxaldehído.

A una solución a temperatura ambiente de 4-amino-2-fenilamino-pirimidina-5-carboxaldehído (2,89 g, 13,50 mmol) en 120 ml de tetrahidrofurano se le añadió (carbetoximetileno)trifenilfosforano (11,00 g, 31,60 mmol). La mezcla de reacción se calentó a la temperatura de reflujo durante 9 horas y después se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La solución se concentró al vacío y se trató con acetato de etilo y hexano para dar un sólido de color amarillo. El sólido se recogió por filtración y se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar 1,55 g (40%) de 3-(4-amino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)acrilato de etilo, p.f. 190-192°C.

Análisis calculado para  $C_{15}H_{16}N_4O_2$ :

C, 63,37; H, 5,67; N, 19,71.

Encontrado C, 63,08; H, 5,72; N, 19,72.

### Ejemplo 68

#### *Éster etílico del ácido 3-(4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)propiónico*

Una mezcla de 3-(4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)acrilato de etilo (152 mg, 0,48 mmol) y paladio al 5% sobre carbono en una mezcla de disolventes de etanol y tetrahidrofurano se hidrogenó a presión. El catalizador se retiró por filtración y el filtrado se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con 2:1 de acetato de etilo:hexano para dar 72 mg (47%) de éster etílico del ácido 3-(4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)propiónico, p.f. 106-107°C.

Análisis calculado para  $C_{17}H_{22}N_4O_2$ :

C, 64,95; H, 7,05; N, 17,82.

Encontrado C, 64,90; H, 7,06; N, 17,77.



## ES 2 301 194 T3

### Ejemplo 70

#### *3-(4-Metilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-acrilonitrilo*

- 5 A una suspensión a temperatura ambiente de hidruro sódico (240 mg de una suspensión al 60% de NaH en aceite) en 10 ml de dimetilformamida se le añadió cianometilfosfonato de dietilo (1,0 ml, 6,17 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, después se añadió 4-metilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carbaldehído (1,02 g, 5,57 mmol) en 10 ml de dimetilformamida y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre salmuera y una mezcla 1:1 de hexano y acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para proporcionar 367 mg (32%) de 3-(4-metilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilonitrilo, p.f. 207-210°C. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con 1:1 de acetato de etilo:hexano para proporcionar 19 mg más (13%) del producto.

Análisis calculado para  $C_9H_{10}N_4S \cdot 0,5 H_2O$ :

- 15 C, 50,20; H, 5,15; N, 26,02.  
Encontrado C, 50,48; H, 4,80; N, 26,28.

### Ejemplo 72

#### *3-(4-Etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)-acrilonitrilo*

- 25 A una suspensión a temperatura ambiente de hidruro sódico (38 mg de una suspensión al 60% de NaH en aceite) en 5 ml de dimetilformamida se le añadió cianometilfosfonato de dietilo (150  $\mu$ l, 0,93 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, después se añadió 4-etilamino-2-fenilamino-pirimidina-5-carbaldehído (200 mg, 0,83 mmol) en 2 ml de dimetilformamida y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre salmuera y acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con 1:1 de acetato de etilo:hexano. Las fracciones que contenían el producto se concentraron y al residuo se le añadió hexano. El sólido resultante se recogió por filtración para dar 91 mg (43%) de 3-(4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)acrilonitrilo, p.f. 244-246°C. La concentración del filtrado proporcionó 68 mg más (32%) del producto.

35 Análisis calculado para  $C_{15}H_{15}N_5$ :

- C, 67,91; H, 5,70; N, 26,40.  
Encontrado C, 67,80; H, 5,57; N, 26,39.

### Ejemplo 73

#### *Éster etílico del ácido 3-(4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)-but-2-enoico*

- 45 A una solución a temperatura ambiente de 4-etilamino-2-fenilamino-pirimidina-5-carboxaldehído (200 mg, 0,83 mmol) en 10 ml de tetrahidrofurano se le añadió (carbetoxietileno)trifenilfosforano (360 mg, 1,0 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante una noche, se enfrió y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida, eluyendo con 1:1 de acetato de etilo:hexano. Las fracciones que contenían el producto se concentraron y al residuo se le añadió 1:2 de acetato de etilo:hexano. El sólido resultante se recogió por filtración para proporcionar 176 mg (65%) de éster etílico del ácido 3-(4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)-but-2-enoico, p.f. 148-150°C.

Análisis calculado para  $C_{18}H_{22}N_4O_2$ :

- 55 C, 66,24; H, 6,79; N, 17,16.  
Encontrado C, 65,95; H, 6,68; N, 17,02.

### Ejemplo 94

#### *Éster etílico del ácido 2-metanosulfanil-4-fenilamino-pirimidina-5-carboxílico*

- 65 A una solución a temperatura ambiente de éster etílico del ácido 4-cloro-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (9,25 g, 40,0 mmol) en 100 ml de tetrahidrofurano se le añadieron 16 ml de trietilamina seguido de anilina (4,0 ml, 43,8 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El sólido de color blanco se retiró por filtración, lavando con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío y se repartió entre cloroformo y bicarbonato sódico acuoso saturado. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Al residuo se le

## ES 2 301 194 T3

añadió una solución 2:1 de hexano:acetato de etilo y el sólido de color blanco resultante se recogió para proporcionar 7,07 g (60%) del producto. Se obtuvieron 2,18 g más (18%) a partir del filtrado. La recristalización en hexano y acetato de etilo proporcionó una muestra analítica de éster etílico del ácido 2-metanosulfanil-4-fenilamino-pirimidina-5-carboxílico, p.f. 86-87,5°C.

Análisis calculado para  $C_{14}H_{15}N_3O_2S$ :

C, 58,11; H, 5,23; N, 14,52.

Encontrado C, 57,93; H, 5,27; N, 14,46.

