

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 689**

51 Int. Cl.:

A61K 31/505 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.05.2009** **PCT/US2009/044918**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.11.2009** **WO09143389**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.05.2009** **E 09751617 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **13.11.2024** **EP 2300013**

54 Título: **Derivados fosforados como inhibidores de quinasa**

30 Prioridad:

31.07.2008 US 137490 P
13.08.2008 US 188796 P
21.05.2008 US 128317 P
23.09.2008 US 192938 P
23.09.2008 US 192964 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente modificada:
24.06.2025

73 Titular/es:

TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED
(100.00%)
1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku
Osaka-shi, Osaka, JP

72 Inventor/es:

WANG, YIHAN;
HUANG, WEI-SHENG;
LIU, SHUANGYING;
SHAKESPEARE, WILLIAM, C.;
THOMAS, R., MATHEW;
QI, JIWEI;
LI, FENG;
ZHU, XIAOTIAN;
KOHLMANN, ANNA;
DALGARNO, DAVID, C.;
ROMERO, JAN, ANTOINETTE, C. y
ZOU, DONG

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

DESCRIPCIÓN

Derivados fosforados como inhibidores de quinasa

5 Antecedentes de la invención

Las proteínas quinasas representan una gran familia de proteínas que desempeñan un papel central en la regulación de una amplia variedad de procesos celulares y mantienen el control sobre la función celular. Una lista parcial, no limitante, de dichas quinasas incluye ALK, abl, Akt, bcr-abl, Blk, Brk, c-kit, c-met, c-src, CDK1, 10 CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8, CDK9, CDK10, bRaf, cRaf1, CSK, EGFR, ErbB2, ErbB3, ErbB4, Erk, Pak, fes, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FGFR5, Fgr, flt-1, flt-3, Fps, Frk, Fyn, Hck, IGF-1R, INS-R, Jak1, Jak2, Jak3, KDR, Lck, Lyn, FAK, MEK, p38, PDGFR, PIK, PKC, PYK2, ros, tie, tie2, Pim-1, PI3k, TRK y Zap70. La actividad anormal de la proteína quinasa se ha relacionado con varios trastornos, que van desde enfermedades no potencialmente mortales, tales como la psoriasis, hasta enfermedades 15 extremadamente graves, tales como el cáncer.

En vista de este gran número de proteínas quinasas y la multitud de enfermedades relacionadas con las proteínas quinasas, hay una necesidad siempre existente de proporcionar nuevas clases de compuestos con mayor selectividad que sean útiles como inhibidores de proteínas quinasas y, por lo tanto, útiles en el 20 tratamiento de enfermedades relacionadas con las proteínas tirosina quinasas.

La publicación internacional WO 2004/080980 describe 2,4-di(fenilamino)pirimidinas útiles en el tratamiento de trastornos neoplásicos, inflamatorios y del sistema inmunitario. Un compuesto descrito en esta publicación también se describe como compuesto NVP-TAE684 en PNAS, vol. 104, n.º 1, 2007, 270-275.

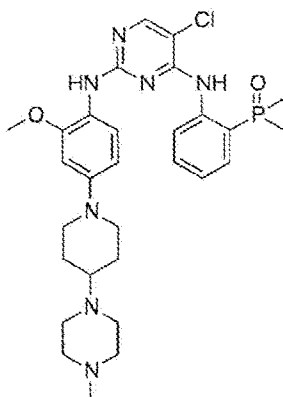
25 La invención se refiere a un nuevo compuesto de fósforo y a su uso en el tratamiento de cánceres y otras enfermedades.

30 Descripción de la invención

1. Descripción general del compuesto de la invención

El compuesto de la invención puede tener una amplia variedad de actividades biológicas y farmacológicas útiles, que permiten su uso en composiciones farmacéuticas y métodos para el tratamiento del cáncer 35 (incluyendo linfoma, tumores sólidos y leucemia entre otros cánceres), incluyendo, también entre otros, casos avanzados y casos que son resistentes o refractarios a uno o más de otros tratamientos.

La invención proporciona un compuesto de la fórmula:

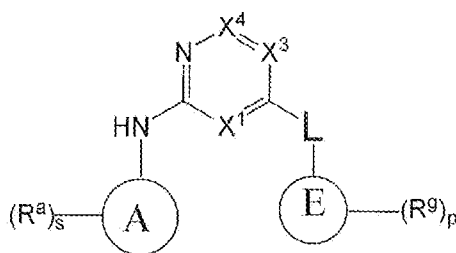


40

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se describen en el presente documento (pero no se reivindican) compuestos de Fórmula VIa:

45



Fórmula VIa

5 en donde

X^1 es N;

X^3 es CR^d ;

10

X^4 es CR^e ;

El anillo A y el anillo E son cada uno anillos de fenilo;

15

cada caso de R^a , R^b , R^d , R^e y R^g se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno -CN, -NO₂, -R¹, -OR², -O-NR¹R², -NR¹-NR¹R², -NR¹-OR², -C(O)YR², -OC(O)YR², -NR¹C(O)YR², -SC(O)YR², -NR¹C(=S)YR², -OC(=S)YR², -C(=S)YR², -YC(=NR¹)YR², -YC(=N-OR¹)YR², -YC(=N-NR¹R²)YR², -YP(=O)(YR³)(YR³), -Si(R^{3a})₃, -NR¹SO₂R², -S(O)_rR², -SO₂NR¹R² y -NR¹SO₂NR¹R²; o alternatively, cada R^a y R^g también puede ser o incluir un resto seleccionado independientemente, -P(=O)(R³)₂ o un sistema de anillo que contiene el resto -P(=O)(R³)- como un miembro del anillo;

20

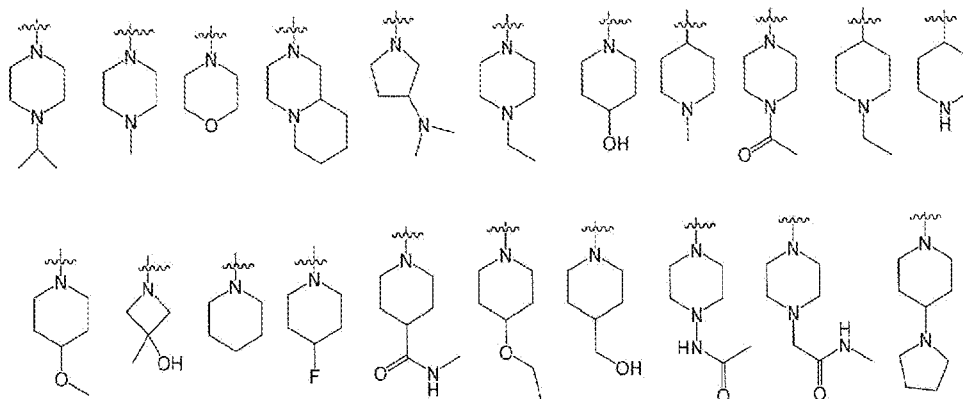
o alternatively, dos restos R^a adyacentes, pueden formar, con los átomos a los que están unidos, un anillo condensado, saturado, parcialmente saturado o insaturado, de 5, 6 o 7 miembros, que contiene 0-4 heteroátomos seleccionados de N, O y S(O)_r y que puede llevar hasta cuatro sustituyentes;

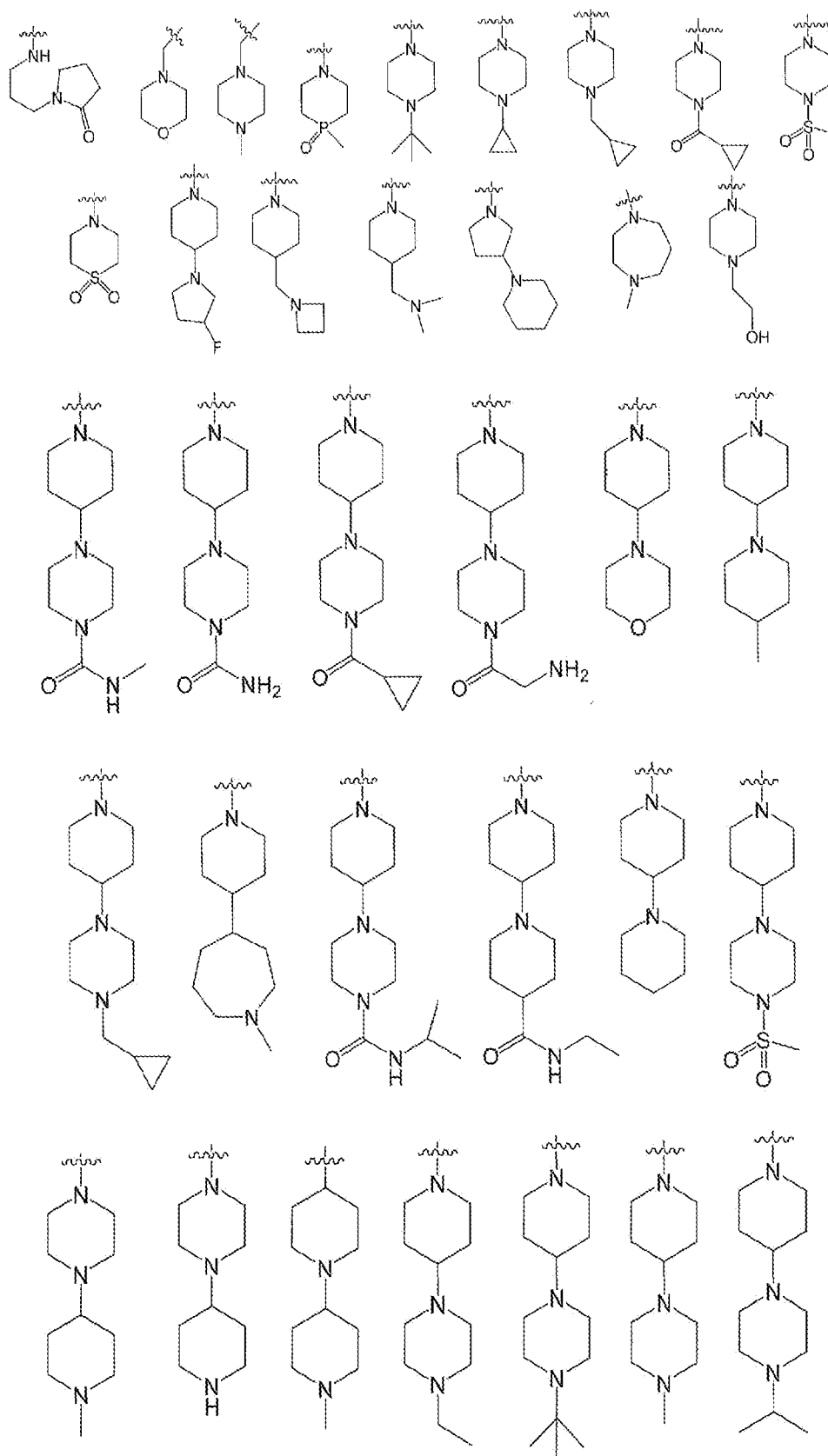
25

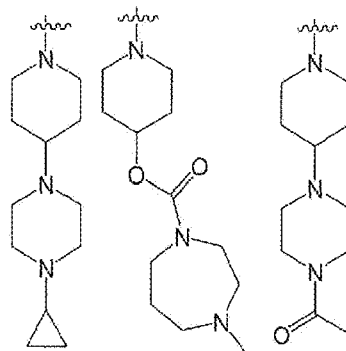
al menos uno de R^a y R^g es o contiene un resto, -P(=O)(R³)₂ o un sistema de anillo que contiene el resto -P(=O)(R³)- como un miembro del anillo;

al menos un R^a se selecciona de los siguientes:

30







conteniendo el anillo A opcionalmente hasta dos restos R^a adicionales;

- 5 el anillo E contiene un resto R^9 que es un resto $-P(=O)(R^3)_2$ orto, meta o para y opcionalmente contiene hasta dos restos R^9 adicionales;

L es NH;

- 10 r es 0, 1 o 2;

s es 1, 2 o 3;

p es 1, 2 o 3;

- 15 cada caso de Y es independientemente un enlace, -O-, -S- o $-NR^1$;

cada caso de R^1 y R^2 es independientemente H o un resto alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, arilo, heteroalquilo, heterocíclico o heteroarilo;

- 20 cada caso de R^3 es independientemente un resto alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, arilo, heteroalquilo, heterocíclico o heteroarilo, o dos restos R^3 adyacentes se combinan para formar un sistema de anillo que incluye un átomo de fósforo;

- 25 cada caso de R^{3a} se selecciona independientemente de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, arilo, heteroalquilo, heterocíclico y heteroarilo;

- 30 alternativamente, cada resto NR^1R^2 puede ser un anillo saturado, parcialmente saturado o insaturado de 5, 6 o 7 miembros, que puede estar opcionalmente sustituido y que contiene 0-2 heteroátomos adicionales seleccionados de N, O y S(O)_i;

los grupos alquilo tienen de 1 a 8 átomos de carbono;

- 35 los grupos alqueno tienen de 2 a 8 átomos de carbono;

los grupos alquino tienen de 2 a 8 átomos de carbono;

los grupos cicloalquilo tienen de 3 a 13 átomos de carbono;

- 40 los grupos cicloalqueno tienen de 3 a 13 átomos de carbono;

los grupos cicloalquino tienen de 5 a 13 átomos de carbono;

- 45 los grupos heteroalquilo son un grupo alquilo, alqueno o alquino ramificado o no ramificado que tiene de 1 a 7 átomos de carbono además de 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados independientemente del grupo que consiste en N, O, S y P;

los grupos arilo son grupos de anillos aromáticos que tienen de 6 a 14 átomos en el anillo;

- 50 los grupos heteroarilo son restos aromáticos heterocíclicos que tienen de 5 a 14 átomos en el anillo que comprenden uno o más anillos;

los grupos heterocíclicos son sistemas de anillos no aromáticos que tienen de 5 a 14 átomos en el anillo en 1,

2 o 3 anillos en los que de 1 a 4 carbonos del anillo están reemplazados cada uno por heteroátomos seleccionados de N, O o S;

5 cada uno de los restos alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heteroalquilo, ariilo, heteroarilo y heterocíclicos no aromáticos anteriores está opcionalmente sustituido;

10 seleccionándose los sustituyentes opcionales en el átomo de carbono insaturado de un grupo ariilo o heteroarilo de halógeno (F, Cl, Br o I), alquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, -CN, -R¹, -OR², -S(O)_rR² (en donde r es un número entero de 0, 1 o 2), -SO₂NR¹R², -NR¹R², -O-NR¹R², -NR¹-NR¹R², -(CO)YR², -O(CO)YR², NR¹(CO)YR², -S(CO)YR², -NR¹C(=S)YR², -OC(=S)YR², -C(=S)YR², -YC(=NR¹)YR², -YC(=N-OR¹)YR², -YC(=N-NR¹R²)YR², -COCOR², -COMCOR² (donde M es un grupo alquilo de 1 a 6 carbonos), -YP(=O)(YR³)(YR³), -Si(R^{3a})₃, -NO₂, -NR¹SO₂R² y -NR¹SO₂NR¹R²;

15 seleccionándose los sustituyentes opcionales en el grupo alquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino o heterocíclico no aromático de halógeno (F, Cl, Br o I), alquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, -CN, -R¹, -OR², -S(O)_rR² (en donde r es un número entero de 0, 1 o 2), -SO₂NR¹R², -NR¹R², -O-NR¹R², -NR¹-NR¹R², -(CO)YR², -O(CO)YR², -NR¹(CO)YR², -S(CO)YR², -NR¹C(=S)YR², -OC(=S)YR², -C(=S)YR², -YC(=NR¹)YR², -YC(=N-OR¹)YR², -YC(=N-NR¹R²)YR², -COCOR², -COMCOR² (donde M es un grupo alquilo de 1-6 carbonos), -YP(=O)(YR³)(YR³), -Si(R^{3a})₃, NO₂, -NR¹SO₂R² y -NR¹SO₂NR¹R²;

20 y (en un átomo de carbono saturado) =O, =S, =NH, =NNR²R³, =NNHC(O)R², =NNHCO₂R², o =NNHSO₂R², en donde R² y R³ en cada caso se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heteroalquilo, ariilo, heteroarilo y heterocíclico;

25 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En ciertas realizaciones específicas de los compuestos de fórmula VIA, R^d se selecciona de Cl, F, alquilo C1-C4, trihaloalquilo, cicloalquilo, alqueno C2-C4 y alquino. En dichas realizaciones, Cl, F, Me y ciclopropilo son de particular interés.

30 Los compuestos de fórmula VIA de particular interés, en general e incluyendo las realizaciones individuales descritas anteriormente, incluyen aquellos en los que cada uno de los sustituyentes adicionales R^a se selecciona independientemente de halógeno, -R¹, -OR², -NR¹R² y -P(=O)(R³)₂, en donde cada R¹ y R² puede estar además sustituido o no sustituido. En ciertas realizaciones, los compuestos incluyen al menos un sustituyente adicional R^a que es -OR² y R² se selecciona de alquilo C1-C6, C2-C6 y alquino C2-C6. En dichos casos, como se ilustra en los compuestos mostrados en el presente documento, MeO-, EtO- e iPrO- se eligen a menudo como un resto R^a.

40 Los compuestos de fórmula VIA, en general e incluyendo las realizaciones individuales descritas hasta ahora, también incluyen compuestos que tienen al menos un sustituyente adicional R^a que es un resto heterocíclico de 5, 6 o 7 miembros o un resto heteroarilo de 5 o 6 miembros, unido al anillo A directamente o por un enlace éter, y que puede estar sustituido además con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno -CN, -NO₂, -R¹, -OR², -O-NR¹R², -NR¹R², -NR¹-NR¹R², -NR¹-OR², -C(O)YR², -OC(O)YR², -NR¹C(O)YR², -SC(O)YR², -NR¹C(=S)YR², -OC(=S)YR², -C(=S)YR², -YC(=NR¹)YR², -YC(=N-OR¹)YR², -YC(=N-NR¹R²)YR², -YP(=O)(YR³)(YR³), -Si(R^{3a})₃, -NR¹SO₂R², -S(O)_rR², -SO₂NR¹R² y -NR¹SO₂NR¹R²; en donde cada Y es independientemente un enlace, -O-, -S- o NR¹.

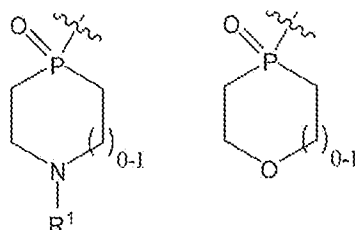
50 Los compuestos de fórmula VIA, en general y, nuevamente, incluyendo las realizaciones individuales descritas hasta ahora, también incluyen compuestos de fórmula VIA en los que al menos uno de los sustituyentes adicionales R^a es o lleva un resto, -P(=O)(R³)₂, en el que R³ es un alquilo C1-C4.

55 Los compuestos de fórmula VIA, en general y, nuevamente, incluyendo las realizaciones descritas hasta ahora, también incluyen realizaciones de fórmula VIA en las que cada uno de los R⁹ adicionales se selecciona independientemente de halógeno, -R¹, -OR², -S(O)_rR² y -P(=O)(R³)₂. En ciertas realizaciones, el anillo E contiene al menos uno de dichos restos R⁹ en la posición orto con respecto al átomo del anillo unido a L. En otras realizaciones, ese resto R⁹ está en la posición meta con respecto al átomo del anillo unido a L, y en otras realizaciones más, ese resto R⁹ está en la posición para con respecto al átomo del anillo unido a L.

60 Las realizaciones de los compuestos de fórmula VIA, en general y, nuevamente, incluyendo las realizaciones individuales descritas hasta ahora, también incluyen aquellos compuestos en los que el grupo -P(=O)(R³)₂ se selecciona de -P(=O)(CH₃)₂ y -P(=O)(CH₂CH₃)₂.

65 En otra realización de cualquiera de las clases y subclases anteriores de compuestos, cada R^a adicional se selecciona de halógeno, -P(=O)(R³)₂, -R¹, -OR², -NR¹R², -NR¹C(O)R², -NR¹C(O)NR², -C(O)NR¹R², -C(O)OR¹, -SO₂NR¹R², -SO₂R¹ y -NR¹SO₂R².