### Ejemplo 95

#### *(2-Metanosulfanil-4-fenilamino-pirimidin-5-il)-metanol*

Una solución de éster etílico del ácido 2-metanosulfanil-4-fenilamino-pirimidina-5-carboxílico (7,25 g, 25,1 mmol) en 100 ml de tetrahidrofurano se añadió gota a gota a una suspensión a temperatura ambiente de hidruro de litio y aluminio (1,55 g, 40,9 mmol) en 100 ml de tetrahidrofurano. Después de 10 minutos, a la mezcla de reacción se le añadió 1,00 g más de hidruro de litio y aluminio y la agitación se continuó durante 1,5 horas. La reacción se interrumpió cuidadosamente con isopropanol seguido de 6 ml de agua, 10 ml de NaOH al 15% y 20 ml de agua y la mezcla se agitó durante 1,5 horas. El precipitado de color blanco se retiró por filtración, lavando con acetato de etilo. El filtrado se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró al vacío. La purificación por cromatografía ultrarrápida eluyendo con acetato de etilo proporcionó 2,22 g (36%) de (4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol, p.f. 127-128°C.

Análisis calculado para  $C_{12}H_{13}N_3OS$ :

C, 58,28; H, 5,30; N, 16,99.

Encontrado C, 58,15; H, 5,09; N, 16,90.

### Ejemplo 96

#### *2-Metanosulfanil-4-fenilamino-pirimidina-5-carboxaldehído*

A (4-etilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol (2,80 g, 11,4 mmol) en 400 ml de cloroformo se le añadió óxido de manganeso (3,95 g, 45,4 mmol). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se filtró a través de celite, lavando con cloroformo. El filtrado se concentró al vacío para dar 2,73 g (98%) de 2-metanosulfanil-4-fenilamino-pirimidina-3-carboxaldehído, p.f. 89-90°C.

Análisis calculado para  $C_{12}H_{11}N_3OS$ :

C, 58,76; H, 4,52; N, 17,13.

Encontrado C, 58,56; H, 4,69; N, 17,10.

### Ejemplo 97

#### *3-(2-Metanosulfanil-4-fenilamino-pirimidin-5-il)acrilato de etilo*

A una solución a temperatura ambiente de 2-metanosulfanil-4-fenilamino-pirimidina-5-carboxaldehído (1,00 g, 4,08 mmol) en 20 ml de tetrahidrofurano se le añadió (carbetoximetileno)trifenilfosforano (1,82 g, 5,22 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 70 minutos, después se concentró al vacío y se repartió entre acetato de etilo y ácido clorhídrico 1 N. La capa orgánica se extrajo con dos porciones adicionales de ácido clorhídrico 1 N y las capas ácidas se combinaron y se neutralizaron con bicarbonato sódico saturado. El producto se extrajo en acetato de etilo, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con acetato de etilo para proporcionar 988 mg (77%) de 3-(2-metanosulfanil-4-fenilamino-pirimidin-5-il)acrilato de etilo en forma de un aceite de color amarillo.

### Ejemplo 102

#### *Éster etílico del ácido 4-ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico*

A una solución a temperatura ambiente de éster etílico del ácido 4-cloro-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (12,48 g, 53,8 mmol) en 150 ml de tetrahidrofurano se le añadieron 22 ml de trietilamina seguido de ciclopentilamina (6,70 g, 77,0 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El sólido de color blanco se retiró

## ES 2 301 194 T3

por filtración, lavando con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío y se repartió entre acetato de etilo y bicarbonato sódico acuoso saturado. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. Al residuo se le añadió una solución 2:1 de hexano:acetato de etilo y el sólido de color blanco resultante se recogió para proporcionar 13,3 g (88%) de éster etílico del ácido 4-ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico en forma de un aceite.

Análisis calculado para  $C_{13}H_{19}N_3O_2S$ :

C, 55,49; H, 6,81; N, 14,93.

Encontrado C, 55,59; H, 6,72; N, 14,85.

### Ejemplo 103

#### *(4-Ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol*

Una solución de éster etílico del ácido 4-ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxílico (13,0 g, 46,3 mmol) en 50 ml de tetrahidrofurano se añadió gota a gota a una suspensión a temperatura ambiente de hidruro de litio y aluminio (3,2 g, 84,2 mmol) en 150 ml de tetrahidrofurano. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos y después se inactivó cuidadosamente con 6 ml de agua, seguido de 6 ml de NaOH al 15% y 19 ml de agua. Después de agitar durante 1 hora, el precipitado de color blanco se retiró por filtración, lavando con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío y al residuo se le añadieron hexano y acetato de etilo. La filtración del sólido de color blanco proporcionó 8,39 g (76%) de (4-ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol, p.f. 127-128°C.

Análisis calculado para  $C_{11}H_{17}N_3OS \cdot 0,1 H_2O$ :

C, 54,79; H, 7,19; N, 17,43.

Encontrado C, 54,68; H, 7,12; N, 17,23.

### Ejemplo 104

#### *4-Ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído*

A (4-ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-metanol (8,00 g, 33,5 mmol) en 400 ml de cloroformo se le añadió óxido de manganeso (18,5 g, 213 mmol). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió una cantidad adicional de óxido de manganeso (2,5 g, 29 mmol) y la agitación se continuó durante 2,5 h. La mezcla se filtró a través de celite, lavando con cloroformo. El filtrado se concentró al vacío para dar 7,93 g (99%) de 4-ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído en forma de un aceite.

Análisis calculado para  $C_{11}H_{15}N_3OS$ :

C, 55,67; H, 6,37; N, 17,71.

Encontrado C, 55,60; H, 6,24; N, 17,70.

### Ejemplo 105

#### *3-(4-Ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo*

A una solución a temperatura ambiente de 4-ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído (7,74 g, 32,7 mmol) en 110 ml de tetrahidrofurano se le añadió (carbetoximetileno)trifenilfosforano (15,0 g, 43,1 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1,5 horas, después se enfrió a temperatura ambiente y se repartió entre acetato de etilo y ácido clorhídrico 1 N. A la capa ácida se le añadió hidróxido sódico acuoso concentrado, seguido de extracción del producto en acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con 4:1 de hexano:acetato de etilo para proporcionar 6,58 g (66%) de 3-(4-ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo, p.f. 98-101°C.

Análisis calculado para  $C_{15}H_{21}N_3O_2S$ :

C, 58,61; H, 6,89; N, 13,67.

Encontrado C, 58,57; H, 6,83; N, 13,52.

## ES 2 301 194 T3

### Ejemplos 109-271

Los siguientes compuestos de la invención se prepararon de forma similar siguiendo los procedimientos generales de los ejemplos anteriores.

#### Ejemplo 119

*Éster etílico del ácido 4-ciclohexilamino-2-metilsulfanil-pirimidina-5-carboxílico, aceite*

#### Ejemplo 120

*Éster etílico del ácido 4-ciclopropilamino-2-metilsulfanil-pirimidina-5-carboxílico, aceite*

#### Ejemplo 121

*(4-Ciclohexilamino-2-metilsulfanil-pirimidin-5-il)-metanol, p.f. 127-129°C*

#### Ejemplo 122

*4-Ciclohexilamino-2-metilsulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído, aceite*

#### Ejemplo 123

*Éster etílico del ácido 3-(4-ciclohexilamino-2-metilsulfanil-pirimidin-5-il)-acrílico*

#### Ejemplo 124

*(4-Ciclopropilamino-2-metilsulfanil-pirimidin-5-il)-metanol, p.f. 134-135°C*

#### Ejemplo 125

*4-Ciclopropilamino-2-metilsulfanil-pirimidina-5-carboxaldehído, p.f. 63-64°C*

#### Ejemplo 128

*Éster etílico del ácido 3-(4-ciclopropilamino-2-metilsulfanil-pirimidin-5-il)-acrílico, aceite*

#### Ejemplo 149

*(4-Cicloheptilamino-2-metilsulfanil-pirimidin-5-il)-metanol, p.f. 141-143°C*

#### Ejemplo 168

*Éster terc-butílico del ácido 1-(4-nitro-fenil)-pirrolidina-2-carboxílico (S), p.f. 103-104°C*

#### Ejemplo 169

*Éster terc-butílico del ácido 1-(4-amino-fenil)-pirrolidina-2-carboxílico (S), p.f. 75-76°C*

#### Ejemplo 172

*[1-(4-Nitro-fenil)-piperidin-3-il]-metanol (racémico), p.f. 99-100°C*

## ES 2 301 194 T3

Ejemplo 173

*[1-(4-Amino-fenil)-piperidin-3-il]-metanol (racémico), p.f. 108-110°C*

5

Ejemplo 174

*[4-(Biciclo[2.2.1]hept-2-ilamino)-2-metilsulfanil-pirimidin-5-il]-metanol (exo), p.f. 117-118°C.*

10

Ejemplo 186

*2-[1-(4-Nitro-fenil)-piperidin-4-il]-etanol, p.f. 60-61°C*

15

Ejemplo 187

*3-[1-(4-Nitro-fenil)-piperidin-4-il]-propan-1-ol, p.f. 166-167°C*

20

Ejemplo 188

*2-[1-(4-Amino-fenil)-piperidin-4-il]-etanol, p.f. 121-122°C*

25

Ejemplo 189

*3-[1-(4-Amino-fenil)-piperidin-4-il]-propan-1-ol, p.f. 98-99°C*

30

Ejemplo 192

*[1-(4-Nitro-fenil)-piperidin-2-il]-metanol, p.f. 68-69°C*

35

Ejemplo 193

*1-(4-Nitro-fenil)-piperidin-4-ol, p.f. 99-100°C*

40

Ejemplo 194

*1-(4-Amino-fenil)-piperidin-4-ol, p.f. 168-169°C*

45

Ejemplo 199

*[1-(4-Amino-fenil)-piperidin-2-il]-metanol, p.f. 91-92°C*

50

Ejemplo 204

*1-(4-Nitro-fenil)-piperidin-3-ol, p.f. 112-113°C*

55

Ejemplo 205

*1-(4-Amino-fenil)-piperidin-3-ol, p.f. 101-102°C*

60

Ejemplo 208

*Dimetil-[1-(4-nitro-fenil)-piperidin-4-il]-amina, p.f. 102-103°C*

65

## ES 2 301 194 T3

Ejemplo 209

*1'-(4-Nitro-fenil)-[1,4']bipiperidinilo, p.f. 90-91°C*

Ejemplo 210

*[1-(4-Amino-fenil)-piperidin-4-il]-dimetil-amina, p.f. 126-127°C*

Ejemplo 222

*2-Bencilamino-8-ciclohexil-8H-pirido[2,3-d]pirimidin-7-ona, p.f. 183-184°C*

Ejemplo 238

*Éster etílico del ácido 3-{4-[2-(terc-butil-dimetil-silanilo)-ciclopentilamino]-2-metilsulfanil-pirimidin-5-il}-acrílico*

MS (CI) m/z 438 (M<sup>+</sup>).

Ejemplo 243

*Éster etílico del ácido 4-[5-(2-etoxicarbonil-vinil)-2-metilsulfanil-pirimidin-4-il-amino]-piperidina-1-carboxílico, aceite*

MS (CI) m/z 395 (M + 1).

Ejemplo 244

*Éster etílico del ácido 4-(2-metanosulfanil-7-oxo-7H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)piperidina-1-carboxílico, p.f. 165-167°C*

Ejemplo 245

*Éster etílico del ácido 4-(2-metanosulfonil-7-oxo-7H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il)-piperidina-1-carboxílico, p.f. 151-154°C*

MS (CI) m/z 365 (M + 1).

Ejemplo 246

*Éster etílico del ácido 4-[7-oxo-2-(4-piperidin-1-il-fenilamino)-7H-pirido[2,3-d]pirimidin-8-il]-piperidina-1-carboxílico, p.f. 231-233°C*

Ejemplo 248

*2-(3-Bromo-2,2-dimetil-propoxi)-tetrahidro-pirano, aceite*

Como se ha indicado anteriormente, los compuestos de esta invención son potentes inhibidores de quinasas dependientes de ciclina y, por consiguiente, son útiles en el tratamiento y prevención de aterosclerosis y otros trastornos proliferativos celulares tales como un cáncer. Los compuestos han demostrado una excelente actividad inhibidora contra una gran diversidad de quinasas dependientes de ciclina, todo ello en sistemas de ensayo utilizados habitualmente para medir dicha actividad. Un ensayo típico, por ejemplo, mide la actividad inhibidora contra la enzima quinasa 4 dependiente de ciclina D (cdk4/D). Los compuestos de la invención de fórmulas I y II muestran valores de CI<sub>50</sub> que varían generalmente de 0,0045 μM a 10 μM. El ensayo de cdk 4 se realizó como se indica a continuación.