- Otra subclase de interés son los compuestos de la realización anterior en los que cada R^a es $-P(=O)(\text{alquilo})_2$, alquilo, alquinilo, halógeno, arilo, heteroarilo, heterociclilo, $-O$ -alquilo (es decir: OMe y similares), $-CN$, $-C(O)NH$ -alquilo, $-C(O)NH$ -arilo, $-C(O)NH$ -heterociclilo, $-OH$, $-NR^1R^2$, $NHS(O)_2$ -alquilo, $-NHS(O)_2$ -arilo. Ejemplos no limitantes de cada R^a adicional incluyen $-(CH_2)_mP(=O)(Me)_2$, $-(CH_2)_mP(=O)(Et)_2$, $-F$, $-Cl$, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-(CH_2)_yC(=O)NR^1R^2$, $-(CH_2)_yC(=O)$ arilo, $-SO_2NR^1R^2$, $-NHSO_2R^1$, alquilo inferior, $-(CH_2)_yC(=O)$ heteroarilo, $-(CH_2)_yC(=O)$ heterociclilo, $-(CH_2)_yNHC(=O)R^2$, $-(CH_2)_yNR^1R^2$, $-(CH_2)_yOR^2$, $-(CH_2)_ySR^2$, $-(CH_2)_y$ heterociclilo, $-(CH_2)_y$ arilo, $-(CH_2)_y$ heteroarilo, $-NH$ -arilo, $-NH$ -heteroarilo, $-NH$ -heterociclilo, en donde y y m se seleccionan independientemente de 0, 1, 2, 3 y 4.
- En otra realización más de cualquiera de las clases y subclases anteriores de compuestos, cada R^a adicional se selecciona de $-P(=O)(\text{alquilo})_2$, $-(CH_2)_{1-2}P(=O)(\text{alquilo})_2$, $-O$ -alquilo inferior (p. ej., OMe), alquilo inferior (p. ej., metilo y etilo), halógeno, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-CN$, $-NH$ (alquilo), alqueno y alquinilo (p. ej., acetilenilo).
- En cualquiera de las clases y subclases de compuestos anteriores, el o cada R^a se puede seleccionar de -
- (CH₂)_m-P(=O)(R³)₂, -(CH₂)_m-NR¹-P(=O)(R³)₂, -(CH₂)_m-O-P(=O)(R³)₂, -(CH₂)_m-NR¹-(CH₂)_m-P(=O)(R³)₂, -(CH₂)_m-NR¹C(O)O-(CH₂)_m-P(=O)(R³)₂ y -(CH₂)_m-C(O)NR¹-(CH₂)_m-P(=O)(R³)₂, en los que m es 0, 1, 2, 3 o 4. Alternativamente, el o cada R^a adicional puede ser un resto de una de las siguientes fórmulas:



- Para estas clases y otras clases y subclases, los compuestos de interés incluyen entre otros compuestos en los que uno de los o cada R^a adicional es o contiene $-P(=O)(R^3)_3$. Los ejemplos de R^a que contienen $-P(=O)(R^3)_2$ incluyen, sin limitación, $-(CH_2)_mP(=O)(R^3)_2$, $-(CH_2)_mNR^1P(=O)(R^3)_2$, $-(CH_2)_mP(=O)(R^3)_2$, $-(CH_2)_mNR^1C(O)O-(CH_2)_mP(=O)(R^3)_2$, $-(CH_2)_mC(O)NR^1-(CH_2)_mP(=O)(R^3)_2$ en los que m es 0, 1, 2, 3 o 4 y estructuras cíclicas que contienen $-P(=O)$ como se muestra arriba.

- Otros compuestos de interés incluyen, entre otros, compuestos de Fórmula VIa en la que R^d se selecciona de H, halógeno (es decir, cloro, flúor, bromo), $-CF_3$, grupo alquilo inferior opcionalmente sustituido (p. ej., metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo), $-CN$, acetileno opcionalmente sustituido, $-NO_2$, $-O$ -alquilo, $-S$ -alquilo, $-C(=O)$ alquilo, $-NH$ -alquilo y $-C(=O)N$ (alquilo)₂. De mayor interés son los compuestos de esta clase en los que R^d es halógeno o CF_3 .

- Otros compuestos de interés incluyen, entre otros, compuestos de la fórmula VIA en la que R^e se selecciona de halógeno, $-CN$, $-NO_2$, $-R^1$, $-OR^2$, $-O-NR^1R^2$, $-C(O)YR^2$, $-OC(O)YR^2$, $-SC(O)YR^2$, $-NR^1C(=S)YR^2$, $-OC(=S)YR^2$, $-C(=S)YR^2$, $-YC(=NR^1)YR^2$, $-YC(=N-OR^1)YR^2$ y $-YC(=N-NR^1R^2)YR^2$. De mayor interés son los compuestos de esta clase en los que R^e es H, CN, NO_2 , alquilo inferior o halógeno, en donde R^1 , R^2 e Y son como se definen en la fórmula VIA. De mayor interés, R^e se selecciona de H, alquilo inferior y halógeno.

- También se proporciona una composición que comprende el compuesto de la invención o una sal, hidrato u otro solvato del mismo, y al menos un excipiente o aditivo farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones se pueden administrar a un sujeto que las necesite para inhibir el crecimiento, desarrollo y/o metástasis de cánceres, incluyendo tumores sólidos (p. ej., cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer de páncreas y de ovario, cáncer de mama, cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), tumores neurales tales como glioblastomas y neuroblastomas; carcinomas esofágicos, cánceres de tejidos blandos tales como rhabdomyosarcomas; entre otros); varias formas de linfoma tales como un linfoma no Hodgkin (NHL) conocido como linfoma anaplásico de células grandes (ALCL), varias formas de leucemia; e incluyendo cánceres que son resistentes a otro tratamiento, incluyendo aquellos que son resistentes al tratamiento con otro inhibidor de quinasas, y generalmente para el tratamiento y profilaxis de enfermedades o afecciones indeseables mediadas por una o más quinasas que son inhibidas por el compuesto de la invención.

- La invención presenta el compuesto de la invención para usar en el tratamiento del cáncer. El tratamiento incluye administrar (como una monoterapia o en combinación con uno o más agentes anticancerígenos, uno o más agentes para mejorar los efectos secundarios, radiación, etc.) una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la invención a un ser humano o animal que lo necesite con el fin de inhibir, retardar o revertir el crecimiento, desarrollo o propagación del cáncer, incluidos tumores sólidos u otras formas de cáncer tales como leucemias, en el receptor. Dicha administración constituye un método para el tratamiento o profilaxis de enfermedades mediadas por una o más quinasas inhibidas por el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La "administración" del compuesto de la invención abarca el suministro a un receptor del compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, utilizando cualquier formulación o vía de

administración adecuada, como se comenta en el presente documento. Normalmente, el compuesto se administra una o más veces al mes, a menudo una o más veces a la semana, p. ej., diariamente, cada dos días, 5 días/semana, etc. Las administraciones orales e intravenosas son de particular interés actual.

- 5 Un aspecto importante de la invención es el compuesto de la invención para usar en el tratamiento del cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz para el tratamiento de una composición que contiene el compuesto de la invención. El tratamiento puede proporcionarse en combinación con una o más terapias para el cáncer, que incluyen cirugía, radioterapia (p. ej., radiación gamma, radioterapia con haz de neutrones, radioterapia con haz de electrones, terapia de protones, braquiterapia e isótopos radiactivos sistémicos, etc.), terapia endocrina, modificadores de la respuesta biológica (p. ej., interferones, interleucinas y factor de necrosis tumoral (TNF), por nombrar algunos), hipertermia, crioterapia, agentes para atenuar cualquier efecto adverso (p. ej., antieméticos) y otros fármacos quimioterapéuticos para el cáncer. El otro o los otros agentes pueden administrarse utilizando una formulación, vía de administración y pauta posológica igual o diferente al utilizado con el compuesto de la invención.

- 15 Dichos otros fármacos incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: un agente alquilante o intercalante anticancerígeno (p. ej., mecloretamina, clorambucilo, ciclofosfamida, melfalán e ifosfamida); antimetabolito (p. ej., metotrexato); antagonista de purina o antagonista de pirimidina (p. ej., 6-mercaptopurina, 5-fluorouracilo, citarabina y gemcitabina); veneno del huso (p. ej., vinblastina, vincristina, vinorelbina y paclitaxel); podofilotoxina (p. ej., etopósido, irinotecán, topotecán); antibiótico (p. ej., doxorubicina, bleomicina y mitomicina); nitrosourea (p. ej., carmustina, lomustina); ion inorgánico (p. ej., cisplatino, carboplatino, oxaliplatino u oxiplatino); enzima (p. ej., asparaginasa); hormona (p. ej., tamoxifeno, leuprolida, flutamida y megestrol); inhibidor de mTOR (p. ej., sirolimus (rapamicina), temsirolimus (CCI779), everolimus (RAD001), AP23573 u otros compuestos descritos en la patente de EE. UU. N.º 7,091,213); inhibidor del proteasoma (tal como Velcade, otro inhibidor del proteasoma (véase, p. ej., el documento WO 02/096933) u otro inhibidor de NF-κB, incluido, p. ej., un inhibidor de IκK); otros inhibidores de quinasas (p. ej., un inhibidor de Src, BCR/Abl, kdr, flt3, aurora-2, glucógeno sintasa quinasa3 ("GSK-3"), quinasa EGF-R (p. ej., Iressa, Tarceva, etc.), quinasa VEGF-R, quinasa PDGF-R, etc.); un anticuerpo, receptor soluble u otro antagonista de receptor contra un receptor u hormona implicado en un cáncer (incluyendo receptores tales como EGFR, ErbB2, VEGFR, PDGFR e IGF-R; y agentes como Herceptin, Avastin, Erbitux, etc.); etc. Para una discusión más completa de terapias actualizadas para el cáncer, véase <http://www.nci.nih.gov/>, una lista de fármacos oncológicos aprobados por la FDA en <http://www.fda.gov/cder/cancer/druglistframe.htm>, y The Merck Manual, Decimoseptima Edición 1999, cuyo contenido completo se incorpora en el presente documento por referencia. En otras partes del presente documento se indican ejemplos de otros agentes terapéuticos que incluyen, entre otros, Zylprim, alemtuzumab, alretamina, amifostina, nastrozol, anticuerpos contra el antígeno de membrana específico de la próstata (tal como MLN-591, MLN591RL y MLN2704), trióxido de arsénico, bexaroteno, bleomicina, busulfán, capecitabina, Gliadel implante, celecoxib, clorambucilo, gel de cisplatino-epinefrina, cladribina, citarabina liposomal, daunorubicina liposomal, daunorubicina, daunomicina, dexrazoxano, docetaxel, doxorubicina, solución B de Elliott, epirubicina, estramustina, fosfato de etopósido, etopósido, exemestano, fludarabina, 5-FU, fulvestrant, gemcitabina, gemtuzumab-ozogamicina, acetato de goserelina, hidroxiurea, idarubicina, idarubicina, idamicina, ifosfamida, mesilato de imatinib, irinotecán (u otro inhibidor de topoisomerasa, incluidos anticuerpos tales como MLN576 (XR11576)), letrozol, leucovorina, leucovorina levamisol, daunorubicina liposomal, melfalán, L-PAM, mesna, metotrexato, metoxsaleno, mitomicina C, mitoxantrona, MLN518 o MLN608 (u otros inhibidores de la receptor tirosina quinasa flt-3, PDGF-R o c-kit), itoxantrona, paclitaxel, pegademasa, pentostatina, porfímero sódico, rituximab (RITUXAN®), talco, tamoxifeno, temozolamida, tenipósido, VM-26, topotecán, toremifeno, 2C4 (u otro anticuerpo que interfiere con la señalización mediada por HER2), tretinoína, ATRA, valrubicina, vinorelbina o pamidronato, zoledronato u otro bifosfonato.

- 50 La invención comprende además la preparación del compuesto de la invención utilizando un método descrito en el presente documento.

- 55 La invención también comprende el uso del compuesto de la invención, o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento, ya sea de forma aguda o crónica, del cáncer (incluyendo linfoma y tumores sólidos, primarios o metastásicos, incluyendo cánceres tales como los indicados en otras partes del presente documento e incluyendo cánceres que son resistentes o refractarios a una o más de otras terapias). El compuesto de la invención puede ser útil en la fabricación de medicamentos anticancerosos. El compuesto de la invención también puede ser útil en la fabricación de un medicamento para atenuar o prevenir trastornos a través de la inhibición de una o más quinasas tales como ALIC, jak2, b-raf, met, Tie-2, EGFR, FLT3, FAK, Pim-I, PI3k, etc...

- 60 La invención abarca además una composición que comprende el compuesto de la invención, preferiblemente en una cantidad terapéuticamente efectiva, en asociación con al menos un vehículo, adyuvante o diluyente farmacéuticamente aceptable.

- 65 El compuesto de la invención también puede ser útil como patrones y reactivos para caracterizar varias quinasas, especialmente pero no limitadas a ALK, Met, Jak2, b-Raf, Tie-2, EGFR, FLT3 entre otras, así como

para estudiar el papel de dichas quinasas en fenómenos biológicos y patológicos; para estudiar las vías de transducción de señales intracelulares mediadas por dichas quinasas, para la evaluación comparativa de nuevos inhibidores de quinasas; y para estudiar varios cánceres en líneas celulares y modelos animales.

5 3. Definiciones

Al leer este documento, se aplican la siguiente información y definiciones a menos que se indique lo contrario.

10 El término "alquilo" pretende incluir grupos hidrocarbonados lineales (es decir, no ramificados o acíclicos), ramificados, que están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales. A menos que se especifique lo contrario, los grupos "alquilo" contienen de uno a ocho, y preferiblemente de uno a seis átomos de carbono. Se pretende que alquilo C₁₋₆ incluya grupos alquilo C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, y C₆. Alquilo inferior se refiere a grupos alquilo que contienen de 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, terc-pentilo, hexilo, isohexilo, etc. El alquilo puede estar sustituido o no sustituido. Los grupos alquilo sustituidos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, 2-fluoroetilo, 3-fluoropropilo, hidroximetilo, 2-hidroxietilo, 3-hidroxipropilo, bencilo, bencilo sustituido, fenetilo, fenetilo sustituido, etc.

20 El término "alcoxi" representa un subconjunto de alquilo en el que un grupo alquilo como se definió anteriormente con el número de carbonos indicado está unido a través de un puente de oxígeno. Por ejemplo, "alcoxi" se refiere a grupos -O-alquilo, en donde el grupo alquilo contiene de 1 a 8 átomos de carbono de una configuración lineal, ramificada, cíclica. Los ejemplos de "alcoxi" incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, n-propoxi, i-propoxi, t-butoxi, n-butoxi, s-pentoxi y similares.

25 "Haloalquilo" pretende incluir hidrocarburos saturados tanto de cadena lineal como ramificada que tienen uno o más carbonos sustituidos con un halógeno. Los ejemplos de haloalquilo incluyen, pero no se limitan a, trifluorometilo, triclorometilo, pentafluoroetilo y similares.

30 El término "alquenilo" pretende incluir cadenas hidrocarbonadas de configuración lineal, ramificada o cíclica que tienen uno o más enlaces carbono-carbono insaturados que pueden encontrarse en cualquier punto estable a lo largo de la cadena o ciclo. A menos que se especifique lo contrario, "alquenilo" se refiere a grupos que tienen de dos a ocho, a menudo de dos a seis átomos de carbono. Por ejemplo, "alquenilo" puede referirse a prop-2-enilo, but-2-enilo, but-3-enilo, 2-metilprop-2-enilo, hex-2-enilo, hex-5-enilo, 2,3-dimetilbut-2-enilo y similares. Además, los grupos alquenilo pueden estar sustituidos o no sustituidos.

35 El término "alquinilo" pretende incluir cadenas hidrocarbonadas de configuración lineal o ramificada, que tienen uno o más triples enlaces carbono-carbono que pueden encontrarse en cualquier punto estable a lo largo de la cadena. A menos que se especifique lo contrario, "alquinilo" se refiere a grupos que tienen de dos a ocho, preferiblemente de dos a seis carbonos. Los ejemplos de "alquinilo" incluyen, pero no se limitan a, prop-2-inilo, but-2-inilo, but-3-inilo, pent-2-inilo, 3-metilpent-4-inilo, hex-2-inilo, hex-5-inilo, etc. Además, los grupos alquinilo pueden estar sustituidos o no sustituidos.

45 Cicloalquilo incluye cualquier grupo hidrocarbonado cíclico o policíclico estable de 3 a 13 átomos de carbono, cualquiera de los cuales está saturado. Los ejemplos de dicho cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, norbornilo, [2.2.2]bicyclooctano, [4.4.0]bicyclodecano y similares, que, como en el caso de otros restos alquilo, pueden estar opcionalmente sustituidos. El término "cicloalquilo" puede usarse indistintamente con el término "carbociclo".

50 Cicloalquenilo incluye cualquier grupo hidrocarbonado cíclico o policíclico estable de 3 a 13 átomos de carbono, preferiblemente de 5 a 8 átomos de carbono, que contiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono insaturados que pueden encontrarse en cualquier punto a lo largo del ciclo. Los ejemplos de dicho cicloalquenilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopentenilo, ciclohexenilo y similares.

55 Cicloalquinilo incluye cualquier grupo hidrocarbonado cíclico o policíclico estable de 5 a 13 átomos de carbono, que contiene uno o más triples enlaces carbono-carbono insaturados que pueden encontrarse en cualquier punto a lo largo del ciclo. Al igual que en el caso de otros restos alquenilo y alquinilo, el cicloalquenilo y el cicloalquinilo pueden estar opcionalmente sustituidos.

60 El término "heteroalquilo" significa un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo ramificado o no ramificado que tiene de 1 a 7 átomos de carbono además de 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados independientemente del grupo que consiste en N, O, S y P. Los heteroalquilos incluyen, sin limitación, aminas terciarias, aminas secundarias, éteres, tioéteres, amidas, tioamidas, carbamatos, tiocarbamatos, hidrazonas, iminas, fosfodiésteres, fosforamidatos, sulfonamidas y disulfuros. Un heteroalquilo puede incluir opcionalmente anillos monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos, en los que cada anillo tiene deseablemente de tres a seis miembros. El grupo heteroalquilo puede estar sustituido o no sustituido. Los ejemplos de heteroalquilos incluyen, sin limitación, políéters, tales como metoximetilo y etoxietilo.

"Heterociclo", "heterociclilo" o "heterocíclico" como se usan en el presente documento se refieren a sistemas de anillos no aromáticos que tienen de cinco a catorce átomos en el anillo en los que uno o más carbonos del anillo, preferiblemente de uno a cuatro, están sustituidos cada uno por un heteroátomo seleccionado de N, O y S. Los grupos heterocíclicos pueden estar sustituidos o no sustituidos y pueden incluir uno, dos o tres sistemas de anillos fusionados o no fusionados. Los ejemplos no limitantes de anillos heterocíclicos incluyen 3-1H-bencimidazol-2-ona, (1-sustituido)-2-oxo-bencimidazol-3-ilo, 2-tetrahidrofuranilo, 3-tetrahidrofuranilo, 2-tetrahidrotiofenilo, 3-tetrahidrotiofenilo, 2-morfolinilo, 3-morfolinilo, 4-morfolinilo, 2-tiomorfolinilo, 3-tiomorfolinilo, 4-tiomorfolinilo, 1-pirrolidinilo, 2-pirrolidinilo, 3-pirrolidinilo, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo, 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-piperidinilo, 4-tiazolidinilo, diazolonilo, diazolonilo N-sustituido, 1-ftalimidinilo, benzoxanilo, benzopirrolidinilo, benzopiperidinilo, benzoxolanilo, benzotiolanilo y benzotianilo. Un grupo heterocíclico puede incluir dos o más de los sistemas de anillos mencionados anteriormente. También se incluye dentro del alcance del término "heterociclilo" o "heterocíclico", como se usa en el presente documento, un grupo en el que un anillo no aromático que contiene un heteroátomo está condensado con uno o más anillos aromáticos o no aromáticos, tales como en un indolinilo, cromanilo, fenantridinilo o tetrahidroquinolinilo, donde el radical o punto de unión está en el anillo no aromático que contiene heteroátomo. El término "heterociclo", "heterociclilo" o "heterocíclico", ya sea saturado o parcialmente insaturado, también se refiere a anillos que están opcionalmente sustituidos.