*Ensayo de Quinasa Dependiente de Ciclina 4 (cdk4)*

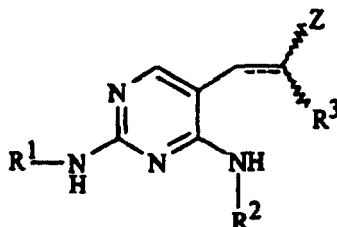
Los ensayos de enzimas para determinaciones de valores de  $CI_{50}$  (Tablas 1 y 2) y la evaluación cinética se realizaron en placas de filtro de 96 pocillos (Millipore MADVN6550). El volumen total era de 0,1 ml que contenían una concentración final de TRIS (tris[hidroximetil]-aminometano) 20 mM, a pH 7,4, NaCl 50 mM, ditiotretitol 1 mM,  $MgCl_2$  10 mM, ATP 25  $\mu$ M que contenía 0,25  $\mu$ Ci de [ $^{32}$ P]ATP, 20 ng de cdk4, 1  $\mu$ g de retinoblastoma y diluciones apropiadas de un compuesto de la presente invención. Todos los componentes excepto el ATP se añadieron a los pocillos y la placa se colocó sobre un mezclador para placas durante 2 minutos. La reacción se inició mediante la adición de [ $^{32}$ P]ATP y la placa se incubó a 25°C durante 15 minutos. La reacción se terminó mediante la adición de 0,1 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 20%. La placa se mantuvo a 4°C durante al menos 1 hora para permitir la precipitación del sustrato. Después, los pocillos se lavaron cinco veces con 0,2 ml de TCA al 10% y la incorporación de  $^{32}$ P se determinó con un contador de placas beta (Wallac Inc., Gaithersburg, MD).

*Ensayos de Quinasas Dependientes de Ciclina (cdk2/ciclinaE, cdk2/ciclinaA, cdc2/ciclinaB)*

Los ensayos enzimáticos para determinaciones de  $CI_{50}$  y la evaluación cinética se realizaron en una placa de filtro de 96 pocillos (Millipore MADVN6550) en un volumen total de 0,1 ml de TRIS (tris[hidroximetil]aminometano) 20 mM, a pH 7,4, NaCl 50 mM, ditiotretitol 1 mM,  $MgCl_2$  10 mM, ATP 12 mM que contenía 0,25  $\mu$ Ci de [ $^{32}$ P]ATP, 20 ng de enzima (bien cdk2/ciclinaE, bien cdk2/A o bien cdc2/ciclinaB), 1  $\mu$ g de retinoblastoma y diluciones apropiadas del compuesto de la invención particular. Todos los componentes excepto el ATP se añadieron a los pocillos y la placa se colocó sobre un mezclador para placas durante 2 minutos. La reacción se comenzó mediante la adición de [ $^{32}$ P]ATP y la placa se incubó a 25°C durante 15 minutos. La reacción se terminó mediante la adición de 0,1 ml de TCA al 20%. La placa se mantuvo a 4°C durante al menos 1 hora para permitir la precipitación del sustrato. Los pocillos se lavaron a continuación cinco veces con 0,2 ml de TCA al 10% y la incorporación de  $^{32}$ P se determinó con un contador de placas beta (Wallac Inc., Gaithersburg, MD).

Cuando se midió contra cdk2/E, los compuestos de la invención mostraron valores de  $CI_{50}$  que variaban generalmente de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 25  $\mu$ M. Contra cdk2/A, los compuestos mostraron valores de  $CI_{50}$  que variaban de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 14  $\mu$ M, y contra cdk2/B, generalmente de aproximadamente 0,06 a aproximadamente 40  $\mu$ M. Los ensayos se realizaron como se ha descrito anteriormente y los datos específicos se dan en la Tabla 2.

TABLA 2



Ejemplo	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Enlace	Z	cdk4/ $CI_{50}$ $CI_{50}$ $\mu$ M	% de inhibición de cdk4/D a 40 $\mu$ M
17	Ph	Et	H	doble trans	COOEt	2	
68	Ph	Et	H	sencillo	COOEt	90	37%
28	Ph	H	H	doble trans	COOEt	65	
73	Ph	Et	Me	doble trans	COOEt		58%
72	Ph	Et	H	doble trans	CN		18%

Diversos compuestos de la invención también han mostrado una buena actividad inhibidora contra enzimas cdk6/D<sub>2</sub> y cdk6/D<sub>3</sub>. Estos ensayos se realizan de una manera similar a la descrita anteriormente para cdk4, empleando simplemente la enzima quinasa cdk6 apropiada. Los compuestos de la invención han mostrado valores de CI<sub>50</sub> que varían de aproximadamente 0,009  $\mu$ M a aproximadamente 0,2  $\mu$ M. El compuesto del Ejemplo 214, por ejemplo, tenía un valor de CI<sub>50</sub> de 0,0071  $\mu$ M contra cdk6/D<sub>2</sub> y un valor de CI<sub>50</sub> de 0,013  $\mu$ M contra cdk6/D<sub>3</sub>.

Los compuestos de fórmula II también han mostrado buena actividad inhibidora contra ciertas enzimas tirosina quinasa asociadas con receptores de factores de crecimiento, incluyendo el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). Los compuestos sólo muestran una actividad marginal contra la tirosina quinasa asociada al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF). Los compuestos de la invención varían en los valores de inhibición de CI<sub>50</sub> contra la tirosina quinasa FGF generalmente de aproximadamente 0,004 a aproximadamente 40  $\mu$ M. Contra la tirosina quinasa PDGF, los compuestos de la invención muestran un valor de CI<sub>50</sub> de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 40  $\mu$ M. Los ensayos usados para determinar estas actividades se llevaron a cabo como sigue:

#### *Purificación de Tirosina Quinasa Asociada al Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico*

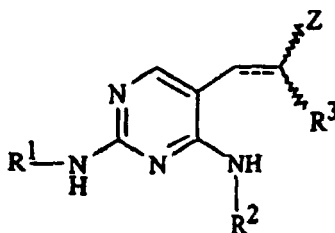
Se aisló tirosina quinasa asociada al receptor de EGF humano a partir de células de carcinoma epidermoide A431 por medio del siguiente método. Las células se cultivaron en frascos cilíndricos en medio de Eagle modificado por Dulbecco al 50% y medio nutriente HAM F-12 (Gibco) al 50% que contenía suero bovino fetal al 10%. Se lisaron aproximadamente 10<sup>9</sup> células en dos volúmenes de tampón que contenía ácido 2-(4N-[2-hidroximetil]-piperazin-1-il) etanosulfónico 20 mM, pH 7,4, ácido etilenglicol bis(2-aminoetil éter) N,N,N',N'-tetraacético 5 mM, Triton X-100 al 1%, glicerol al 10%, ortovanadato sódico 0,1 mM, fluoruro sódico 5 mM, pirofosfato 4 mM, benzamida 4 mM, ditiotritol 1 mM, 80  $\mu$ g/ml de aprotinina, 40  $\mu$ g/ml de leupeptina y fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF). Después de una centrifugación a 25.000 x g durante 10 minutos, el sobrenadante se equilibró durante 2 horas a 4  $\mu$ C con 10 ml de sepharose con aglutinina de germen de trigo que se había equilibrado previamente con Hepes 50 mM, glicerol al 10%, Triton X-100 al 0,1% y NaCl 150 mM, pH 7,5 (tampón de equilibrio). Se retiraron las proteínas contaminantes de la resina por lavado con NaCl 1 M en tampón de equilibrio y la enzima se eluyó con N-acetil-1-D-glucosamina 0,5 M en tampón de equilibrio.

#### *Ensayos de Tirosina Quinasas Asociadas a Receptores de PDGF y FGF*

Se obtuvieron ADNc de longitud completa para las tirosina quinasas asociadas a receptores de PDGF- $\beta$  de ratón y FGF-1 (flg) humano de J. Escobedo y se prepararon como se describe en J. Biol. Chem., 1991;262:1482-1487. Se diseñaron cebadores de PCR para amplificar un fragmento de DNA que codifica el dominio de tirosina quinasa intracelular. El fragmento se insertó en un vector de baculovirus, se cotransfectó con DNA de AcMNPV y el virus recombinante se aisló. Se infectaron células de insecto SF9 con el virus para sobreexpresar la proteína y el lisado celular se usó para el ensayo. Los ensayos se realizaron en placas de 96 pocillos (100  $\mu$ l/incubación/pocillo) y las condiciones se optimizaron para medir la incorporación de <sup>32</sup>P a partir de  $\gamma$ -<sup>32</sup>P-ATP en un sustrato de copolímero de glutamato-tirosina. En resumen, se añadieron a cada pocillo 82,5  $\mu$ l de tampón de incubación que contenía Hepes 25 mM (pH 7,0), NaCl 150 mM, Triton X-100 al 0,1%, PMSF 0,2 mM, Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> 0,2 mM, MnCl<sub>2</sub> 10 mM y 750  $\mu$ g/ml de poli(glutamato-tirosina (4:1)), seguido por 2,5  $\mu$ l de inhibidor y 5  $\mu$ l de lisado enzimático (7,5  $\mu$ g/ $\mu$ l de FGF-TK o 6,0  $\mu$ g/ $\mu$ l de PDGF-TK) para iniciar la reacción. Después de una incubación de 10 minutos a 25°C, se añadieron a cada pocillo 10 ml de  $\gamma$ -<sup>32</sup>P-ATP (0,4  $\mu$ Ci más ATP 50  $\mu$ M) y las muestras se incubaron durante 10 minutos adicionales a 25°C. La reacción se terminó mediante la adición de 100  $\mu$ l de ácido tricloroacético (TCA) al 30% que contenía pirofosfato sódico 20 mM y la precipitación de material sobre esterillas de fibra de vidrio (Wallac). Los filtros se lavaron tres veces con TCA al 15% que contenía pirofosfato sódico 100 mM y la radiactividad retenida sobre los filtros se contó en un lector Wallac 1250 Betaplate. La actividad no específica se definió como la radiactividad retenida sobre los filtros después de la incubación de muestras con tampón solo (sin enzima). La actividad enzimática (enzima más tampón) se definió como la actividad total menos la actividad no específica. La concentración de compuesto que inhibía la actividad específica en 50% (CI<sub>50</sub>) se determinó basándose en la curva de inhibición y los resultados típicos se presentan en la Tabla 4.



TABLA 4



Ejemplo	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Z	Enlace	PDGF	FGF CI <sub>50</sub> μM
17	Ph	Et	H	COOEt	doble trans	3,7	4,5

La familia de proteína quinasas denominada Src, que contienen un dominio SH2, están implicadas en varias rutas de señalización celular. Por ejemplo, Src está implicada en la señalización de receptores de factores de crecimiento; la señalización mediada por integrinas; la activación de células T y B y la activación de osteoclastos. Se sabe que el dominio SH2 de Src se une a varias tirosina quinasas asociadas a receptores y no asociadas a receptores clave tales como tirosina quinasas que contienen receptores para PDGF, EGF, HER2/Neu (una forma oncogénica de EGF), FGF, quinasa de adhesión focal, proteína p130 y proteína p68. Además, se ha observado que pp60c-Src está implicada en la regulación de la síntesis de DNA, la mitosis y otras actividades celulares.

Así, sería útil tener compuestos que inhibieran la unión de proteínas que contienen un dominio SH2 a proteínas fosforiladas afines, ya que la inhibición de la unión de proteínas que contienen un dominio SH2 a proteínas fosforiladas afines puede usarse para tratar enfermedades proliferativas tales como cáncer, osteoporosis, inflamación, alergia, reestenosis y enfermedad cardiovascular, que se basan todas en la transducción de señales que implica proteínas que contienen un dominio SH2 que se une a proteínas fosforiladas durante el procedimiento de señalización celular.