El término "arilo" usado solo o como parte de un resto más grande como en "aralquilo", "aralcoxi" o "ariloxialquilo", se refiere a grupos de anillos aromáticos que tienen de seis a catorce átomos en el anillo, tales como fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 1-antracilo y 2-antracilo. Un anillo de "arilo" puede contener uno o más sustituyentes. El término "arilo" se puede utilizar indistintamente con el término "anillo de arilo". "Arilo" también incluye sistemas de anillos aromáticos policíclicos condensados en los que un anillo aromático está condensado con uno o más anillos. Los ejemplos no limitantes de grupos de anillo de arilo útiles incluyen fenilo, hidroxifenilo, halofenilo, alcoxifenilo, dialcoxifenilo, trialcloxifenilo, alquilendioxifenilo, naftilo, fenantrilo, antrilo y fenantro, así como 1-naftilo, 2-naftilo, 1-antracilo y 2-antracilo. Además está incluido dentro del alcance del término "arilo", como se usa en el presente documento, un grupo en el que un anillo aromático está condensado con uno o más anillos no aromáticos, tales como en un indanilo, fenantridinilo o tetrahidronaftilo, donde el radical o punto de unión está en el anillo aromático.

El término "heteroarilo" como se usa en el presente documento se refiere a restos aromáticos heterocíclicos y poliheterocíclicos estables que tienen 5 - 14 átomos en el anillo. Los grupos heteroarilo pueden estar sustituidos o no sustituidos y pueden comprender uno o más anillos. Los ejemplos de anillos de heteroarilo típicos incluyen grupos de anillos monocíclicos de 5 miembros tales como tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, furilo, isotiazolilo, furazanilo, isoxazolilo, tiazolilo y similares; grupos monocíclicos de 6 miembros tales como piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo y triazinilo; y grupos de anillo heterocíclicos policíclicos tales como benzo[b]tienilo, nafto[2,3-b]tienilo, tiantrenilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatienilo, indolizínilo, isoindolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, benzotiazol, bencimidazol, tetrahidroquinolina, cinolinilo, pteridinilo, carbazolilo, beta-carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, perimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, isotiazolilo, fenotiazinilo y fenoxazinilo (véase, p. ej., Katritzky, Handbook of Heterocyclic Chemistry). Otros ejemplos específicos de anillos de heteroarilo incluyen 2-furanilo, 3-furanilo, N-imidazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 5-imidazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-oxadiazolilo, 5-oxadiazolilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 5-pirimidilo, 3-piridazinilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 5-tetrazolilo, 2-triazolilo, 5-triazolilo, 2-tienilo, 3-tienilo, carbazolilo, bencimidazolilo, benzotienilo, benzofuranilo, indolilo, quinolinilo, benzotriazolilo, benzotiazolilo, benzooxazolilo, bencimidazolilo, isoquinolinilo, indolilo, isoindolilo, acridinilo o benzoisoxazolilo. Los grupos heteroarilo incluyen además un grupo en el que un anillo heteroaromático está condensado con uno o más anillos aromáticos o no aromáticos donde el radical o punto de unión está en el anillo heteroaromático. Los ejemplos incluyen tetrahidroquinolina, tetrahidroisoquinolina y pirido[3,4-d]pirimidinilo, imidazo[1,2-a]pirimidilo, imidazo[1,2-a]pirazinilo, imidazo[1,2-a]piridinilo, imidazo[1,2-c]pirimidilo, pirazolo[1,5-a][1,3,5]triazinilo, pirazolo[1,5-c]pirimidilo, imidazo[1,2-b]piridazinilo, imidazo[1,5-a]pirimidilo, pirazolo[1,5-b][1,2,4]triazina, quinolilo, isoquinolilo, quinoxalilo, imidazotriazinilo, pirrolo[2,3-d]pirimidilo, triazolopirimidilo, piridopirazinilo. El término "heteroarilo" también se refiere a anillos que están opcionalmente sustituidos. El término "heteroarilo" puede usarse indistintamente con el término "anillo de heteroarilo" o el término "heteroaromático".

Un grupo arilo (incluyendo la parte de arilo de un resto aralquilo, aralcoxi o ariloxialquilo y similares) o grupo heteroarilo (incluyendo la parte de heteroarilo de un resto heteroaralquilo o heteroarilalcoxi y similares) puede contener uno o más sustituyentes. Los sustituyentes opcionales en el átomo de carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo se seleccionan de halógeno (F, Cl, Br o I), alquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, -CN, -R¹, -OR², -S(O)_rR², (en donde r es un número entero de 0, 1 o 2), -SO₂NR¹R², -NR¹R², -O-NR¹R², -NR¹-NR¹R², -(CO)YR², -O(CO)YR², -NR¹(CO)YR², -S(CO)YR², -NR¹C(=S)YR², -OC(=S)YR², -C(=S)YR², en donde cada caso de Y es independientemente -O-, -S-, -NR¹-, o un enlace químico; por lo tanto -(CO)YR² abarca -C(=O)R², -C(=O)OR² y -C(=O)NR¹R²; sustituyentes adicionales incluyen -YC(=NR¹)YR², -YC(=NOR¹)YR², -YC(=N-NR¹R²)YR², -COCOR², -COMCOR² (donde M es un grupo alquilo de 1- 6 carbonos), -YP(=O)(YR³)(YR³)

(incluyendo entre otros $-P(=O)(R^3)_2$, $-Si(R^{3a})_3$, NO_2 , $-NR^1SO_2R^2$ y $-NR^1SO_2NR^1R^2$. Para ilustrarlo mejor, los sustituyentes en los que Y es $-NR^1$ incluyen, entre otros, $-NR^1C(=O)R^2$, $-NR^1C(=O)NR^1R^2$, $-NR^1C(=O)OR^2$ y $-NR^1C(=NH)NR^1R^2$. El sustituyente R^3 se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, arilo, heteroarilo, heterociclo; los sustituyentes R^1 y R^2 en cada caso se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, arilo, heteroarilo, heterociclo, y los sustituyentes R^1 , R^2 y R^3 pueden estar ellos mismos sustituidos o no sustituidos. Los ejemplos de sustituyentes permitidos en R^1 , R^2 y R^3 incluyen, entre otros, grupos amino, alquilamino, dialquilamino, aminocarbonilo, halógeno, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, carbociclo, heterociclo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, nitro, ciano, carboxi, alcocarbonilo, alquilcarbonilo, hidroxilo, alcoxi, haloalcoxi. Ejemplos ilustrativos adicionales incluyen OH protegido (tal como aciloxi), fenilo, fenilo sustituido, $-O$ -fenilo, $-O$ -fenilo (sustituido), $-bencilo$, $-bencilo$ sustituido, $-O$ -fenetilo (es decir, $-OCH_2CH_2C_6H_5$), $-O$ -fenetilo (sustituido). Las ilustraciones no limitantes de un resto R^1 , R^2 o R^3 sustituido incluyen haloalquilo y trihaloalquilo, alcocalquilo, haloalquilo, $-M$ -heteroarilo, $-M$ -heterociclo, $-M$ -arilo, $-M-OR^2$, $-M-SR^2$, $-M-NR^1R^2$, $-M-OC(O)NR^1R^2$, $-M-C(=NR^2)NR^1R^2$, $-M-C(=NR^1)OR^2$, $-M-P(=O)(R^3)_2$, $-Si(R^{3a})_3$, $-M-NR^1C(O)R^2$, $-M-NR^1C(O)OR^2$, $-M-C(O)R^2$, $-M-C(=S)R^2$, $-M-C(=S)NR^1R^2$, $-M-C(O)NR^1R^2$, $-M-C(O)NR^2-M-NR^1R^2$, $-M-NR^2C(NR^1)NR^1R^2$, $-M-NR^1C(S)NR^1R^2$, $-M-S(O)_2R^1$, $-M-C(O)R^1$, $-M-OC(O)R^1$, $-M-C(O)SR^2$, $-M-S(O)_2NR^1R^2$, $-C(O)-M-C(O)R^2$, $-MCO_2R^2$, $-M-C(=O)NR^1R^2$, $-M-C(=NH)NR^1R^2$, y $-M-OC(=NH)NR^1R^2$ (en donde M es un grupo alquilo de 1-6 carbonos).

Algunos ejemplos más específicos incluyen, pero no se limitan a, clorometilo, triclorometilo, trifluorometilo, metoxietilo, alcóxifenilo, haloalquilo, $-CH_2$ -arilo, $-CH_2$ -heterociclo, $-CH_2C(O)NH_2$, $-C(O)CH_2N(CH_3)_2$, $-CH_2CH_2OH$, $-CH_2OC(O)NH_2$, $-CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2CH_2NEt_2$, $-CH_2OH_3$, $-C(O)NH_2$, $-CH_2CH_2$ -heterociclo, $-C(=S)CH_3$, $-C(=S)NH_2$, $-C(=NH)NH_2$, $-C(=NH)OEt$, $-C(O)NH$ -ciclopropilo, $C(O)NHCH_2CH_2$ -heterociclo, $-C(O)NHCH_2CH_2OCH_3$, $-C(O)CH_2CH_2NHCH_3$, $-CH_2CH_2F$, $-C(O)CH_2$ -heterociclo, $-CH_2C(O)NHCH_3$, $-CH_2CH_2P(=O)(CH_3)_2$, $Si(CH_3)_3$ y similares.

Cuando un sistema de anillo (p. ej., cicloalquilo, heterociclo, arilo o heteroarilo) está sustituido con un número de sustituyentes que varía dentro de un intervalo expresamente definido, se entiende que el número total de sustituyentes no supera las valencias normales disponibles en las condiciones existentes. Así, por ejemplo, un anillo de fenilo sustituido con "n" sustituyentes (donde "n" varía de 1 a 5) puede tener de 1 a 5 sustituyentes, mientras que se entiende que un anillo de piridinilo sustituido con "n" sustituyentes tiene un número de sustituyentes que varía de 1 a 4. El número máximo de sustituyentes que puede tener un grupo en los compuestos descritos se puede determinar fácilmente.

Un grupo alquilo, alqueno, alquino, alcoxi, haloalquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino o heterocíclico no aromático también puede contener, por lo tanto, uno o más sustituyentes. Los sustituyentes opcionales en dichos grupos se seleccionan de los mencionados anteriormente para los átomos de carbono de un grupo arilo o heteroarilo y además incluyen los siguientes sustituyentes para un átomo de carbono saturado: $=O$, $=S$, $=NH$, $=NNR^2R^3$, $=NNHC(O)R^2$, $=NNHCO_2R^2$ o $=NNHSO_2R^2$, en donde R^2 y R^3 en cada caso son independientemente hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo.

Ejemplos ilustrativos de sustituyentes en un grupo alifático, heteroalifático o heterocíclico incluyen grupos amino, alquilamino, dialquilamino, aminocarbonilo, halógeno, alquilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alcoxi, nitro, $-CN$, carboxi, alcocarbonilo, alquilcarbonilo, $-OH$, haloalcoxi o haloalquilo. Los sustituyentes ilustrativos en un nitrógeno, p. ej., en un anillo de heteroarilo o heterocíclico no aromático incluyen R^1 , NR^1R^2 , $-C(=O)R^2$, $-C(=O)OR^2$, $-C(=O)SR^2$, $-C(=O)NR^1R^2$, $-C(=NR^2)NR^1R^2$, $-C(=NR^2)OR^2$, $-C(=NR^1)R^3$, $-COCOR^2$, $-COMCOR^2$, $-CN$, $-SO_2R$, $S(O)R^2$, $-P(=O)(YR^3)(YR^3)$, $NR^1SO_2R^2$ y $-NR^1SO_2NR^1R^2$, en donde cada caso de R^3 es alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, arilo, heteroarilo y heterociclo; cada caso de R^1 y R^2 es independientemente hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, arilo, heteroarilo y heterociclo.

Cuando un sistema de anillo (p. ej., cicloalquilo, heterociclo, arilo o heteroarilo) está sustituido con un número de sustituyentes que varía dentro de un intervalo expresamente definido, se entiende que el número total de sustituyentes no supera las valencias normales disponibles en las condiciones existentes. Así, por ejemplo, un anillo de fenilo sustituido con "m" sustituyentes (donde "m" varía de 0 a 5) puede tener de 0 a 5 sustituyentes, mientras que se entiende que un anillo de piridinilo sustituido con "m" sustituyentes tiene un número de sustituyentes que varía de 0 a 4. El número máximo de sustituyentes que puede tener un grupo en los compuestos descritos se puede determinar fácilmente.

El compuesto de la invención puede existir en formas tautómeras, y la invención incluye todas esas formas tautómeras del compuesto a menos que se especifique lo contrario.

A menos que se indique lo contrario, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir todas las formas estereoquímicas de la estructura; es decir, las configuraciones R y S para

cada centro asimétrico. Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos individuales, así como las mezclas enantioméricas y diastereoméricas de los presentes compuestos, están dentro del alcance de la invención. Por lo tanto, la invención abarca cada diastereómero o enantiómero sustancialmente exento de otros isómeros (>90%, y preferiblemente >95%, exento de otros estereoisómeros en base molar) así como una mezcla de dichos isómeros.

Se pueden obtener isómeros ópticos particulares mediante resolución de las mezclas racémicas de acuerdo con procedimientos convencionales, p. ej., por formación de sales diastereoisoméricas, por tratamiento con un ácido o base ópticamente activo. Ejemplos de ácidos apropiados son el ácido tartárico, diacetiltartárico, dibenzoiltartárico, ditoluoiltartárico y alcanforsulfónico y luego separación de la mezcla de diastereoisómeros por cristalización seguida de liberación de las bases ópticamente activas de estas sales. Un procedimiento diferente para la separación de isómeros ópticos implica el uso de una columna de cromatografía quiral elegida de manera óptima para maximizar la separación de los enantiómeros. Otro método más implica la síntesis de moléculas diastereoisoméricas covalentes haciendo reaccionar el compuesto de la invención con un ácido ópticamente puro en una forma activada o un isocianato ópticamente puro. Los diastereoisómeros sintetizados se pueden separar por medios convencionales tales como cromatografía, destilación, cristalización o sublimación, y luego hidrolizar para proporcionar el compuesto enantioméricamente puro.

Los compuestos ópticamente activos de la invención se pueden obtener usando materiales de partida activos. Estos isómeros pueden estar en forma de un ácido libre, una base libre, un éster o una sal.

El compuesto de la invención puede existir en forma radiomarcada, es decir, dicho compuesto puede contener uno o más átomos que contienen una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentran normalmente en la naturaleza. Los radioisótopos de hidrógeno, carbono, fósforo, flúor y cloro incluyen ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente. El compuesto de la invención que contiene los radioisótopos y/u otros radioisótopos de otros átomos están dentro del alcance de la invención. Se prefieren en particular los radioisótopos tritiados, es decir, ^3H , y de carbono-14, es decir, ^{14}C , por su facilidad de preparación y detectabilidad.

Los compuestos radiomarcados se pueden preparar generalmente mediante métodos bien conocidos por los expertos en la técnica. Convenientemente, dichos compuestos radiomarcados se pueden preparar llevando a cabo los procedimientos descritos en el presente documento, excepto que se sustituye un reactivo no radiomarcado por un reactivo radiomarcado fácilmente disponible.

4. Esquema general sintético

El profesional tiene una bibliografía bien establecida sobre transformaciones químicas heterocíclicas y otras relevantes, tecnologías de recuperación y purificación de las que hacer uso, en combinación con la información contenida en los ejemplos que siguen, para la guía sobre estrategias sintéticas, grupos protectores y otros materiales y métodos útiles para la síntesis, recuperación y caracterización del compuesto de la invención.

Se pueden utilizar varios enfoques sintéticos para producir el compuesto descrito en el presente documento, incluidos los enfoques representados esquemáticamente a continuación. El profesional apreciará que en estos enfoques se pueden utilizar grupos protectores. Los "grupos protectores" son restos que se usan para bloquear temporalmente una reacción química en un sitio potencialmente reactivo (p. ej., una amina, hidroxilo, tiol, aldehído, etc.) de modo que una reacción pueda llevarse a cabo de forma selectiva en otro sitio de un compuesto multifuncional. En realizaciones preferidas, un grupo protector reacciona selectivamente con buen rendimiento para dar un sustrato protegido que es adecuado para las reacciones planificadas; el grupo protector debe ser eliminable selectivamente con buen rendimiento mediante reactivos fácilmente disponibles, preferiblemente no tóxicos, que no ataquen indebidamente a los otros grupos funcionales presentes; el grupo protector preferiblemente forma un derivado fácilmente separable (más preferiblemente sin la generación de nuevos centros estereogénicos); y el grupo protector preferiblemente tiene un mínimo de funcionalidad adicional para evitar la complicación de sitios de reacción adicionales. En la técnica se conocen una amplia variedad de grupos protectores y estrategias, reactivos y condiciones para implementarlos y eliminarlos. Véase, p. ej., "Protective Groups in Organic Synthesis" Tercera Ed. Greene, T.W. y Wuts, P.G., Eds., John Wiley & Sons, New York: 1999. Para obtener información básica adicional sobre metodologías de grupos protectores (materiales, métodos y estrategias de protección y desprotección) y otras transformaciones de química sintética útiles para producir los compuestos descritos en el presente documento, véase R. Larock, Comprehensive organic Transformations, VCH Publishers (1989); T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3.^a Ed., John Wiley and Sons (1999); L. Fieser y M. Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1994); y L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995). Los contenidos completos de estas referencias se incorporan en el presente documento por referencia.

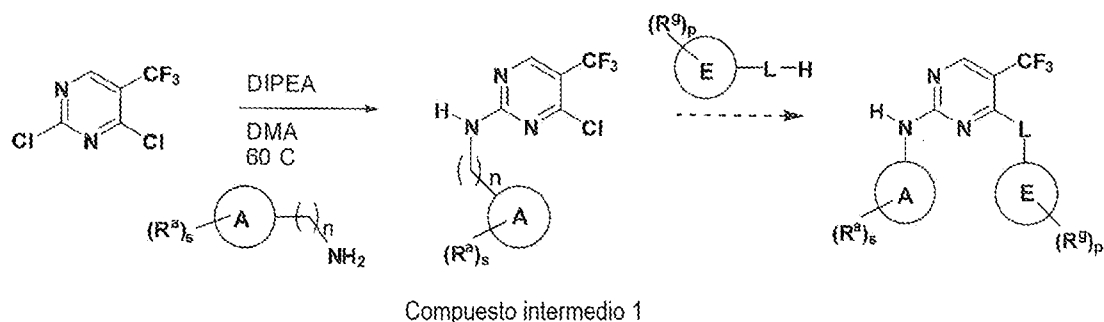
Además, se pueden elegir reactivos enriquecidos para un isótopo deseado, p. ej., deuterio en lugar de hidrógeno, para crear compuestos que contengan dicho(s) isótopo(s). Los compuestos de la invención que

contienen deuterio en lugar de hidrógeno en uno o más sitios, o que contienen varios isótopos de C, N, P y O, están abarcados por la invención y pueden usarse, por ejemplo, para estudiar el metabolismo y/o la distribución tisular de los compuestos o para alterar la velocidad o la ruta del metabolismo u otros aspectos del funcionamiento biológico.

Los compuestos descritos en el presente documento se pueden sintetizar usando los métodos descritos a continuación, junto con métodos sintéticos conocidos en la técnica de la química orgánica sintética, o mediante una variación de los mismos como lo apreciarán los expertos en la técnica. Los métodos preferidos incluyen, pero no se limitan a, los descritos a continuación. Las reacciones se llevan a cabo en un disolvente adecuado para los reactivos y materiales empleados y adecuado para las transformaciones que se están efectuando. Los expertos en la técnica de síntesis orgánica entenderán que la funcionalidad presente en la molécula debe ser consistente con las transformaciones propuestas. A veces esto requerirá cierto criterio para modificar el orden de las etapas sintéticas o para seleccionar un esquema de procedimiento particular frente a otro con el fin de obtener el compuesto deseado.