Varios compuestos de la invención se han evaluado en un ensayo convencional para medir su capacidad de inhibir la proteína quinasa Src celular (c-Src). Los compuestos de la invención han mostrado valores de CI<sub>50</sub> que varían en general de aproximadamente 0,1 μM a aproximadamente 50 μM. El ensayo se realizó como se indica a continuación.

La quinasa c-Src se purificó a partir de lisados de células de insecto infectadas con baculovirus usando un anticuerpo monoclonal anti-peptídico dirigido contra los aminoácidos N-terminales (aminoácidos 2-17) de c-Src. El anticuerpo, enlazado covalentemente a perlas de látex de 0,65 μm, se añadió a una suspensión de tampón de lisis para células de insecto compuesta por NaCl 150 mM, Tris 50 mM pH 7,5, DTT 1 mM, NP-40 al 1%, EGTA 2 mM, vanadato sódico 1 mM, PMSF 1 mM, 1 μg/ml de cada una de leupeptina, pepstatina y aprotinina. El lisado de células de insecto que contenía proteína c-Src se incubó con estas perlas durante 3 a 4 horas a 4°C con rotación. Al final de la incubación del lisado, las perlas se enjuagaron tres veces en tampón de lisis, se resuspendieron en tampón de lisis que contenía 10% de glicerol y se congelaron. Estas perlas de látex se descongelaron, se enjuagaron tres veces en tampón de ensayo (Tris 40 mM, pH 7,5, MgCl<sub>2</sub> 5 mM) y se suspendieron en el mismo tampón. En una placa de 96 pocillos Millipore con fondo de membrana de polivinilideno de 0,65 μm se añadieron los componentes de la reacción: 10 μl de cuentas con c-Src, 10 μl de sustrato de poliGluTyr a 2,5 mg/ml, ATP 5 μM que contenía 0,2 μCi de <sup>32</sup>P-ATP marcado, 5 μl de DMSO que contenía inhibidores o como un control de disolvente y tampón para formar el volumen final de 125 μl. La reacción se inició a temperatura ambiente mediante la adición del ATP y se extinguió 10 minutos más tarde mediante la adición de 125 μl de TCA al 30%, pirofosfato sódico 0,1 M durante 5 minutos sobre hielo. La placa se filtró a continuación y los pocillos se lavaron con dos alícuotas de TCA al 15%, pirofosfato 0,1 M. Los filtros se troquelaron a continuación, se contaron en un contador de centelleo de líquidos y los datos se examinaron con respecto a la actividad inhibidora en comparación con un inhibidor conocido tal como erbstatina. El método también se describe en J. Med. Chem., 1994;37:598-609.

También se ha demostrado que los compuestos de la invención presentan biodisponibilidad en animales, alcanzando niveles plasmáticos máximos en ratones desnudos en el intervalo de aproximadamente 10 nM a aproximadamente 200 nM dentro de un periodo de 30 minutos desde la dosificación oral a niveles de aproximadamente 4 a 5 mg/kg como suspensiones en soluciones tampón de lactato que tenían un pH de 4,0. Por ejemplo, el compuesto del Ejemplo 60 se administró por vía oral a 5 mg/kg a ratones, y se midieron niveles plasmáticos de aproximadamente 200 nM 30 minutos después de la dosificación. El compuesto también se administró por vía intraperitoneal a 12 mg/kg y produjo una concentración plasmática máxima de 10.000 nM 30 minutos después de la dosificación. Cuando se evaluó en ratones hembra desnudos que tenían xenoinjertos de tumor mamario humano MCF-7, el compuesto del Ejemplo 60 mostró inhibiciones del crecimiento de los tumores estadísticamente no significativas a dosis de 5 a 20 mg/kg cuando se administró en un programa de q12h x 2; Días 1-14

## ES 2 301 194 T3

Los compuestos de la invención pueden formularse de maneras convencionales para proporcionar formas de dosificación convenientes para el aporte a mamíferos mediante diversas vías, incluyendo la vía oral, parenteral (es decir, subcutánea, intravenosa e intramuscular), transdérmica, por ejemplo, parche de liberación lenta o crema, así como mediante dispositivos de aporte de liberación lenta tales como bombas osmóticas y supositorios y sellos bucales. Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente cómo se formulan fácilmente los compuestos.

### Ejemplo 272

#### Formulación para Comprimidos de 50 mg

	Por		Por 10.000
15	Comprimido		Comprimidos
	0,050 g	2-bencilamino-8-ciclopropil-8H-pirido[2,3-d]pirimidin-7-ona	500 g
20	0,080 g	lactosa	800 g
	0,010 g	almidón de maíz (para mezclar)	100 g
25	0,008 g	almidón de maíz (para pasta)	80 g
	<hr/> 0,148 g		<hr/> 1480 g
	0,002 g	estearato de magnesio (1%)	20 g
30	<hr/> 0,150 g		<hr/> 1500 g

La pirido pirimidina, la lactosa y el almidón de maíz (para mezcla) se mezclan a uniformidad. El almidón de maíz (para pasta) se suspende en 600 ml de agua y se calienta con agitación para formar una pasta. Esta pasta se usa para granular los polvos mezclados. Los gránulos húmedos se pasan por un tamiz manual n° 8 y se secan a 80°C. Los gránulos secos se hacen pasar a continuación a través de un tamiz N° 16. La mezcla se lubrica con estearato de magnesio al 1% y se comprime como comprimidos en una máquina de formación de comprimidos convencional. Los comprimidos son útiles para tratar cánceres tales como cáncer de mama, de próstata, de pulmón, de ovario, de colon, pancreático, melanoma, de esófago, cerebral, sarcoma de Kaposi y linfomas.