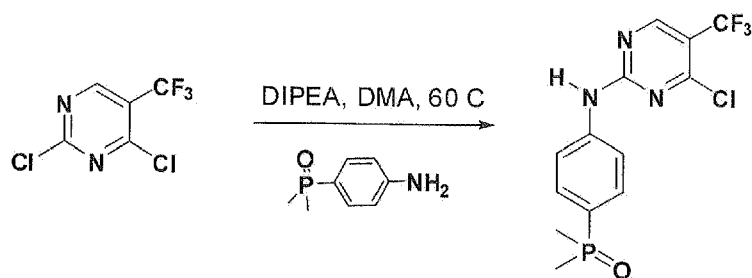
Un compuesto descrito en el presente documento podría prepararse como se describe en el Esquema 1 al Esquema 57a y mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la técnica. Para ciertos compuestos, la síntesis asistida por microondas puede llevarse a cabo utilizando procedimientos convencionales y las condiciones indicadas en los ejemplos que siguen. Las reacciones se pueden llevar a cabo utilizando reactores de microondas disponibles comercialmente, tal como el Biotage Initiator 2.0™ (Biotage AB, Kungsgatan 76, SE-753 18 Uppsala, Suecia o 1725 Discovery Drive Charlottesville, Virginia 22911) o el CEM Discover™ System (CEM Corporation, Matthews, Carolina del Norte), que se utilizaron en los ejemplos siguientes.

Un compuesto de fórmula VIA en la que n es 0 y X es N se puede preparar en una síntesis de 2 etapas como se muestra en el Esquema 1. Un resto [Anillo A] se puede incorporar primero al resto de pirimidina central haciendo reaccionar [Anillo A]-NH₂ con 2,4-dicloro-5-(trifluorometil)pirimidina en presencia de una base tal como di-isopropiletilamina a alta temperatura generando el compuesto intermedio 1. Luego, el resto [Anillo E]-L- se puede incorporar al compuesto intermedio 1 usando diversas condiciones dependiendo de la naturaleza del conector L. Las variables en el compuesto intermedio [Anillo E]-[L]- y [Anillo A] son las definidas previamente, estando los Anillos A y E sustituidos con grupos R^a y R^g permitidos respectivamente.



Esquema 1

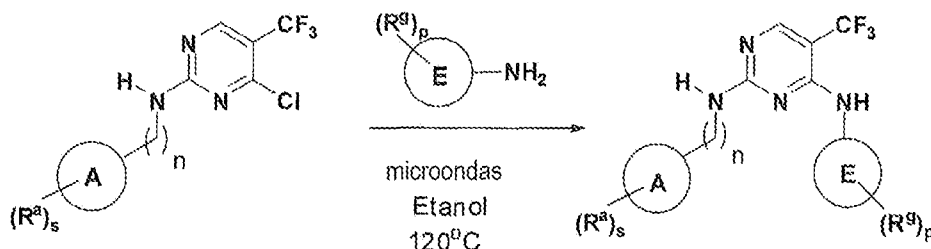
A continuación se ilustra un enfoque para la preparación de un compuesto intermedio 1 en el Esquema 1A en el que el Anillo A es un fenilo:



Esquema 1A

Un compuesto de fórmula VIA en la que L es NH se puede preparar usando química de microondas, mediante la reacción de un compuesto intermedio 1 con el [Anillo E]-NH₂, en un disolvente polar tal como etanol, y usando

temperaturas altas, como se muestra en el Esquema 3. Se puede añadir una base (es decir, diisopropiletilamina, trietilamina o similar) o un ácido para facilitar la reacción de desplazamiento.

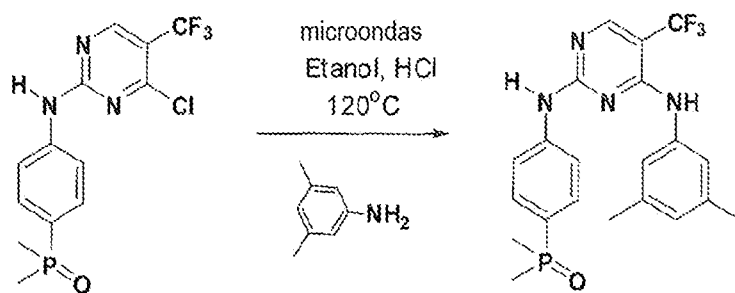


5

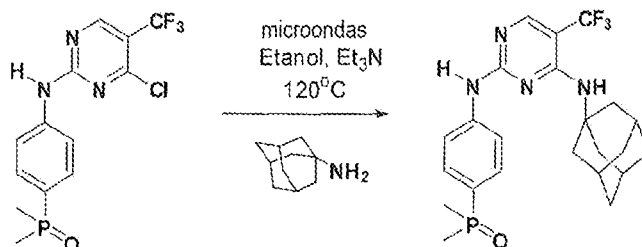
Esquema 3

Un enfoque para la preparación de algunos compuestos de fórmula VIA en la que L es NH, se ilustra a continuación en el Esquema 3A y 3B en el que E es un fenilo o adamantanamina:

10



Esquema 3A

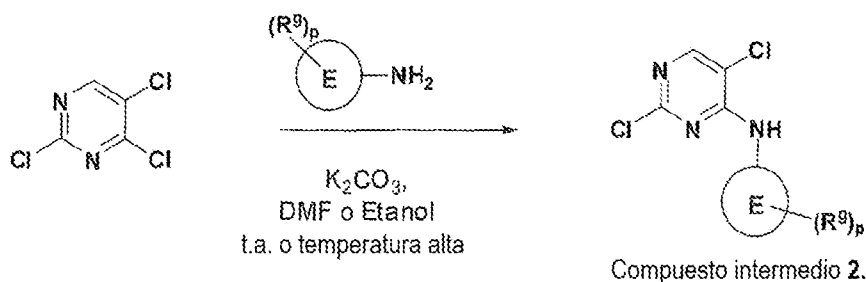


15

Esquema 3B

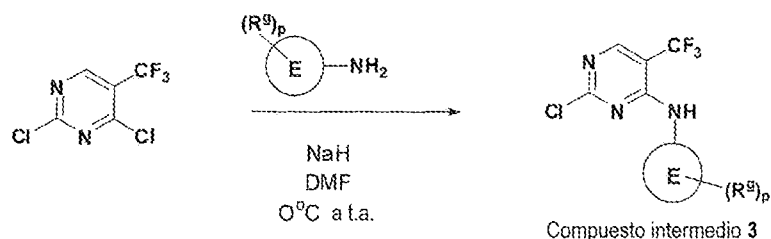
Se puede usar una secuencia de reacción alternativa para la preparación de compuestos de fórmula VIA en la que L es NH. El resto [Anillo E]-NH se puede incorporar primero al resto pirimidina central antes de la incorporación del resto [Anillo A]-NH. El esquema 8 ilustra la reacción de 2,4,5-tricloropirimidina con un resto [Anillo-E]-NH₂ en presencia de una base (es decir, carbonato de potasio o hidruro de sodio o similar) en un disolvente tal como dimetilformamida o etanol con el fin de generar el compuesto intermedio 2. La reacción se puede llevar a cabo a temperatura ambiente o puede requerir una temperatura más alta.

20



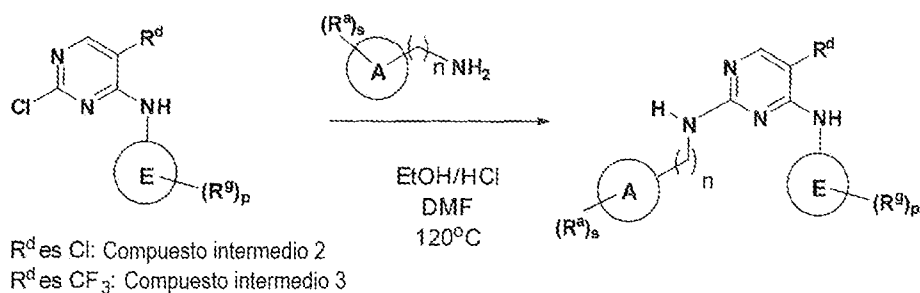
Esquema 8

- Otro ejemplo de esta reacción se muestra a continuación en el Esquema 9 en el que el compuesto intermedio 3 se prepara haciendo reaccionar 2,4-dicloro-5-(trifluorometil)pirimidina con un resto [Anillo E]-NH₂ en presencia de hidruro de sodio en dimetilformamida a temperaturas más bajas.



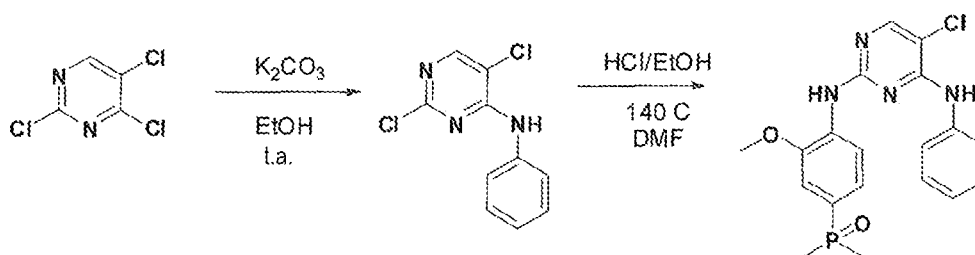
Esquema 9

Luego, el compuesto intermedio 2 o 3 se puede hacer reaccionar con un resto [Anillo-A]-(CH₂)_nNH₂ usando condiciones de desplazamiento normales como se muestra a continuación en el Esquema 10.

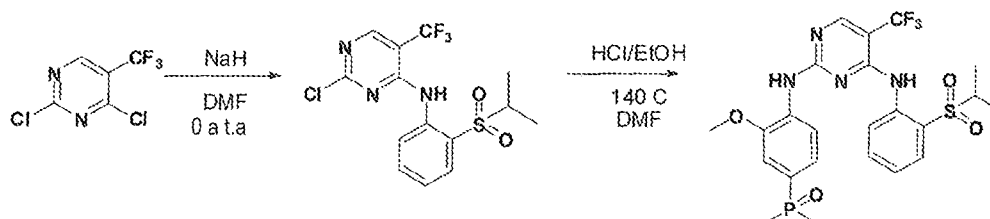


Esquema 10

- En un ejemplo no limitante, los Esquemas 10A y 10B ilustran la preparación de compuestos de fórmula VIA en la que L es NH y el Anillo A y el Anillo E son fenilo sustituido:



Esquema 10A

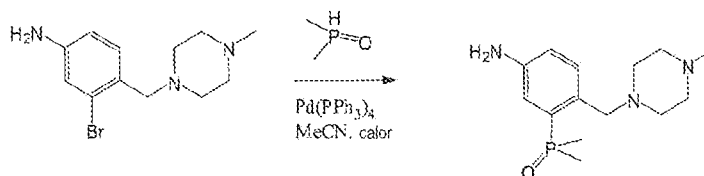


Esquema 10B

- La guía sintética proporcionada en los Esquemas 1, 3 y 8 a 10 es aplicable a una variedad de Anillo A y Anillo E.

Los esquemas **18**, **19** y **22** a **24** ilustran la preparación de sustituyentes que contienen fósforo y restos que contienen fósforo de interés actual.

- 5 Otro interés lo tienen los compuestos en los que un sustituyente R^a es un sustituyente que contiene fósforo. El esquema **18** ilustra la síntesis de un compuesto intermedio [Anillo A]- NH_2 en el que el Anillo A es un fenilo sustituido con $-P(=O)(CH_3)_2$.

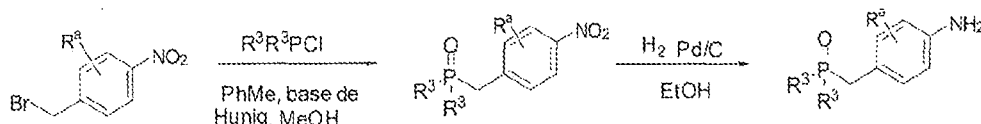


10

Esquema 18

El esquema **19** ilustra la preparación de un compuesto intermedio [Anillo A]- NH_2 en el que el Anillo A es un fenilo sustituido con $(CH_2)_m-P(=O)(R^3)_2$ y m es 1.

15



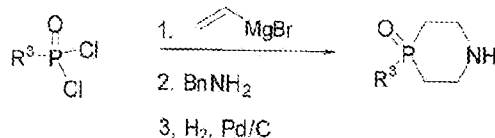
Esquema 19

- 20 En algunas realizaciones, un sustituyente R^a , R^f o R^g que contiene $-P(=O)(R^3)_2$ puede ser de estructura cíclica.

Los esquemas **22** a **23** ilustran la síntesis de estructuras cíclicas de interés que contienen $-P(=O)(R^3)_2$.

El esquema **22** ilustra la preparación del sustituyente cíclico R^a (o R^f o R^g) que contiene $-P(=O)(R^3)_2$.

25

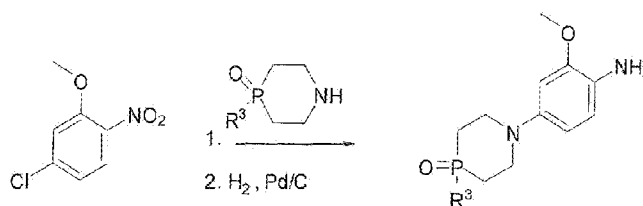


Esquema 22

- 30 Los esquemas **22A** y **22B** ilustran la incorporación de este sustituyente cíclico en un anillo A o anillo E.

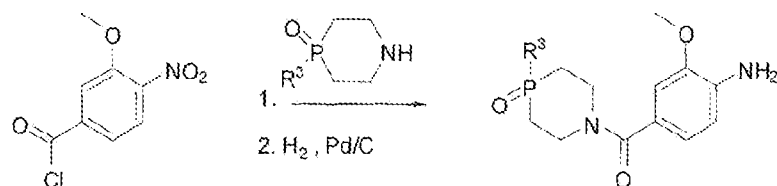
El esquema **22A** ilustra la síntesis de un resto [Anillo A]- NH_2 en el que el Anillo A es un fenilo sustituido con un grupo metoxi y con un sustituyente cíclico que contiene $-P(=O)(R^3)_2$. Este esquema también podría usarse para la síntesis de un resto [Anillo E]-L en el que L es NH y el Anillo E es un fenilo sustituido con un grupo metoxi y con un sustituyente cíclico que contiene $-P(=O)(R^3)_2$.

35



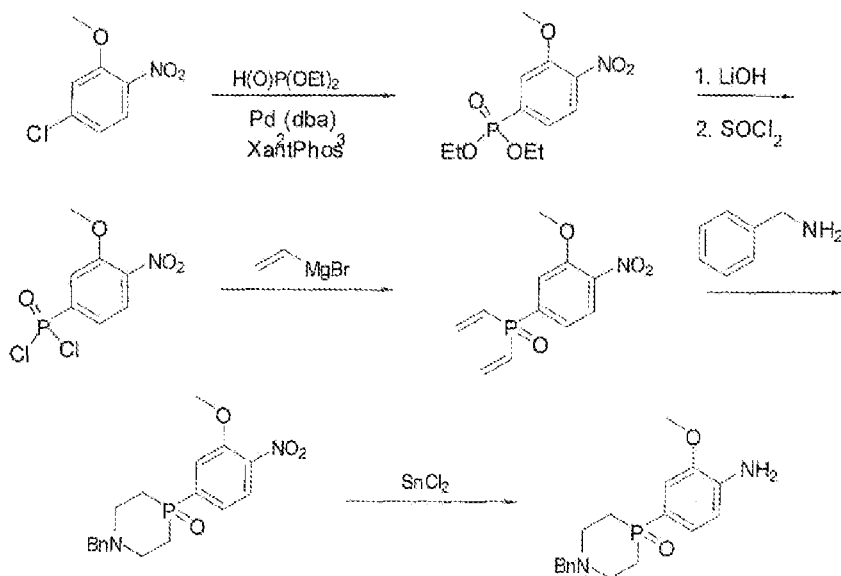
Esquema 22A

40



Esquema 22B

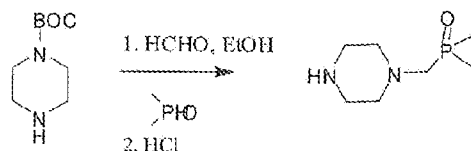
- 5 El esquema **23** ilustra la síntesis de un compuesto intermedio [Anillo A]-NH₂ en el que el Anillo A es fenilo sustituido con metoxi y un grupo-P(=O)(R₃)₂ en el que los dos grupos R³ forman con el átomo de fósforo al que están unidos un anillo saturado de 6 miembros.



10

Esquema 23

- 15 El esquema 24 ilustra la síntesis de un sustituyente piperazina que está además sustituido con -CH₂P(=O)(CH₃)₂. Este esquema se puede utilizar para la síntesis del compuesto intermedio [Anillo A]-NH₂ en el que el Anillo A es un fenilo sustituido con un grupo piperazina que contiene fósforo. También podría usarse para la síntesis de un compuesto de fórmula VIa en la que uno de los sustituyentes (R^a, R^b, R^d, R^e o R^g) es NR¹R² y NR¹R² forma un anillo de piperazina sustituido con -CH₂P(=O)(CH₃)₂.



20

Esquema 24

- 25 Con enfoques sintéticos tales como los anteriores, combinados con los ejemplos que siguen, la información adicional proporcionada en el presente documento y los métodos y materiales convencionales, el profesional debería poder preparar la variedad completa de compuestos descritos en el presente documento.

5. Usos, formulaciones, administración

Usos farmacéuticos; indicaciones

30

La invención presenta un compuesto que tiene propiedades biológicas que lo hacen de interés para el tratamiento o modulación de enfermedades en las que pueden estar implicadas quinasas, los síntomas de dichas enfermedades o el efecto de otros sucesos fisiológicos mediados por quinasas. Se ha mostrado que

varios compuestos descritos en el presente documento inhiben la actividad de tirosina quinasa de ALK, fak y c-met, entre otras tirosina quinasas que se cree que median el crecimiento, desarrollo y/o metástasis del cáncer. También se ha descubierto que varios compuestos descritos en el presente documento tienen una potente actividad in vitro contra líneas de células cancerosas, incluidas, entre otras, las células Karpas 299.

5 Por lo tanto, dichos compuestos son de interés para el tratamiento de cánceres, incluidos tumores sólidos así como linfomas, e incluyendo cánceres que son resistentes a otras terapias.

Dichos cánceres incluyen, entre otros, cánceres de mama, cáncer de pulmón no microcíticos (NSCLC), tumores neurales tales como glioblastomas y neuroblastomas; carcinomas esofágicos, cánceres de tejidos blandos tales como rhabdomyosarcomas, entre otros); varias formas de linfoma como un linfoma no Hodgkin (NHL) conocido como linfoma anaplásico de células grandes (ALCL), varias formas de leucemia; e incluyendo cánceres que son mediados por ALK o c-met.

10

La quinasa del linfoma anaplásico (ALK) es un receptor tirosina quinasa que atraviesa la membrana celular y pertenece a la subfamilia de receptores de insulina. El receptor tirosina quinasa ALK (RTK) se identificó inicialmente debido a su participación en el subtipo de linfoma no Hodgkin humano conocido como linfoma anaplásico de células grandes (ALCL). La ALK normalmente tiene una distribución restringida en las células de mamíferos, encontrándose en niveles significativos sólo en el sistema nervioso durante el desarrollo embrionario, lo que sugiere un posible papel de la ALK en el desarrollo del cerebro (Duyster, J. Et al., *Oncogene*, 2001, 20, 5623-5637).