### Ejemplo 273

#### Preparación de Suspensión Oral

	Ingrediente	Cantidad
50	8-Etil-2-(4-pirrol-1-il-fenilamino)-8H-pirido[2,3-d]pirimidin-7-ona	500 mg
	Solución de sorbitol (70% N.F.)	40 ml
	Benzoato sódico	150 mg
55	Sacarina	10 mg
	Sabor de cereza	50 mg
60	Agua destilada cs	100 ml

La solución de sorbitol se añade a 40 ml de agua destilada y la pirido pirimidina se suspende en ella. La sacarina, el benzoato sódico y el agente saporífero se añaden y se disuelven. El volumen se ajusta a 100 ml con agua destilada. Cada mililitro de jarabe contiene 5 mg de compuesto de la invención.

## Ejemplo 274

*Preparación de Solución Parenteral*

En una solución de 700 ml de propilenglicol y 200 ml de agua para inyección se suspenden 20,0 g de 8-biciclo[2.2.1]hept-2-il-2-fenilamino-8H-pirido[2,3-d]pirimidin-7-ona con agitación. Después de que la suspensión sea completa, el pH se ajusta hasta 5,5 con ácido clorhídrico y el volumen se lleva hasta 1000 ml con agua para inyección. La formulación se esteriliza, se introduce en ampollas de 5,0 ml, que contienen cada una 2,0 ml (que representan 40 mg del compuesto de la invención) y se sellan bajo nitrógeno.

## Ejemplo 275

*Supositorios*

Una mezcla de 400 mg de 8-(2-hidroxi-ciclopentil)-2-(4-piperidin-1-il-fenilamino)-8H-pirido[2,3-d]pirimidin-7-ona y 600 mg de aceite de teobroma se agita a 60°C a uniformidad. La mezcla se enfría y se deja endurecer en un molde ahusado para proporcionar un supositorio de 1 g.

## Ejemplo 276

*Formulación de Liberación Lenta*

Se convierten 500 mg de 8-(3-hidroxipropil)-2-(4-piperidin-1-il-fenilamino)-8H-pirido[2,3-d]pirimidin-7-ona en una sal hidrocloreto y se ponen en una bomba osmótica Oros para la liberación controlada para el tratamiento de la aterosclerosis.

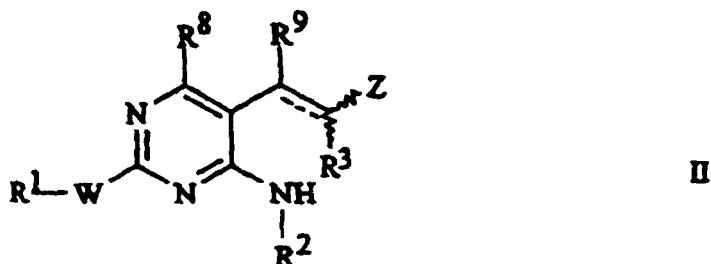
## Ejemplo 277

*Formulación de Parche Cutáneo*

Se mezclan 50 mg de (8-biciclo[2.2.1]hept-2-il-2-[4-[4-(2-morfolin-4-il-etil)-piperidin-1-il]-fenilamino]-8H-pirido[2,3-d]pirimidin-7-ona (exo)) con 50 mg de monolaurato de propilenglicol en un adhesivo de polidimetilsiloxano. La mezcla se dispone en forma de capa sobre una película elástica elaborada con una formulación adhesiva de polibuteno, poliisobutileno y monolaurato de propilenglicol. Las capas se ponen entre 2 capas de película de poliuretano. Un revestimiento de liberación se liga a la superficie adhesiva y se retira antes de la aplicación a una superficie cutánea. El monolaurato de propilenglicol sirve como un agente potenciador de la penetración.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula general II:



en la que:

la línea de puntos representa un doble enlace opcional de estereoquímica trans o cis;

W es NH, S, SO o SO<sub>2</sub>;

Z es COOR<sup>7</sup>, CN, CHO, CH<sub>2</sub>OR<sup>7</sup>, CH<sub>2</sub>NHR<sup>7</sup>, CONHR<sup>7</sup> o COR<sup>7</sup>;

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en

H,

(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>Ar, donde el grupo arilo se selecciona entre fenilo o naftilo

(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>heteroarilo, donde el grupo heteroarilo tiene de 4 a 9 átomos en el anillo, 1 a 4 de los cuales se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en O, S y N, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>heterociclo, que se refiere a un grupo cicloalquilo como se define a continuación, que tiene al menos un heteroátomo seleccionado entre O, S, NR<sub>2</sub>,

alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>,

cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>,

alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, y

alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>,

donde n es 0, 1, 2 ó 3 y los grupos

(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>Ar, alquilo, cicloalquilo, alquenilo y alquinilo están opcionalmente sustituidos con grupos de

NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>,

N(O)R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>,

NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>R<sup>6</sup>Y,

fenilo,

fenilo sustituido con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, tio, tio-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, hidroxí, -COOR<sup>7</sup>, amino de la fórmula -NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup> y T(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>QR<sup>4</sup> o T(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>, donde m es de 1 a 6, T es O, S, NR<sup>4</sup>, N(O)R<sup>4</sup>, NR<sup>4</sup>R<sup>6</sup>Y o CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, Q es O, S, NR<sup>5</sup>, N(O)R<sup>5</sup> o NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>Y,

hidroxí,

alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>,

fenoxí,

tiol,

tio-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>

## ES 2 301 194 T3

halo,

$\text{COR}^4$ ,

5  $\text{CO}_2\text{R}^4$ ,

$\text{CONR}^4\text{R}^5$ ,

10  $\text{SO}_2\text{NR}^4\text{R}^5$ ,

$\text{SO}_3\text{R}^4$ ,

$\text{PO}_3\text{R}^4$ ,

15 aldehído,

nitrilo,

20 nitro,

heteroariloxi, donde el grupo heteroarilo es como se ha definido anteriormente,

$\text{T}(\text{CH}_2)_m\text{QR}^4$ ,  $\text{C}(\text{O})\text{T}(\text{CH}_2)_m\text{QR}^4$ ,  $\text{NHC}(\text{O})\text{T}(\text{CH}_2)_m\text{QR}^4$  o  $\text{T}(\text{CH}_2)_m\text{CO}_2\text{R}^4$ , donde m es de 1 a 6, T es O, S,  $\text{NR}^4$ , N