15 20

Además de su papel en el desarrollo normal, también se ha detectado la expresión de ALK normal de longitud completa en líneas celulares derivadas de una variedad de tumores tales como neuroblastomas, tumores neuroectodérmicos (Lamant L. Et al., *Am. J. Pathol.*, 2000, 156, 1711-1721; Osajima-Hakomori Y., et al., *Am. J. Pathol.* 2005, 167, 213-222) y glioblastoma (Powers C. et al., *J. Biol. Chem.* 2002, 277, 14153-14158; Grzelinski M. et al., *Int. J. Cancer*, 2005, 117, 942-951; Mentlein, R. Et al., *J. Neurochem.*, 2002, 83, 747-753) así como líneas de cáncer de mama y melanoma (Dirk WG. Et al., *Int. J. Cancer*, 2002, 100, 49-56).

25

Al igual que otras RTK, las translocaciones afectan al gen ALK, dando como resultado la expresión de quinasas de fusión oncogénicas, la más común de las cuales es NPM-ALK. Por ejemplo, aproximadamente el sesenta por ciento de los linfomas anaplásicos de células grandes (ALCL) están asociados con una mutación cromosómica que genera una proteína de fusión que consiste en nucleofosmina (NMP) y el dominio intracelular de ALK. (Armitage, J.O. et al., *Cancer: principle and practice of oncology*, 6.ª Edición, 2001, 2256-2316; Kutok, J.L. & Aster J.C., *J. Clin. Oncol.*, 2002, 20, 3691-3702; Wan, W. et al., *Blood*, 2006, 107, 1617-1623. Esta proteína mutante, NMP-ALK, posee un dominio de tirosina quinasa constitutivamente activo que es responsable de su propiedad oncogénica a través de la activación de efectores posteriores (Falini, B et al., *Blood*, 1999, 94, 3509-3515; Morris, S.W. et al., *Brit. J. Haematol.*, 2001, 113, 275-295). Los datos experimentales han demostrado que la expresión aberrante de ALK constitutivamente activa está directamente implicada en la patogénesis del ALCL y que la inhibición de ALK puede perjudicar notablemente el crecimiento de células de linfoma ALK positivas (Kuefer, Mu et al., *Blood*, 1997, 90, 2901-2910; Bai, R.Y. et al., *Exp. Hematol.*, 2001, 29, 1082-1090; Slupianek, A. et al., *Cancer Res.*, 2001, 61, 2194-2199; Turturro, F. et al., *Clin. Cancer. Res.*, 2002, 8, 240-245). La ALK quimérica constitutivamente activada también se ha demostrado en aproximadamente el 60% de los tumores miofibroblásticos inflamatorios (IMT), un sarcoma de crecimiento lento que afecta principalmente a niños y adultos jóvenes (Lawrence, B. et al., *Am. J. Pathol.*, 2000, 157, 377-384).

30 35 40 45

Además, informes recientes también han descrito la aparición de una fusión de ALK variante, TPM4-ALK, en casos de carcinoma de células escamosas (SCC) del esófago (Jazzi fr., et al., *World J. Gastroenterol.*, 2006, 12, 7104-7112; Du X., et al., *J. Mol. Med.*, 2007, 85, 863-875; Aklilu M., *Semin. Radiat. Oncol.*, 2007, 17, 62-69). Por lo tanto, la ALK es uno de los pocos ejemplos de un RTK implicado en la oncogénesis tanto en neoplasias malignas hematopoyéticas como no hematopoyéticas. Más recientemente, se ha mostrado que una pequeña inversión dentro del cromosoma 2p da como resultado la formación de un gen de fusión que comprende porciones del gen de la proteína 4 asociada a microtúbulos equinodermos (EML4) y el gen de la quinasa del linfoma anaplásico (ALK) en células de cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) (Soda M., et al., *Nature*, 2007, 448, 561-567).

50

Por lo tanto, se contempla que un inhibidor de ALK permitiría curas duraderas cuando se utiliza como un agente terapéutico único o combinado con la quimioterapia actual para ALCL, IMT, trastornos proliferativos, glioblastoma y otros posibles tumores sólidos citados en el presente documento, o, como un agente terapéutico único, podría utilizarse en un papel de mantenimiento para prevenir la recurrencia en pacientes que necesitan dicho tratamiento.

55

60 Usos farmacéuticos

La invención presenta el compuesto de la invención para usar en el tratamiento de un sujeto que tiene o está en riesgo de contraer cáncer.

65

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" es aquella cantidad eficaz para la eliminación o inhibición detectable

del crecimiento o la propagación de células cancerosas; el tamaño o número de tumores; u otra medida del nivel, estadio, progresión o gravedad del cáncer. La cantidad exacta necesaria variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, edad y condición general del sujeto, la gravedad de la enfermedad, el agente anticanceroso particular, su modo de administración, tratamiento de combinación con otras terapias y similares.

5

El compuesto, o una composición que contiene el compuesto, se puede administrar utilizando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para eliminar o inhibir el crecimiento de tumores u otras formas de cáncer.

- 10 El compuesto anticanceroso de la invención preferiblemente se formula en forma farmacéutica unitaria para facilidad de administración y uniformidad de la dosificación. La expresión "forma farmacéutica unitaria", como se usa en el presente documento, se refiere a una unidad físicamente discreta del agente anticanceroso adecuado para tratar al paciente. Como suele ser el caso, el uso diario total del compuesto y las composiciones de la invención lo decidirá el médico tratante basándose habitualmente en un criterio médico sólido. El nivel de
- 15 dosis terapéuticamente eficaz específico para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando; la gravedad del trastorno; la potencia del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; la vía y pauta de administración; la tasa de metabolismo y/o excreción del compuesto; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o coincidentemente con la administración del
- 20 compuesto de la invención; y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

Además, después de la formulación con un vehículo farmacéuticamente aceptable apropiado en una dosis deseada, las composiciones de la invención se pueden administrar a seres humanos y otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como mediante parche transdérmico,

25 polvos, pomadas o gotas), sublingual, bucal, como un pulverizador oral o nasal, o similares.

La dosis sistémica efectiva del compuesto normalmente estará en el intervalo de 0,01 a 500 mg de compuesto por kg de peso corporal del paciente, preferiblemente de 0,1 a 125 mg/kg, y en algunos casos de 1 a 25 mg/kg, administrada en dosis únicas o múltiples. Generalmente, el compuesto puede administrarse a pacientes que

30 necesitan dicho tratamiento en un intervalo de dosis diaria de aproximadamente 50 a aproximadamente 2000 mg por paciente. La administración puede hacerse una o varias veces al día, semanalmente (o en algún otro intervalo de varios días) o según una pauta intermitente. Por ejemplo, el compuesto puede administrarse una o más veces al día semanalmente (p. ej., todos los lunes), de manera indefinida o durante un período de semanas, p. ej., 4 - 10 semanas. Alternativamente, puede administrarse diariamente durante un período de

35 días (p. ej., 2 - 10 días) seguido de un período de días (p. ej., 1 - 30 días) sin administración del compuesto, con este ciclo repetido indefinidamente o durante un número determinado de repeticiones, p. ej., 4 - 10 ciclos. Como un ejemplo, el compuesto de la invención puede administrarse diariamente durante 5 días, luego suspenderse durante 9 días, luego administrarse diariamente durante otro período de 5 días, luego suspenderse durante 9 días, y así sucesivamente, repitiendo el ciclo indefinidamente, o durante un total de 4 -

40 10 veces.

La cantidad de compuesto que será eficaz en el tratamiento o prevención de un trastorno o afección particular dependerá en parte de factores bien conocidos que afectan a la dosis del fármaco. Además, se pueden emplear ensayos *in vitro* o *in vivo* de manera opcional para ayudar a identificar intervalos de dosis óptimos. Se puede

45 extrapolar una guía aproximada de dosis efectivas a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de ensayo *in vitro* o de modelos animales. La dosis precisa debe ser determinada por el médico tratante u otro proveedor de atención sanitaria y dependerá de factores bien conocidos, que incluyen la vía de administración, y la edad, peso corporal, sexo y salud general del individuo; la naturaleza, gravedad y estadio clínico de la enfermedad; el uso (o no) de terapias concomitantes; y la naturaleza y la extensión de la ingeniería genética

50 de las células en el paciente.

Cuando se administra para el tratamiento o inhibición de un estado patológico o trastorno particular, la dosis efectiva del compuesto de la invención puede variar dependiendo del compuesto particular utilizado, el modo de administración, la afección y gravedad de la misma, de la afección que se está tratando, así como de los

55 diversos factores físicos relacionados con el individuo que se está tratando. En muchos casos, se pueden obtener resultados satisfactorios cuando el compuesto se administra en una dosis diaria de aproximadamente 0,01 mg/kg-500 mg/kg, preferiblemente entre 0,1 y 125 mg/kg, y más preferiblemente entre 1 y 25 mg/kg. Se espera que las dosis diarias planeadas varíen con la vía de administración. Por lo tanto, la administración parenteral a menudo estará en niveles de aproximadamente 10% a 20% de los niveles de dosificación oral.

60

Cuando el compuesto de la invención se usa como parte de un régimen de combinación, se administran dosis de cada uno de los componentes de la combinación durante un período de tratamiento deseado. Los componentes de la combinación pueden administrarse al mismo tiempo; ya sea como una forma farmacéutica unitaria que contenga ambos componentes o como unidades de dosificación separadas; los componentes de

65 la combinación también pueden administrarse en diferentes momentos durante un período de tratamiento, o uno puede administrarse como pretratamiento para el otro.

Respecto al compuesto

5 El compuesto de la presente invención pueden existir en forma libre para el tratamiento o, cuando sea apropiado, como una sal farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, la expresión “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a sales que son adecuadas, dentro del alcance de la opinión médica bien fundada, para usar en contacto con los tejidos humanos y de animales inferiores sin producir toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares no deseadas y son proporcionales a una relación razonable de beneficio/riesgo.

10 Las sales farmacéuticamente aceptables de aminas, ácidos carboxílicos, fosfonatos y otros tipos de compuestos son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge, et al. describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en *J. Pharmaceutical Sciences*, 66: 1-19 (1977), incorporado en el presente documento por referencia. Las sales se pueden preparar in situ durante el aislamiento y la purificación del compuesto de la invención, o por separado haciendo reaccionar la base libre o el ácido libre del compuesto de la invención con una base o un ácido adecuado, respectivamente. Ejemplos de sales de adición de ácido no tóxicas farmacéuticamente aceptables son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, o con ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico, o usando otros métodos usados en la técnica, tales como el intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, 20 malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando corresponde, amonio no tóxico, amonio cuaternario y cationes de amina formados usando contraiones, tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquilo inferior y sulfonato de arilo.

Composiciones farmacéuticas

35 La invención también presenta composiciones farmacéuticas que incluyen el compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas comprenden opcionalmente además uno o más agentes terapéuticos adicionales. En ciertos casos, el compuesto de la invención puede administrarse a un sujeto que recibe una o más intervenciones terapéuticas diferentes (p. ej., Gleevec u otros inhibidores de quinasa, interferón, trasplante de médula ósea, inhibidores de la farnesil transferasa, bifosfonatos, talidomida, vacunas contra el cáncer, terapia hormonal, anticuerpos, radiación, etc.). Por ejemplo, el compuesto de la invención se puede usar como un componente de una terapia de combinación en la que se administra al sujeto uno o más agentes terapéuticos adicionales (p. ej., un agente anticanceroso), formulándose dichos agentes juntos o por separado.

45 Las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables que se pueden usar en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen, sin limitación, disolventes, diluyentes u otros vehículos, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sea adecuado para la forma farmacéutica particular deseada. Remington's Pharmaceutical Sciences, decimoquinta edición, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1975) describe diversos vehículos utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticas y técnicas conocidas para su preparación. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; tales como propilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes de tamponamiento tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido alginico; agua exenta de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y soluciones tampón de fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes desmoldantes, agentes de recubrimiento, edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en la composición.

El compuesto de la invención puede administrarse por cualquier vía adecuada, preferiblemente en forma de una composición farmacéutica adaptada a dicha vía, y en una dosis eficaz para el tratamiento previsto. El compuesto de la invención puede, por ejemplo, administrarse por vía oral, mucosa, tópica, rectal, pulmonar tal como por pulverización por inhalación, o por vía parenteral, incluyendo por vía intravascular, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intraesternal y técnicas de infusión, en formulaciones unitarias de dosificación que contienen vehículos, adyuvantes y portadores farmacéuticamente aceptables convencionales.

Para administración oral, la composición farmacéutica puede estar en forma de, por ejemplo, un comprimido, cápsula, suspensión o líquido. La composición farmacéutica se prepara preferiblemente en forma de una unidad de dosificación que contiene una cantidad particular del principio activo. Cada dosis unitaria puede contener una cantidad de principio activo de aproximadamente 1 a 2000 mg, preferiblemente de aproximadamente 1 a 500 mg, más comúnmente de aproximadamente 5 a 200 mg. La cantidad del compuesto de la invención que se va a administrar normalmente estará en el intervalo de 0,01 a 500 mg de compuesto por kg de peso corporal, preferiblemente entre 0,1 y 125 mg/kg de peso corporal y en algunos casos entre 1 y 25 mg/kg de peso corporal. Como se mencionó previamente, la dosis diaria puede administrarse en una sola administración o puede dividirse en 2, 3, 4 o más administraciones.

En el caso de afecciones de la piel, puede ser preferible aplicar una preparación tópica del compuesto de la invención en el área afectada de dos a cuatro veces al día. Las formulaciones adecuadas para administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semilíquidas adecuadas para la penetración a través de la piel (p. ej., linimentos, lociones, pomadas, cremas o pastas) y gotas adecuadas para administración en los ojos, oídos o nariz. Una dosis tópica adecuada del principio activo del compuesto de la invención es de 0,1 mg a 150 mg administrada de una a cuatro, preferiblemente una o dos veces al día. Para administración tópica, el principio activo puede comprender de 0,001% a 10% p/p, p. ej., de 1% a 2% en peso de la formulación, aunque puede comprender tanto como 10% p/p, pero preferiblemente no más de 5% p/p, y más preferiblemente de 0,1% a 1% de la formulación.

Cuando se formula en forma de pomada, los principios activos se pueden emplear con una base de pomada parafínica o miscible con agua. Alternativamente, los principios activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua. Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos 30% p/p de un alcohol polihídrico tal como propilenglicol, butano-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol, polietilenglicol y mezclas de los mismos. La formulación tópica pueden incluir de manera deseable un compuesto que potencia la absorción o penetración del principio activo a través de la piel u otras zonas afectadas. Los ejemplos de dichos potenciadores de la penetración dérmica incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

El compuesto de la invención también puede administrarse mediante un dispositivo transdérmico. Preferiblemente, la administración transdérmica se realizará usando un parche, ya sea del tipo depósito y membrana porosa o de una variedad de matriz sólida. En cualquier caso, el agente activo se administra de forma continua desde el depósito o microcápsulas a través de una membrana adhesiva permeable al agente activo, que está en contacto con la piel o mucosa del receptor. Si el agente activo se absorbe a través de la piel, se administra un flujo controlado y predeterminado del agente activo al receptor. En el caso de las microcápsulas, el agente encapsulante también puede funcionar como la membrana.

La fase oleosa de las emulsiones de la invención puede estar constituida de ingredientes conocidos y de una manera conocida.

Aunque la fase puede comprender simplemente un emulsionante, puede comprender una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o tanto con una grasa como con un aceite. Preferiblemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. Se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Juntos, el(los) emulsionante(s) con o sin estabilizante(s) constituyen la denominada cera emulsionante y la cera, junto con el aceite y la grasa, componen la denominada base de pomada emulsionante que forma la fase dispersada oleosa de las formulaciones en crema. Los emulsionantes y estabilizantes de emulsión adecuados para usar en la formulación de la invención incluyen Tween 60, Span 80, alcohol cetoestearílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo, lauril sulfato de sodio, diestearato de glicerilo solo o con una cera, u otros materiales bien conocidos en la técnica.

La elección de los aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en lograr las propiedades cosméticas deseadas, ya que la solubilidad del compuesto activo en la mayoría de los aceites que probablemente se usarán en formulaciones de emulsiones farmacéuticas es muy baja. Por lo tanto, la crema debe ser preferiblemente un producto no graso, que no manche y lavable, con una consistencia adecuada para evitar fugas de los tubos u otros recipientes. Se pueden usar ésteres de alquilo mono o dibásicos de cadena lineal o ramificada, tales como di-isoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada. Estos pueden usarse solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas.

Alternativamente, se pueden utilizar lípidos de alto punto de fusión, tales como parafina blanda blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

- 5 Las formulaciones adecuadas para administración tópica en el ojo también incluyen colirios en los que los principios activos se disuelven o suspenden en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para los principios activos.

- 10 Los principios activos están presentes preferiblemente en dichas formulaciones en una concentración de 0,5 a 20%, ventajosamente de 0,5 a 10% y particularmente aproximadamente 1,5% p/p.

- 15 Las formulaciones para administración parenteral pueden estar en forma de soluciones o suspensiones inyectables estériles isotónicas acuosas o no acuosas. Estas soluciones y suspensiones pueden prepararse a partir de polvos o gránulos estériles utilizando uno o más de los vehículos o diluyentes mencionados para usar en las formulaciones para administración oral o usando otros agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. Los compuestos se pueden disolver en agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, alcohol bencílico, cloruro de sodio, goma de tragacanto y/o diversos tampones.

- 20 Otros adyuvantes y modos de administración son bien conocidos en la técnica farmacéutica. El principio activo también puede administrarse por inyección como una composición con vehículos adecuados que incluyen solución salina, dextrosa o agua, o con ciclodextrina (es decir, Captisol), solubilización con codisolvente (es decir, propilenglicol) o solubilización micelar (es decir, Tween 80).

- 25 La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están el agua, solución de Ringer y solución de cloruro de sodio isotónica. Además, los aceites estériles fijos se emplean convencionalmente como un disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, cualquier aceite fijo
30 blando puede utilizarse, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos, tales como el ácido oleico, son útiles en la preparación de inyectables.

- Para administración pulmonar, la composición farmacéutica puede administrarse en forma de un pulverizador o con un inhalador que incluye un aerosol de polvo seco.

- 35 Los supositorios para administración rectal del fármaco se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado, tal como manteca de cacao y polietilenglicoles que son sólidos a temperaturas normales pero líquidos a la temperatura rectal y, por lo tanto, se derretirán en el recto y liberarán el fármaco.

- 40 Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener adyuvantes convencionales, tales como conservantes, estabilizante, agentes humectantes, emulsionantes, tampones, etc. Se pueden preparar adicionalmente comprimidos y píldoras con recubrimientos entéricos. Dichas composiciones también pueden comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes.

- 45 Terapia de combinación

- El compuesto de la invención puede administrarse como parte de un régimen de tratamiento en el que el compuesto es el único agente farmacéutico activo, o usarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales como parte de una terapia de combinación. Cuando se administran como un
50 componente de una terapia de combinación, los agentes terapéuticos que se administran se pueden formular como composiciones separadas que se administran al mismo tiempo o secuencialmente en diferentes momentos (p. ej., en el espacio de 72 horas, 48 horas o 24 horas entre sí), o los agentes terapéuticos se pueden formular juntos en una única composición farmacéutica y administrar simultáneamente.

- 55 Por lo tanto, la administración del compuesto de la invención puede ser junto con terapias adicionales conocidas por los expertos en la técnica en la prevención o tratamiento del cáncer, tales como radioterapia o agentes citostáticos, agentes citotóxicos, otros agentes anticancerosos y otros fármacos para mejorar los síntomas del cáncer o los efectos secundarios de cualquiera de los fármacos.

- 60 Si se formulan como una dosis fija, dichos productos de combinación emplean el compuesto de la invención dentro de los intervalos de dosificación aceptados. El compuesto de la invención también puede administrarse secuencialmente con otros agentes anticancerosos o citotóxicos cuando una formulación de combinación no es apropiada. La invención no está limitada en la secuencia de administración; el compuesto de la invención
65 puede administrarse antes, simultáneamente o después de la administración del otro agente anticanceroso o citotóxico.

Actualmente, el tratamiento de referencia de los tumores primarios consiste en la escisión quirúrgica, cuando sea apropiado, seguida de radiación o quimioterapia, y generalmente administrada por vía intravenosa (IV). El régimen de quimioterapia típico consiste en agentes alquilantes de ADN, agentes intercalantes de ADN, inhibidores de CDK o venenos de microtúbulos. Las dosis de quimioterapia usadas son justo por debajo de la dosis máxima tolerada y, por lo tanto, las toxicidades limitantes de la dosis normalmente incluyen náuseas, vómitos, diarrea, pérdida de cabello, neutropenia y similares.

Hay un gran número de agentes antineoplásicos disponibles en uso comercial, en evaluación clínica y en desarrollo preclínico, que se seleccionarían para el tratamiento del cáncer mediante quimioterapia de combinación de fármacos. Y existen varias categorías principales de dichos agentes antineoplásicos, en concreto, agentes de tipo antibiótico, agentes alquilantes, agentes antimetabolitos, agentes hormonales, agentes inmunológicos, agentes de tipo interferón y una categoría de agentes varios.

Una primera familia de agentes antineoplásicos que se pueden usar en combinación con el compuesto de la invención incluye agentes antineoplásicos inhibidores de la timidilato sintasa/tipo antimetabolito. Los agentes antineoplásicos antimetabolitos adecuados se pueden seleccionar de, pero no se limitan al grupo que consiste en 5-FU-fibrinógeno, ácido acantifólico, aminotiadiazol, brequinar sódico, carmofur, CibaGeigy CGP-30694, ciclopentilcitosina, fosfato-estearato de citarabina, conjugados de citarabina, Lilly DATHF, Merrel Dow DDFC, dezaguanina, didesoxicidina, didesoxiguanosina, didox, Yoshitomi DMDC, doxifluridina, Wellcome EHNA, Merck & Co.

EX-015, fazarabina, floxuridina, fosfato de fludarabina, 5fluorouracilo, N-(21-furanidilo) fluorouracilo, Daiichi Seiyaku FO-152, isopropil pirrolizina, Lilly LY-188011, Lilly LY-264618, metobenzaprim, metotrexato, Wellcome MZPES, norspermidina, NCI NSC-127716, NCI NSC-264880, NCI NSC-39661, NCI NSC-612567, Warner-Lambert PALA, pentostatina, piritrexim, plicamicina, Asahi Chemical PL-AC, Takeda TAC788, tioguanina, tiazofurina, Erbamont TIF, trimetrexato, inhibidores de la tirosina quinasa, Taiho UFT y uricitina.

Una segunda familia de agentes antineoplásicos que se pueden usar en combinación con el compuesto de la invención consiste en agentes antineoplásicos de tipo alquilante. Los agentes antineoplásicos de tipo alquilante adecuados se pueden seleccionar, pero no se limitan al grupo que consiste en 254-S de Shionogi, análogos de aldofosfamida, altretamina, anaxirona, BBR-2207 de Boehringer Mannheim, bestrabucilo, budotitano, CA-102 de Wakunaga, carboplatino, carmustina, Chinoin-139, Chinoin-153, clorambucilo, cisplatino, ciclofosfamida, CL-286558 de American Cyanamid, CY-233 de Sanofi, ciplatato, D 384 de Degussa, DACHP(Myrr)2 de Sumimoto, difenilespiromustina, diplatino citostático, derivados de Erba distamicina, DWA-2114R de Chugai, ITI E09, elmustina, FCE-24517 de Erbamont, fosfato de estramustina de sodio, fotemustina, Unimed GM, GYKI-17230 de Chinoin, hepsulfam, ifosfamida, ioproplatino, lomustina, mafosfamida, mitolactoflo NK-121 de Nippon Kayaku, NSC-264395 de NCI, NSC-342215 de NCI, oxaliplatino, PCNU de Upjohn, prednimustina, PTT-119 de Proter, ranimustina, semustina, SK&F-101772 de SmithKline, SN-22 de Yakult Honsha, espiromustina, TA-077 de Tanabe Seiyaku, tauromustina, temozolomida, teroxirona, tetraplatino y trimelamol.

Una tercera familia de agentes antineoplásicos que se pueden usar en combinación con el compuesto de la invención consiste en agentes antineoplásicos de tipo antibiótico. Los agentes antineoplásicos de tipo antibiótico adecuados se pueden seleccionar de, pero no se limitan al grupo que consiste en 4181-A de Taiho, aclarubicina, actinomicina D, actinoplanona, ADR-456 de Erbamont, derivado de aeropolisinina, AN II de Ajinomoto, AN3 de Ajinomoto, anisomicinas de Nippon Soda, antraciclina, azino-micina-A, bisucaberina, BL-6859 de Bristol-Myers, BMY-25067 de Bristol-Myers, BNY-25551 de Bristol-Myers, BNY-26605 de Bristol-Myers, BNY-27557 de Bristol-Myers, BMY-28438 de Bristol-Myers, sulfato de bleomicina, briostatina-1, C-1027 de Taiho, calicheimicina, cromoximicina, dactinomicina, daunorubicina, DC-102 de Kyowa Hakko, DC-79 de Kyowa Hakko, DC-88A de Kyowa Hakko, DC89-AI, de Kyowa Hakko, DC92-B de Kyowa Hakko, ditrisarubicina B, DOB-41 de Shionogi, doxorubicina, doxorubicina-fibrinógeno, elsamicina-A, epirubicina, erbstatina, esorubicina, esperamicina-AI, esperamicina-Alb, FCE21954 de Erbamont, FK-973 de Fujisawa, fostriecina, FR-900482 de Fujisawa, glidobactina, gregatina-A, grincamicina, herbimicina, idarrubicina, illudinas, kzasamicina, kesarirhodinas, KM-5539 de Kyowa Hakko, KRN-8602 de Kirin Brewery, KT-5432 de Kyowa Hakko, KT-5594 de Kyowa Hakko, KT-6149 de Kyowa Hakko, LL-D49194 de American Cyanamid, ME 2303 de Meiji Seika, menogaril, mitomicina, mitoxantrona, SmithKline M-TAG, neoactina, NK-313 de Nippon Kayaku, NKT-01 de Nippon Kayaku, NSC-357704 de SRI International, oxalisina, oxanomicina, peplomicina, pilatina, pirarubicina, porotramicina, pirindanicina A, RA-1 de Tobishi, rapamicina, rizoxina, rodorubicina, sibanomicina, siwenmicina, SM5887 de Sumitomo, SN-706 de Snow Brand, SN-07 de Snow Brand, sorangicina-A, esparsomicina, SS Pharmaceutical SS-21020, SS-7313B de SS Pharmaceutical, SS-9816B de SS Pharmaceutical, estefimicina B, Taiho 4181-2, talisomicina, TAN-868A de Takeda, terpentecina, tracina, tricrozarina A, U-73975 de Upjohn, UCN-10028A de Kyowa Hakko, WF-3405 de Fujisawa, Y-25024 de Yoshitomi y zorubicina.

Una cuarta familia de agentes antineoplásicos que se pueden usar en combinación con el compuesto de la invención consiste en una familia diversa de agentes antineoplásicos, que incluyen agentes que interaccionan

con la tubulina, inhibidores de topoisomerasa II, inhibidores de topoisomerasa I y agentes hormonales, seleccionados de, pero no limitados al grupo que consiste en (xcaroteno, (X-difluorometil-arginina, acitretina, AD-5 de Biotec, AHC-52 de Kyorin, alstonina, amonafida, anfetinilo, amsacrina, angiostat, ankinomicina, antineoplastón A10, antineoplastón A2, antineoplastón A3, antineoplastón A5, antineoplastón AS2-1F Henkel APD, glicinato de afidicolina, asparaginasa, Avarol, bacarina, batracilina, benfluron, benzotript, Ipsen-Beaufour BIM-23015, bisantreno, BNY-40481 de BristoMyers, boro-10 de Vestar, bromofosfamida, BW-502 de Wellcome, BW-773 de Wellcome, caracemida, hidrocloreuro de carmetizol, CDAF de Ajinomoto, clorsulfaquinoxalona, CHX-2053 de Chemes, CHX-100 de Chemex, CI-921 de Warner-Lambert, CI-937 de WarnerLambert, CI-941 de Warner-Lambert, CI958 de Warner-Lambert, clanfenur, claviridenona, compuesto 1259 de ICN, compuesto 4711 de ICN, Contracan, CPT-11 de Yakult Honsha, crisnatol, curaderm, citocalasina B, citarabina, citocitina, Merz D-609, maleato de DABIS, dacarbazina, dateliptinio, didemnina-B, éter de dihematoporfirina, dihidrolenperona, dinalina, distamicina, DM-341 de Toyo Phamar, DM-75 de Toyo Phamar, DN-9693 de Daiichi Seiyaku, docetaxel eliprabina, acetato de eliptinio, EPMTc de Tsumura, las epotilonas, ergotamina, etopósido, etretinato, fenretinida, nitrato de galio FR-57704t de Fujisawa, genkwadafnín, Chugai GLA-43, Glaxo GR-63178, grifolan NMF5N, hexadecilfosfocolina, HO-221 de Green Cross, homoharringtonina, hidroxíurea, ICRF-187 de BTG, ilmofofina, isoglutamina, isotretinoína, JI-36 de Otsuka, K-477 de Ramot, K-76COONa de Otsuak, K-AM de Kureha Chemical, KI-8110 de MECT Corp, L-623 de American Cyanamid, leucoregulina, Ionidamina, LU 1121 de Lundbeck LY-186641 de Lilly, MAP de NCI (EE. UU.), maricina, MDL-27048 de Merrel Dow, MEDR-340 de Medco, merbarona, derivados de merocianina, metilaniilinoacridina, MGI136 de Molecular Genetics, minactivina, mitonafida, mitoquidona mopidamol, motretinida, MST-16 de Zenyaku Kogyo, N-(retinilo)aminoácidos, N-021 de Nisshin Flour Milling, N-aciladas-deshidroalaninas, nafazatrom, NCU-190 de Taisho, derivado de nocodazol, Normosang, NSC-145813 de NCI, NSC-361456 de NCI, NSC-604782 de NCI, NSC-95580 de NCI, ocreótido, Ono ONO-112, oquizanocina, Org-10172 de Akzo, paclitaxel, pancratistatina, pazelliptina, PD-111707 de WarnerLambert, PD-115934 de Warner-Lambert, PD-131141 de Warner-Lambert, PE-1001 de Pierre Fabre, péptido D de ICRT, piroxantrona, polihematoporfirina, ácido polipeico, porfirina Efamol, probimano, procarbazona, proglumida, proteasa nexina I de Invitron, RA-700 de Tobishi, razoxano, RBS de Sapporo Breweries, restrictina-P, reteliptina, ácido retinoico, RP-49532 de Rhone-Poulenc, RP-56976 de Rhone-Poulenc, SK&F-104864 de SmithKline, SM-108 de Sumitomo, SMANCS de Kuraray, SP10094 de SeaPharm, spatol, derivados de espirociclopropano, espirogermanio, Unimed, SS-554 de SS Pharmaceutical, estripoldinona, estipoldiona, SUN 0237 de Suntory, SUN 2071 de Suntory, superóxido dismutasa, T-506 de Toyama, T-680 de Toyama, taxol, TEI-0303 de Teijin, tenipósido, taliblastina, TJB-29 de Eastman Kodak, tocotrienol, topotecán, Topostin, TT82 de Teijin, UCN-01 de Kyowa Hakko, UCN-1028 de Kyowa Hakko, Ukrain, USB-006 de Eastman Kodak, sulfato de vinblastina, vincristina, vindesina, vinestramida, vinorelbina, vintriptol, vinzolidina, withanólidos y YM de Yamanouchi Alternativamente, los presentes compuestos también se pueden usar en coterapias con otros agentes antineoplásicos, tales como acemanano, aclarubicina, aldesleucina, alemtuzumab, alitretinoína, alitretamina, amifostina, ácido aminolevulínico, amrubicina, amsacrina, anagrelida, anastrozol, ANCER, ancestim, aRGLABINA, trióxido de arsénico, BAM 002 (Novelos), bexaroteno, bicalutamida, broxuridina, capecitabina, celmoleucina, cetorelix, cladribina, clotrimazol, ocfosfato de citarabina, DA 3030 (Dong-A), daclizumab, denileucina difitox, deslorelinea, dextrazoxano, dilazep, docetaxel, docosanol, doxercalciferol, doxiluridina, doxorubicina, bromocriptina, carmustina, citarabina, fluorouracilo, HIT diclofenaco, interferón alfa, daunorubicina, doxorubicina, tretinoína, edelfosina, edrecolomab efllornitina, emitefur, epirubicina, epoetina beta, fosfato de etopósido, exemestano, exisulind, fadrozol, filgrastim, finasterida, fosfato de fludarabina, formestano, fotemustina, nitrato de galio, gemcitabina, gemtuzumab zogamicina, combinación de gimeracilo/oteracilo/tegafur, glicopina, goserelina, heptaplatino, gonadotropina coriónica humana, alfa fetoproteína fetal humana, ácido ibandrónico, idarubicina, (imiquimod, interferón alfa, interferón alfa, natural, interferón alfa-2, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, interferón alfa-NI, interferón alfa-n3, interferón alfacon1, interferón alfa, natural, interferón beta, interferón beta-la, interferón beta-lb, interferón gamma, interferón gamma-la natural, interferón gamma-lb, interleucina-I beta, iobenguano, irinotecán, irsogladina, lanreotida, LC 9018 (Yakult), leflunomida, lenograstim, sulfato de lentinan, letrozol, interferón alfa leucocitario, leuporelinea, levamisol + fluorouracilo, liarozol, lobaplatino, Ionidamina, lovastatina, masopropol, melarsoprol, metoclopramida, mifepristona, miltefosina, mirimostim, ARN bicatenario de apareamiento erróneo, mitoguazona, mitolactol, mitoxantrona, molgramostim, nafarelinea, naloxona + pentazocina, nartograstim, nedaplatino, nilutamida, noscapina, nueva proteína estimulante de la eritropoyesis, NSC 631570 octreótido, oprelvekin, osaterona, oxaliplatino, paclitaxel, ácido pamidróico, pegaspargasa, peginterferón alfa-2b, pentosán polisulfato sódico, pentostatina, picibanil, pirarubicina, anticuerpo policlonal antitumocito de conejo, polietilenglicol interferón alfa-2a, porfímero sódico, raloxifeno, raltitrexed, rasburicasa, etidronato de renio Re 186, retinamida RII, rituximab, romurtida, samario (153 Sm) lexidronam, sargramostim, sizofirán, sobuzoxano, sonermina, cloruro de estroncio-89, suramina, tasonermina, tazaroteno, tegafur, temoporfina, temozolomida, tenipósido, tetraclorodecaóxido, talidomida, timalfasina, tiotropina alfa, topotecán, toremifeno, tositumomab-yodo 131, trastuzumab, treosulfán, tretinoína, trilostano, trimetrexato, triptorelina, factor de necrosis tumoral alfa, natural, ubenimex, vacuna contra el cáncer de vejiga, vacuna Maruyama, vacuna de lisado de melanoma, valrubicina, verteporfina, vinorelbina, VIRULIZINA, zinostatina estimalamer o ácido zoledrónico; abarelix; AE 941 (Aeterna), ambamustina, oligonucleótido antisentido, bcl-2 (Genta), APC 8015 (Dendreon), cetuximab, decitabina, dexaminoglutetimida, diaziquona, EL 532 (Elan), EM 800 (Endorecherche), eniluracilo, etanidazol, fenretinidil filgrastim SDO1 (Amgen), fulvestrant, galocitabina, inmunógeno de gastrina 17, terapia génica HLA-B7 (Vical), factor estimulante de colonias de granulocitos y

macrófagos, dihidrocloruro de histamina, ibritumomab tiuxetan, ilomastat, IM 862 (Cytran), interleucina iproxifeno, LDI 200 (Milkhaus), leridistim, lintuzumab, MAb CA 125 (Biomira), MAb contra el cáncer (Japan Pharmaceutical Development), HER-2 y MAb Fc (Medarex), MAb 105AD7 idiopático (CRC Technology), MAb CEA idiopático (Trilex), MAb LYM yodo 131 (Techniclone), MAb de mucina epitelial polimórfica-itrío 90 (Antisoma), marimastat, menogaril, mitumomab, motexafina, gadolinio, MX 6 (Galderma), nelarabina, nolatrexed, proteína P 30, pegvisomant, pemetrexed, porfiromicina, prinomastat, RL 0903 (Shire), rubitecán, satraplatino, fenilacetato de sodio, ácido esparfósico, SRL 172 (SR Pharma), SU 5416 (SUGEN)y SU 6668 (SUGEN), TA 077 (Tanabe), tetratiomolibdato, taliblastina, trombopoyetina, etil-etiopurpurina de estaño, tirapazamina, vacuna contra el cáncer (Biomira), vacuna contra melanoma (Universidad de Nueva York),
 10 vacuna contra melanoma (Instituto Sloan Kettering), vacuna de oncolisado de melanoma (New York Medical College), vacuna de lisados de células de melanoma viral (Royal Newcastle Hospital) o valspodar.

Kits de tratamiento

15 En otras realizaciones, la invención se refiere a un kit para llevar a cabo de forma conveniente y eficaz los métodos según la invención. En general, el paquete o kit farmacéutico comprende uno o más recipientes llenos con uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas de la invención e instrucciones para administrar la composición farmacéutica (p. ej., una etiqueta o prospecto) como parte de un método descrito en el presente documento. Dichos kits son especialmente adecuados para la administración de formas orales
 20 sólidas, tales como comprimidos o cápsulas. Un kit de este tipo incluye preferiblemente una serie de dosis unitarias y también puede incluir una tarjeta que tiene las dosis orientadas en el orden de su uso previsto. Si se desea, se puede proporcionar un recordatorio, por ejemplo, en forma de números, letras u otras marcas, o como un calendario que indique los días de la pauta de tratamiento en los que deben administrarse las dosificaciones. Opcionalmente, asociado con dicho(s) recipiente(s) puede haber un aviso de la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos, cuyo aviso refleje la aprobación por la agencia de la fabricación, uso o venta para administración humana.

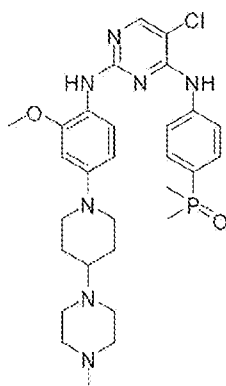
Los siguientes ejemplos representativos contienen información adicional importante, ilustración y guía que se pueden adaptar a la práctica de la invención en sus diversas realizaciones y sus equivalentes. Estos ejemplos pretenden ayudar a ilustrar la invención y no pretenden limitar su alcance, ni deben interpretarse como tal. De hecho, varias modificaciones de la invención, y muchas otras realizaciones de la misma, además de las que se muestran y describen en el presente documento, serán evidentes para los expertos en la técnica tras la revisión de este documento, incluidos los ejemplos que siguen y las referencias a la bibliografía científica y de patentes citadas en el presente documento. El contenido de las referencias citadas se incorpora en el presente documento por referencia para ayudar a ilustrar el estado de la técnica. Además, para los fines de la invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75.^a Ed., contraportada. Además, se describen los principios generales de la química orgánica, así como los restos funcionales específicos y la reactividad en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y "Organic Chemistry", Morrison & Boyd (3.^a Ed),
 40 cuyo contenido entero se incorpora en el presente documento por referencia.

Ejemplos

Ejemplo 1:

(no reivindicado)

5-cloro-*N*⁴-[4-(dimetilfosforil)fenil]-*N*²-{2-metoxi-4-[4-(4-metilpiperazin-1-il)piperidin-1-il]fenil}pirimidina-2,4-diamina:



2,5-dicloro-N-[4-(dimetilfosforil)fenil]pirimidin-4-amina: A una solución de 2,4,5-tricloropirimidina (0,15 ml, 1,31

mmol) en 1 ml de DMF se añadió 4-(dimetilfosforil)anilina (0,221 g, 1,31 mmol) y carbonato de potasio (0,217 g, 1,57 mmol). La mezcla se calentó a 110°C durante 4 h. Se basificó con solución saturada de bicarbonato de sodio. La suspensión se filtró y se lavó con acetato de etilo para dar el producto final (0,15 g, rendimiento de 36%). MS/ES+: m/z=316.

5

1-[1-(3-metoxi-4-nitrofenil)piperidin-4-il]-metilpiperazina: A una solución de 5-fluoro-2-nitroanisol (0,5 g, 2,92 mmol) en 3 ml de DMF se añadió 1-metil-4-(piperidinil)piperazina (0,536 g, 2,92 mmol) y carbonato de potasio (0,808, 5,84 mmol). La mezcla se calentó a 120°C durante 18 h. La mezcla se basificó con solución de bicarbonato de sodio saturada y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se purificó por cromatografía para dar el producto final como un sólido amarillo (0,95 g, rendimiento de 95%). MS/ES+: m/z=334.

10

2-metoxi-4-[4-(4-metilpiperazin-1-il)piperidin-1-il]anilina: A una solución de 1-[1-(3-metoxi-4-nitrofenil)piperidin-4-il]-4-metilpiperazina (0,3 g, 0,90 mmol) en 10 ml de etanol purgado con argón se añadió paladio sobre carbón al 10% (0,060 g). La hidrogenación finalizó bajo 2,1 de kg/cm² (30 psi) después de 4 h. La mezcla se pasó a través de Celite a un matraz que contenía HCl en etanol. La concentración del filtrado dio el producto final (0,15 g, rendimiento de 88%). MS/ES+: m/z=334.

15

5-cloro-N⁴-[4-(dimetilfosforil)fenil]-N²-{2-metoxi-4-[4-(4-metilpiperazin-1-il)piperidin-1-il]fenil}pirimidina-2,4-diamina: Al compuesto 2,5-dicloro-N-[4-(dimetilfosforil)fenil]pirimidin-4-amina (0,005 g, 0,16 mmol) en 1 ml de 2-metoxietanol se añadió 2-metoxi-4-[4-(4-metilpiperazin-1-il)piperidin-1-il]anilina (0,71 g, 0,16 mmol). La mezcla se agitó a 110°C durante 18 h. La mezcla se basificó con solución de bicarbonato de sodio saturada y se extrajo con una cantidad limitada de acetato de etilo. La capa acuosa se purificó por cromatografía para dar el producto final (0,015 g, rendimiento de 20%). MS/ES+: m/z=583.

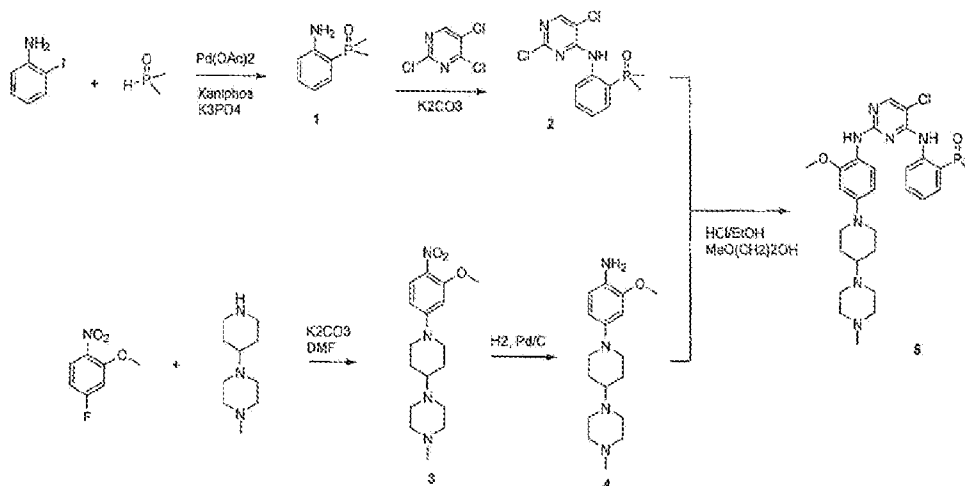
20

25 Ejemplo 2:

Síntesis del Compuesto 5:

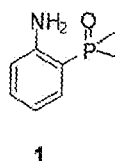
El compuesto 5 se puede sintetizar como se describe en el Esquema 122 (a continuación).

30



Esquema 122

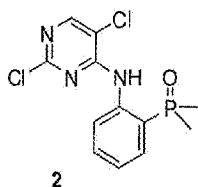
35 Síntesis de 1:



40

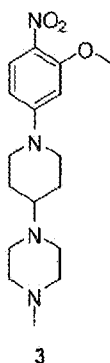
A una solución de 2-yodoanilina (1,0 eq) y óxido de dimetilfosfina (1,1 eq) en DMF se añadieron fosfato de potasio (1,1 eq), acetato de paladio/Xantphos (catalítico). La reacción se agitó a 150°C durante 3 horas y se enfrió a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente y el residuo se trató con DCM/agua. El producto bruto se purificó con una columna (EtOAc/MeOH 10:1) para dar 1 como un sólido marrón (rendimiento de 80%).

Síntesis de 2:



- 5 Se agitaron 2,4,5-tricloropirimidina (1,57 eq), **1** (1,0 eq) y carbonato de potasio (3,14 eq) en DMF a 60°C durante 5 horas y luego se enfriaron a t.a. La mezcla se filtró y el filtrado se

Síntesis de 3:

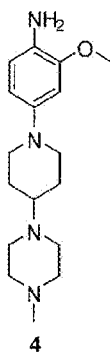


10

Se agitaron 5-fluoro-2-nitroanisol (1,0 eq), 1-metil-4-(piperidin-4-il)piperazina (1,0 eq) y carbonato de potasio (2,0 eq) en DMF a 120°C durante 6 horas y luego se enfriaron a t.a. La mezcla filtró y se evaporó. El producto bruto se cristalizó en etanol para dar **3** como un sólido amarillo (rendimiento de 72%).

15

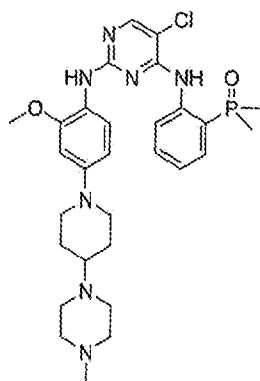
Síntesis de 4:



- 20 Se añadió paladio sobre carbón activado a una solución de **3** en etanol en atmósfera de nitrógeno. Luego la suspensión se agitó en atmósfera de hidrógeno (3,5 kg/cm² (50 psi)) durante 3 horas. La mezcla se filtró y la filtración se evaporó para dar **4** como un sólido púrpura con un rendimiento cuantitativo.

Síntesis de 5:

25



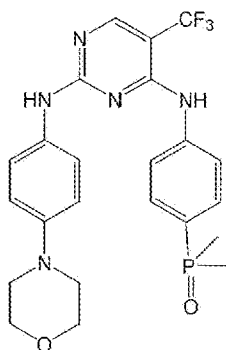
5

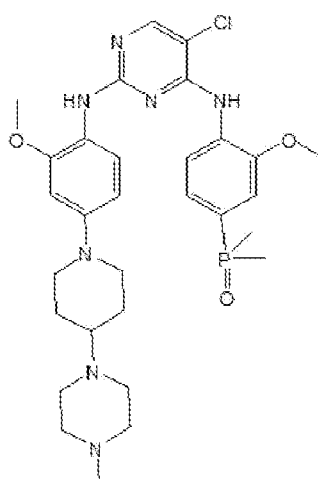
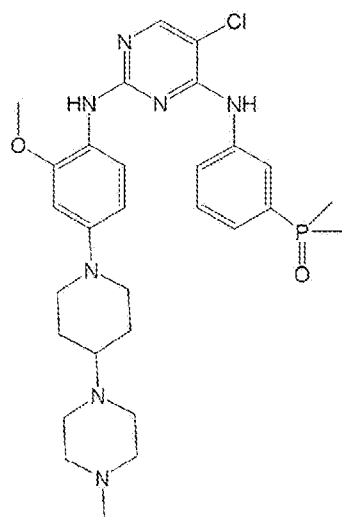
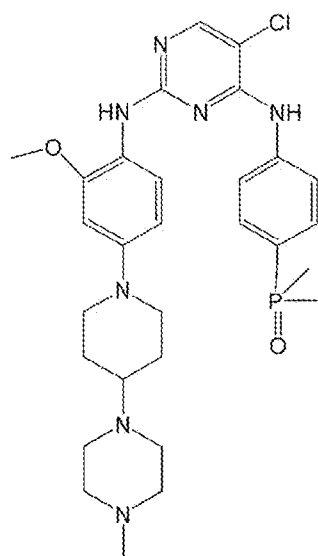
Una solución de **2** (1,0 eq), **4** (1,4 eq) y HCl 2,5 M en etanol (exceso) en 2-metoxietanol se selló y se calentó a 120°C con agitación durante 5,5 horas y luego se enfrió a t.a. La reacción se repitió 5 veces y se combinó. La mezcla se filtró y se evaporó. Se añadió solución saturada de Na₂CO₃, seguido de DCM con agitación intensa. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM. Las capas orgánicas se secaron, se evaporaron y se cromatografiaron [EtOAc/MeOH (amoníaco 7 M) 20:1] para dar un sólido amarillo. Se añadió EtOAc y la suspensión se calentó a reflujo durante 30 minutos. Después de enfriar a t.a., la filtración dio un sólido, que se disolvió en DCM, se filtró y se evaporó para proporcionar **5** como un sólido blanquecino (rendimiento de 66%).

Ejemplo 3: Evaluación biológica de compuestos

Los compuestos descritos en el presente documento se evalúan en una variedad de ensayos para determinar sus actividades biológicas. Por ejemplo, se puede ensayar la capacidad de los compuestos para inhibir diversas proteínas quinasas de interés. Algunos de los compuestos ensayados presentaron una potente actividad nanomolar contra las siguientes quinasas: ALK y c-Met. Además, en algunos de estos compuestos se determinó su actividad antiproliferativa en las líneas celulares de linfoma Karpas-299 humano y SU-DHL-1 humano y demostraron actividad en el intervalo de 1-100 nM. También se pueden evaluar los efectos citotóxicos o inhibidores del crecimiento de los compuestos en células tumorales de interés, p. ej., como se describe con más detalle a continuación y como se muestra más arriba para algunos compuestos. Véase, p. ej., el documento WO 03/000188, páginas 115-136, cuyo contenido completo se incorpora en el presente documento por referencia.

Algunos compuestos de Fórmula VIa se representan a continuación:

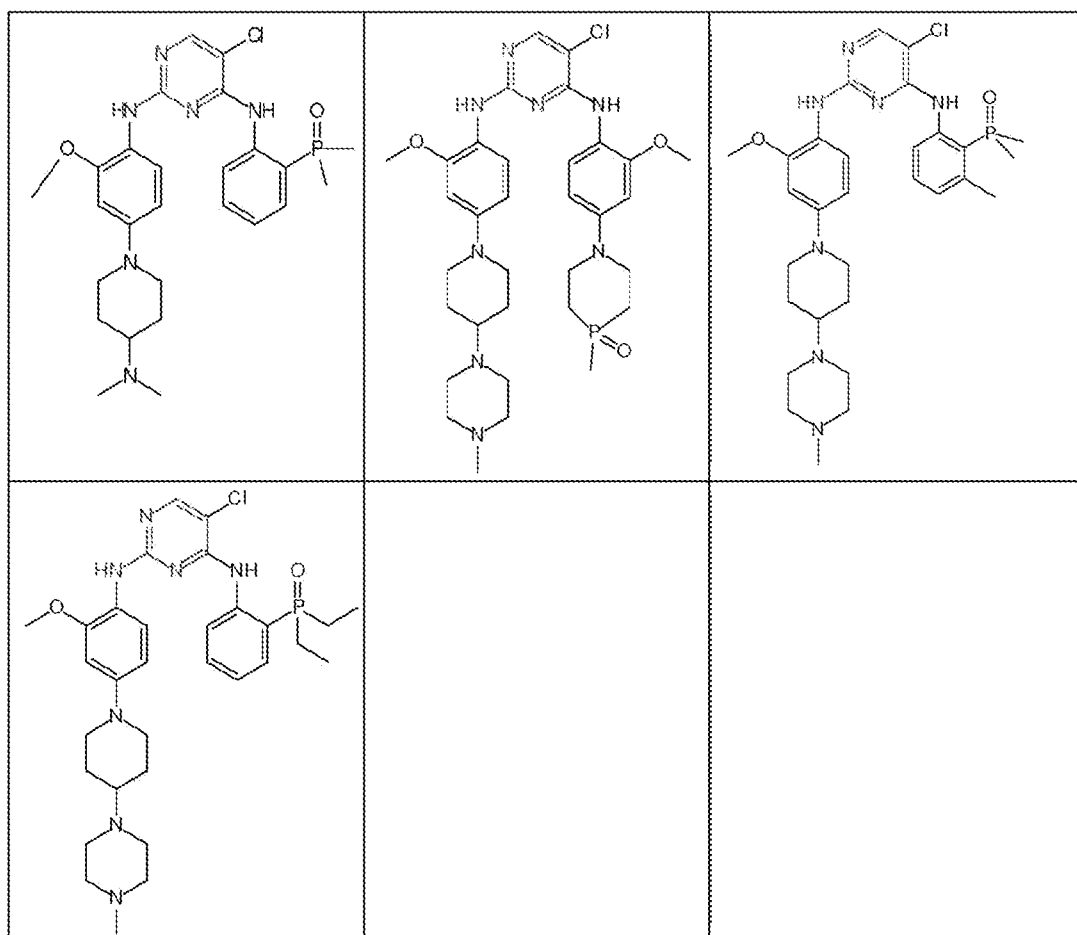


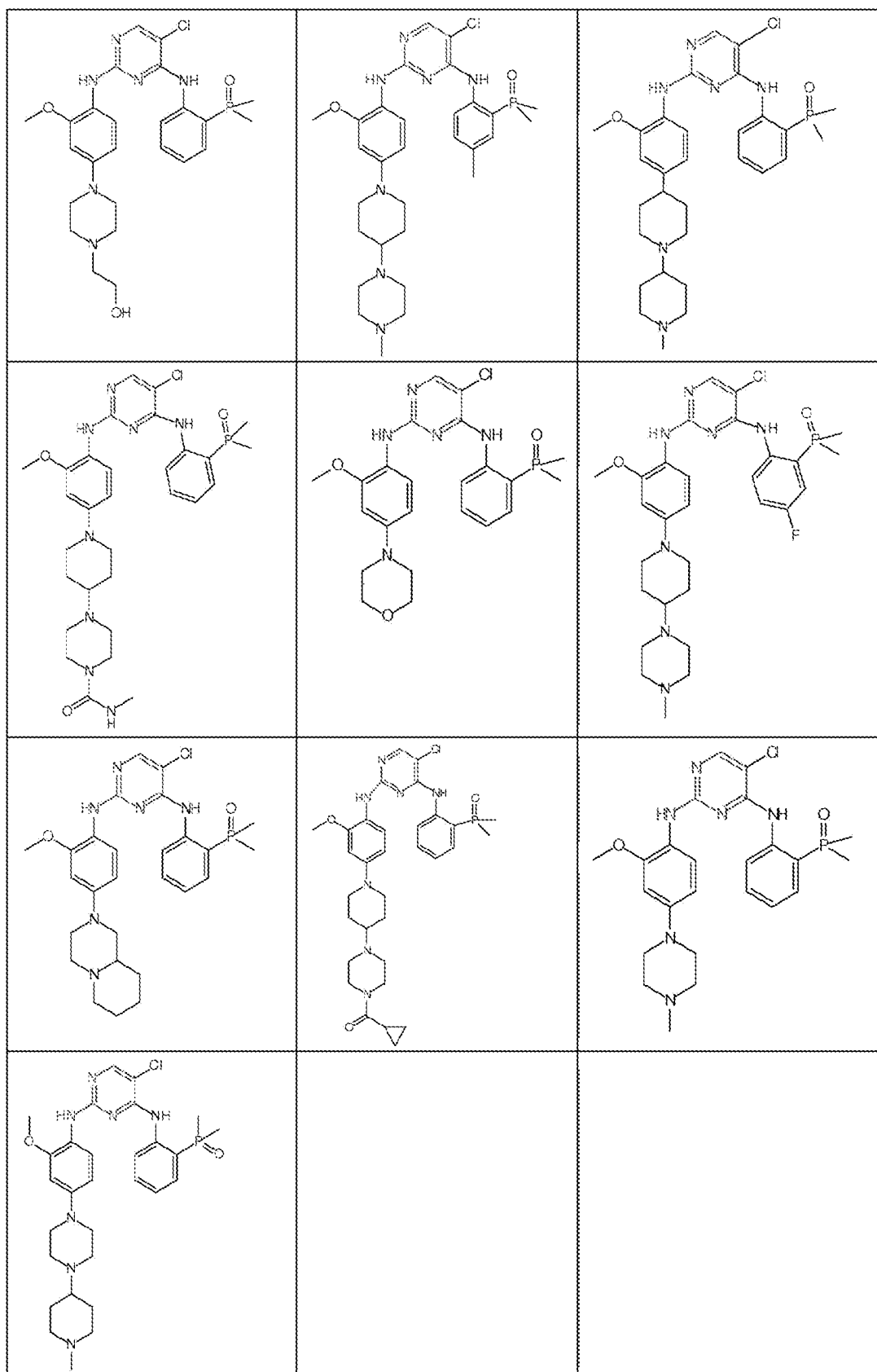


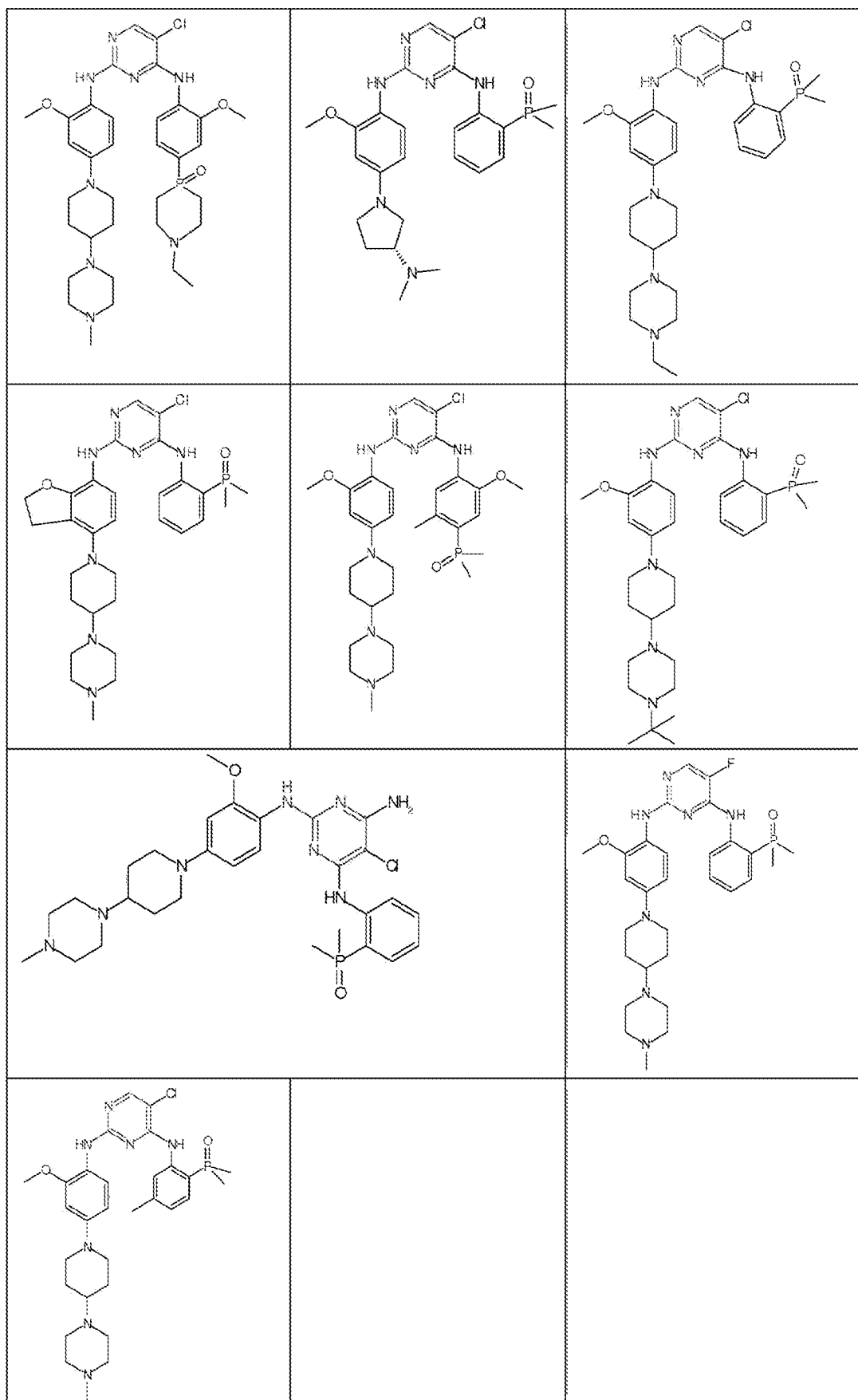
5

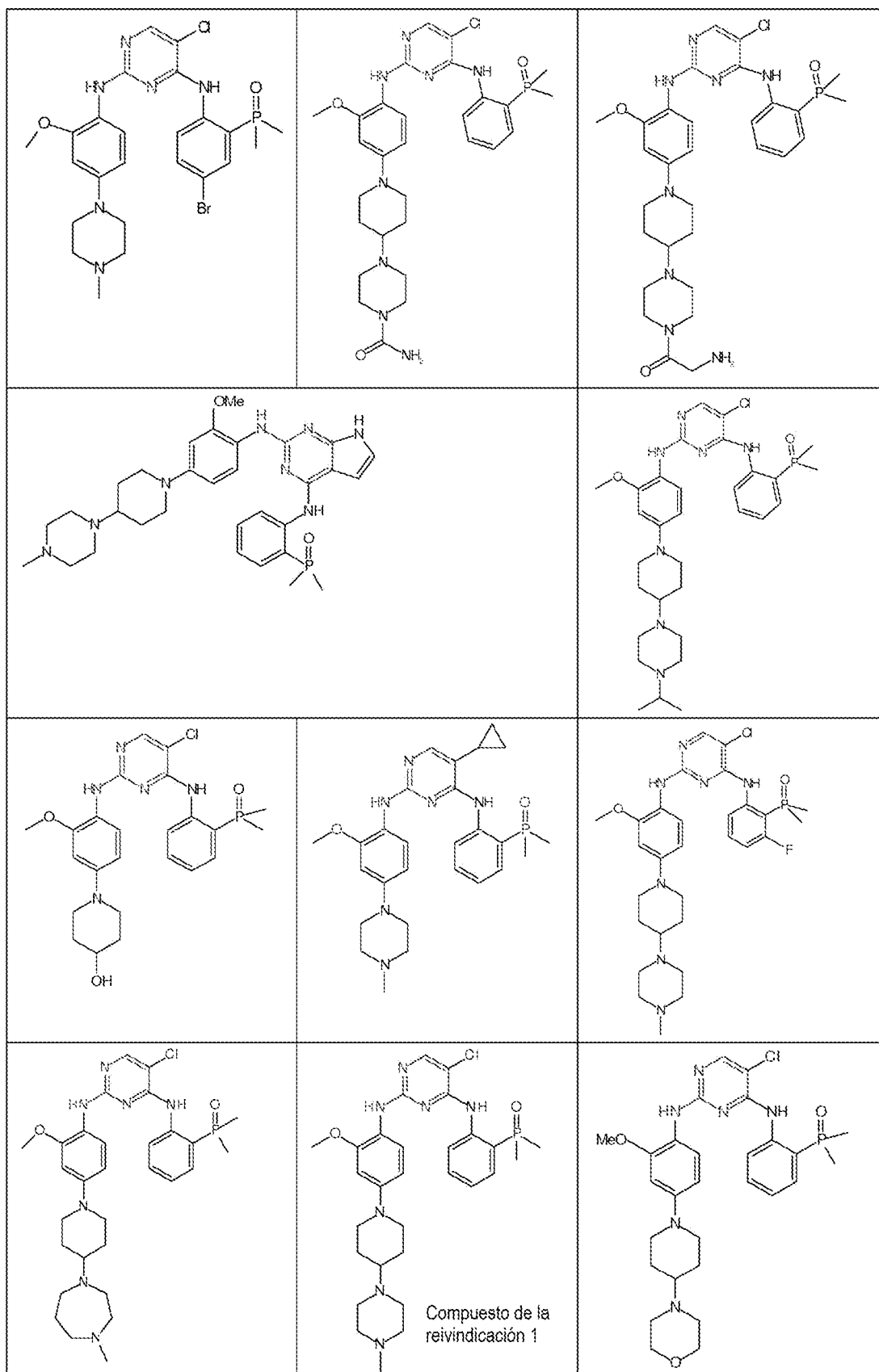
Los siguientes compuestos se sintetizaron y se ensayó la inhibición de quinasas de estos contra un panel de quinasas y algunos también se ensayaron en varias líneas celulares. Se descubrió que muchos de los compuestos eran activos en ensayos in vitro. Los compuestos no se reivindican a menos que se indique lo contrario.

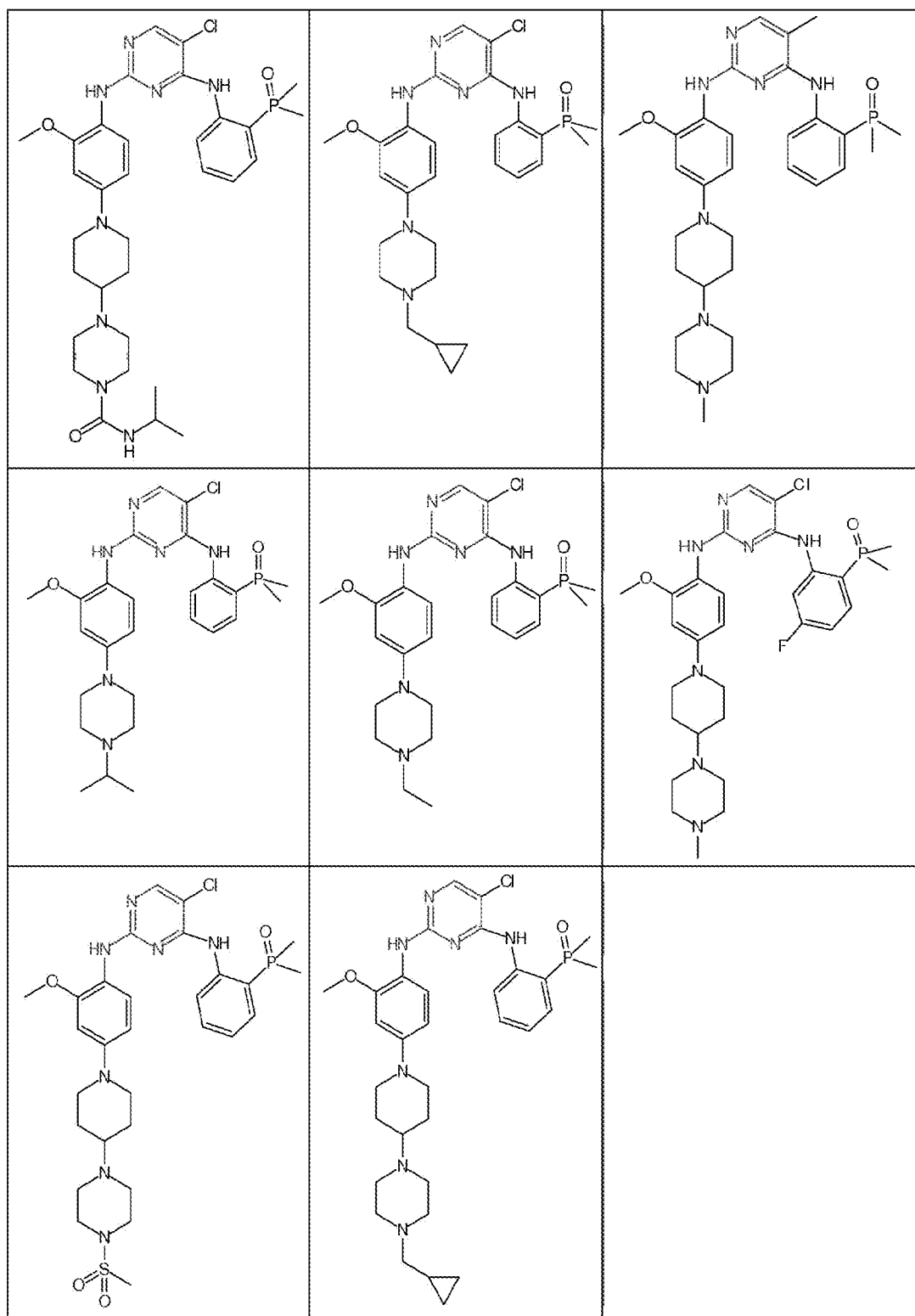
10

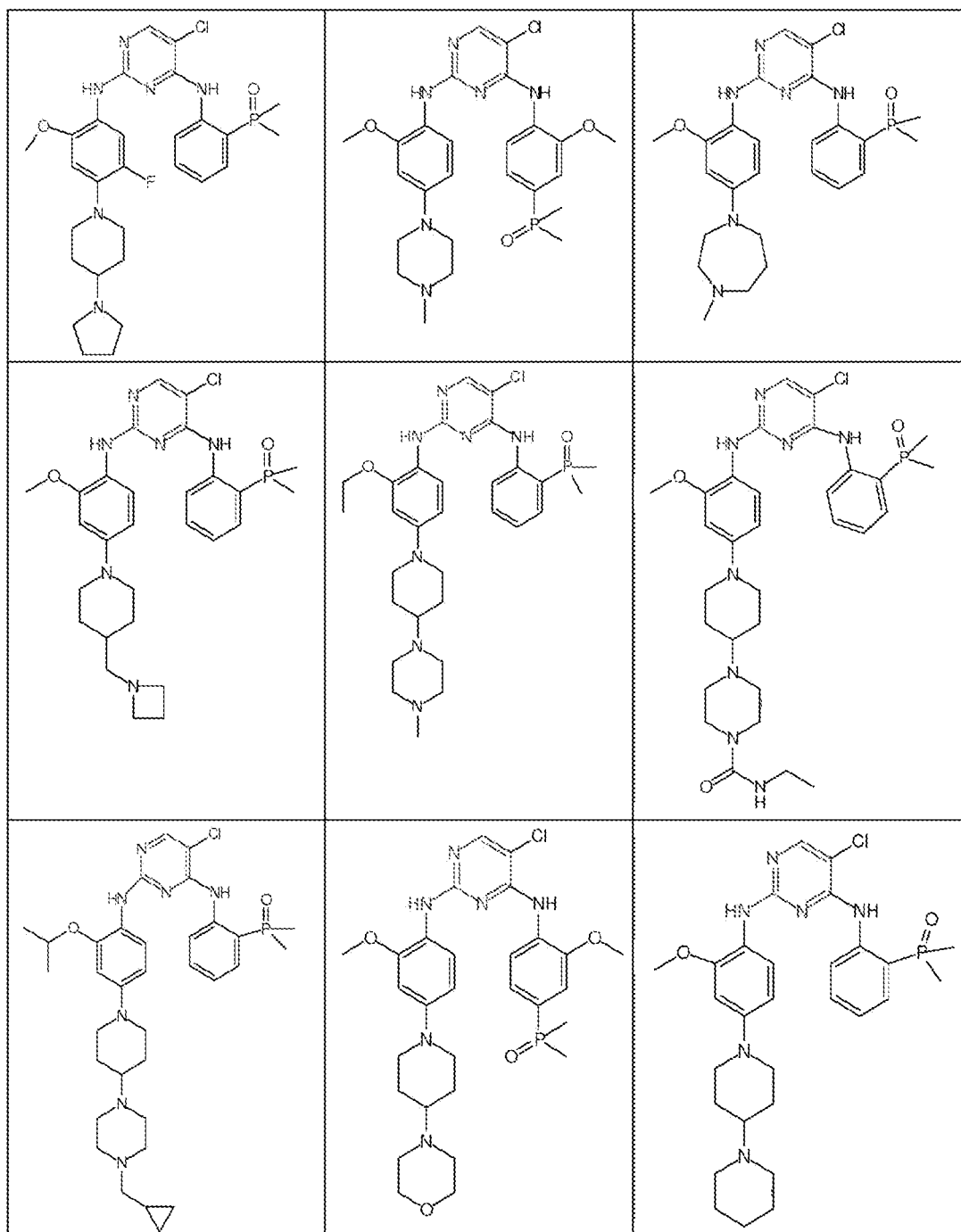


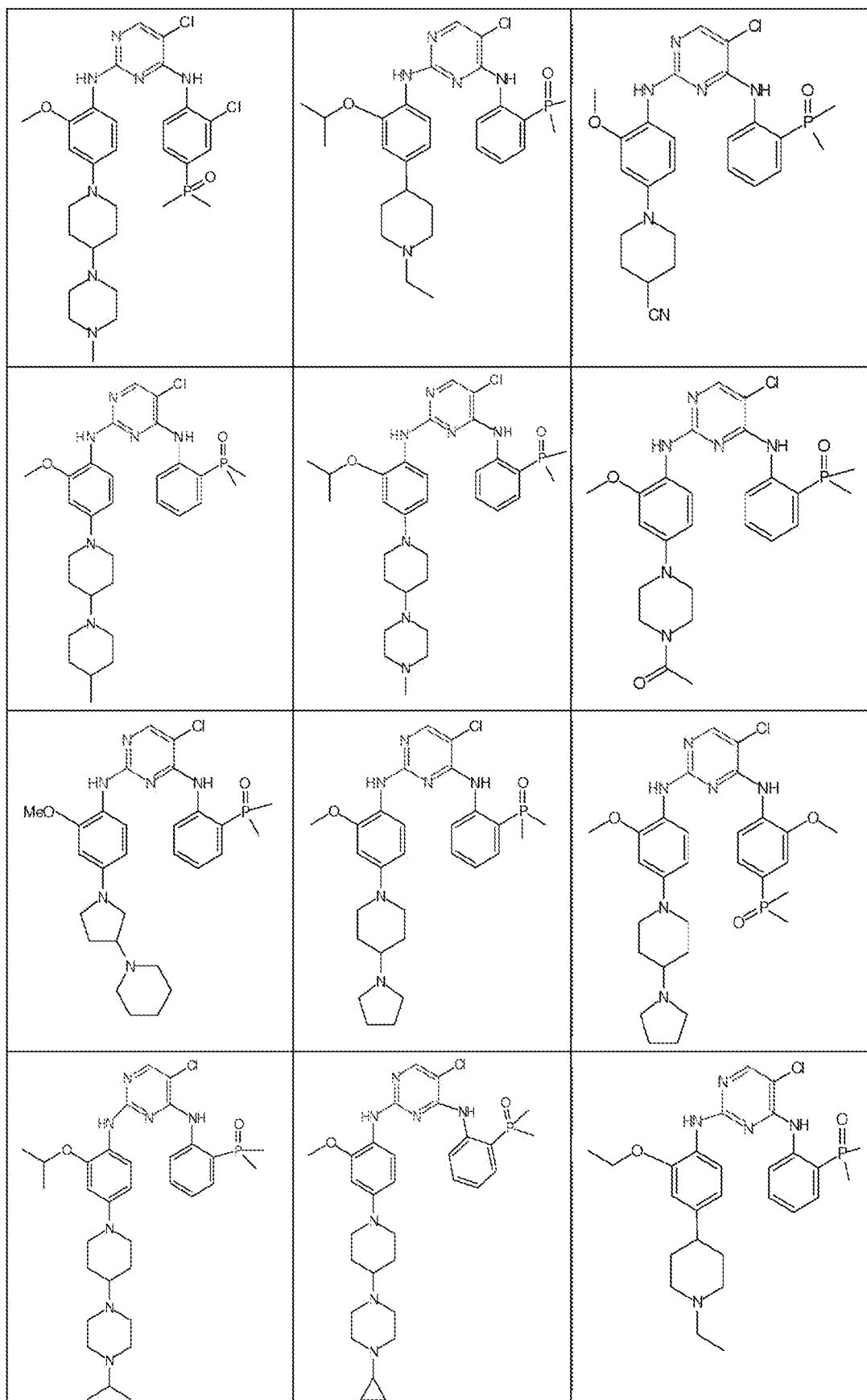


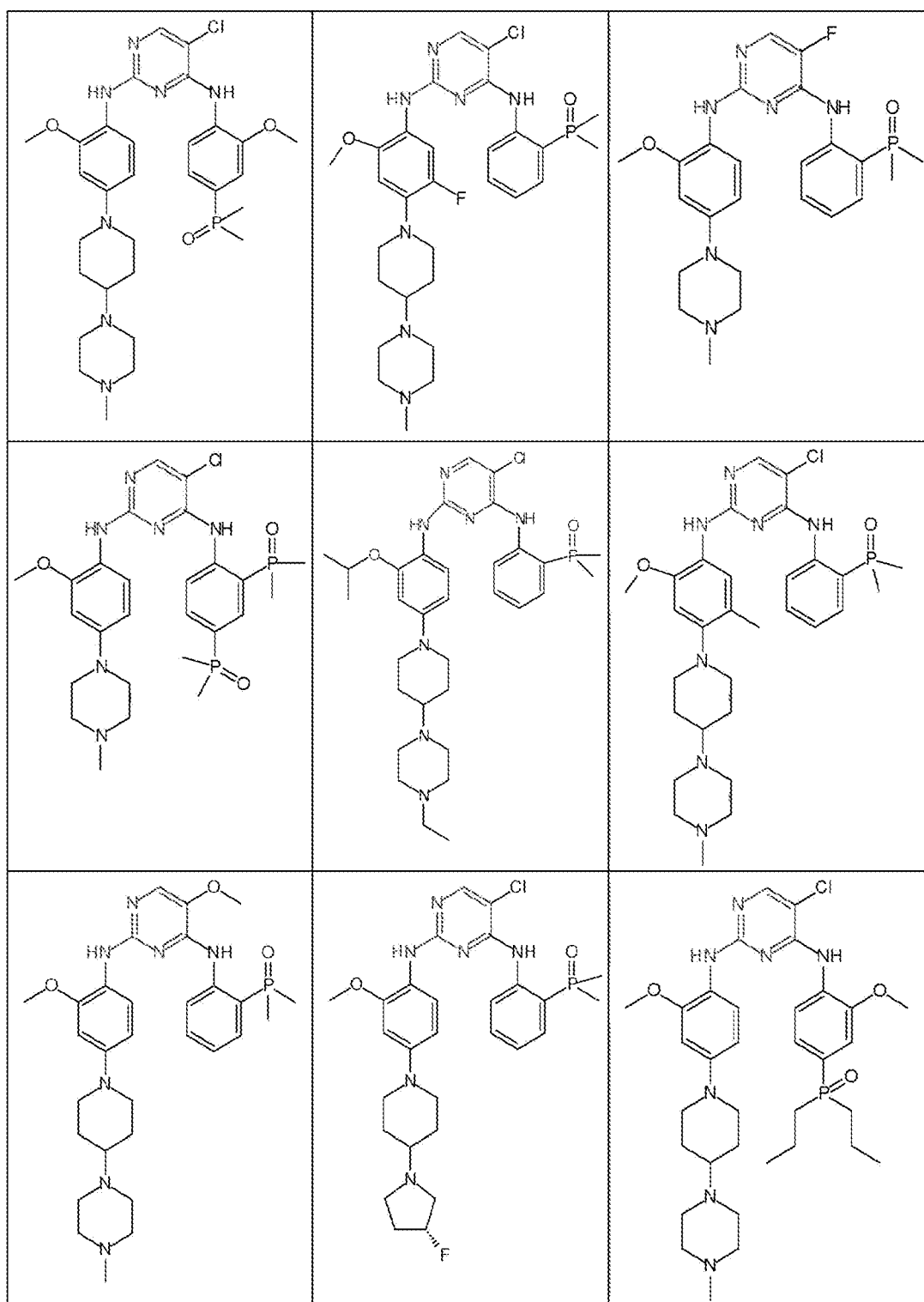