(O) $\text{R}^4$ ,  $\text{NR}^4\text{R}^5\text{Y}$  o  $\text{CR}^4\text{R}^5$ , Q es O, S,  $\text{NR}^5$ ,  $\text{N}(\text{O})\text{R}^5$ ,

25 o  $\text{NR}^5\text{R}^6\text{Y}$

$\text{R}^3$  es H o alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$

30  $\text{R}^4$  y  $\text{R}^5$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en

hidrógeno,

35 alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$

alquilo sustituido como se ha definido anteriormente

alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_6$ ,

40 alquino  $\text{C}_2\text{-C}_6$ ,

$(\text{CH}_2)_n\text{Ar}$  como se ha definido anteriormente

45 cicloalquilo  $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ , o

$\text{R}^4$  y  $\text{R}^5$  tomados junto con el nitrógeno al que están unidos forman opcionalmente un anillo que tiene de 3 a 7 átomos de carbono y dicho anillo contiene opcionalmente 1, 2 ó 3 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en

50 nitrógeno,

nitrógeno sustituido, donde la expresión “nitrógeno sustituido” se refiere al nitrógeno que tiene el grupo alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$  o  $(\text{CH}_2)_n\text{Ph}$ , donde n es 1, 2 ó 3,

55 oxígeno, y

azufre;

60  $\text{R}^6$  es alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ ;

Y es un contraíón halo;

$\text{R}^7$  es uno de H, alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$  o fenilo;

65  $\text{R}^8$  y  $\text{R}^9$  son independientemente

H,

alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>,

NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>,

N(O)R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>,

NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>R<sup>6</sup>Y,

hidroxi,

alcoxi como se ha definido anteriormente,

tiol,

tioalquilo como se ha definido anteriormente,

halo,

COR<sup>4</sup>, CO<sup>2</sup>R<sup>4</sup>,

CONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, SO<sub>2</sub>NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, SO<sub>3</sub>R<sup>4</sup>, PO<sub>3</sub>R<sup>4</sup>, CHO, CN o NO<sub>2</sub>;

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

2. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que W es NH, y R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> son los dos hidrógeno.

3. Un compuesto de la reivindicación 2, en el que R<sup>1</sup> es fenilo o fenilo sustituido como se ha definido anteriormente.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, que es:

3-(4-Etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)acrilato de etilo;

3-(4-Amino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)acrilato de etilo;

Éster etílico del ácido 3-(4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)propiónico;

3-(4-Etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)-acrilonitrilo; y

Éster etílico del ácido 3-(4-etilamino-2-fenilamino-pirimidin-5-il)-but-2-enoico;

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que W es S, SO o SO<sub>2</sub>.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, que es:

3-(4-Amino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo;

3-(4-Etilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo;

3-(4-Metilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo;

3-(4-Metilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)-acrilonitrilo;

3-(4-Ciclopentilamino-2-metanosulfanil-pirimidin-5-il)acrilato de etilo;

Éster etílico del ácido 3-(4-ciclohexilamino-2-metilsulfanil-pirimidin-5-il)-acrílico;

Éster etílico del ácido 3-(4-ciclopropilamino-2-metilsulfanil-pirimidin-5-il)-acrílico; y

Éster etílico del ácido 4-[5-(2-etoxicarbonil-vinil)-2-metilsulfanil-pirimidin-4-il-amino]-piperidina-1-carboxílico.

7. Una formulación farmacéutica que comprende un compuesto seleccionado entre las reivindicaciones 1-6 junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

8. Uso de un compuesto seleccionado entre una de las reivindicaciones 1-6 para la preparación de una composición farmacéutica para controlar trastornos proliferativos seleccionados entre el grupo que consiste en cáncer, psoriasis, proliferación del músculo liso vascular asociada con un trastorno seleccionado entre el grupo que consiste en aterosclerosis, estenosis vascular post-quirúrgica y reestenosis en mamíferos.

9. Uso de un compuesto seleccionado entre una de las reivindicaciones 1-6 para la preparación de una composición farmacéutica para inhibir una quinasa dependiente de ciclina.

10. Uso de la reivindicación 9 en el que dicha quinasa dependiente de ciclina es cdc2.

11. Uso de la reivindicación 9 en el que dicha quinasa dependiente de ciclina es cdk2.

12. Uso de la reivindicación 9 en el que dicha quinasa dependiente de ciclina es cdk4 o cdk6.

13. Uso de un compuesto seleccionado entre una de las reivindicaciones 1-6 para la preparación de una composición farmacéutica para inhibir una tirosina quinasa mediada por factor de crecimiento.

14. Uso de la reivindicación 13 en el que dicha tirosina quinasa mediada por factor de crecimiento es el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).

15. Uso de la reivindicación 13 en el que dicha tirosina quinasa mediada por factor de crecimiento es el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF).

16. Uso de un compuesto seleccionado entre una de las reivindicaciones 1-6 para la preparación de una composición farmacéutica para tratar a un sujeto que padece enfermedades provocadas por la proliferación celular del músculo liso vascular.

17. Uso de un compuesto seleccionado entre una de las reivindicaciones 1-6 para la preparación de una composición farmacéutica para tratar a un sujeto que padece cáncer.

18. Un método para inhibir una quinasa dependiente de ciclina que comprende poner en contacto la quinasa dependiente de ciclina con un compuesto seleccionado entre una de las reivindicaciones 1-6.

19. Un método de la reivindicación 18 en el que dicha quinasa dependiente de ciclina es cdc2.

20. Un método de la reivindicación 18 en el que dicha quinasa dependiente de ciclina es cdk2.

21. Un método de la reivindicación 18 en el que dicha quinasa dependiente de ciclina es cdk4 o cdk6.

22. Un método para inhibir una tirosina quinasa mediada por factor de crecimiento que comprende poner en contacto dicha quinasa mediada por factor de crecimiento con un compuesto seleccionado entre una de las reivindicaciones 1-6.

23. Un método de la reivindicación 22 en el que dicha tirosina quinasa mediada por factor de crecimiento es el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).

24. Un método de la reivindicación 22 en el que dicha tirosina quinasa mediada por factor de crecimiento es el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF).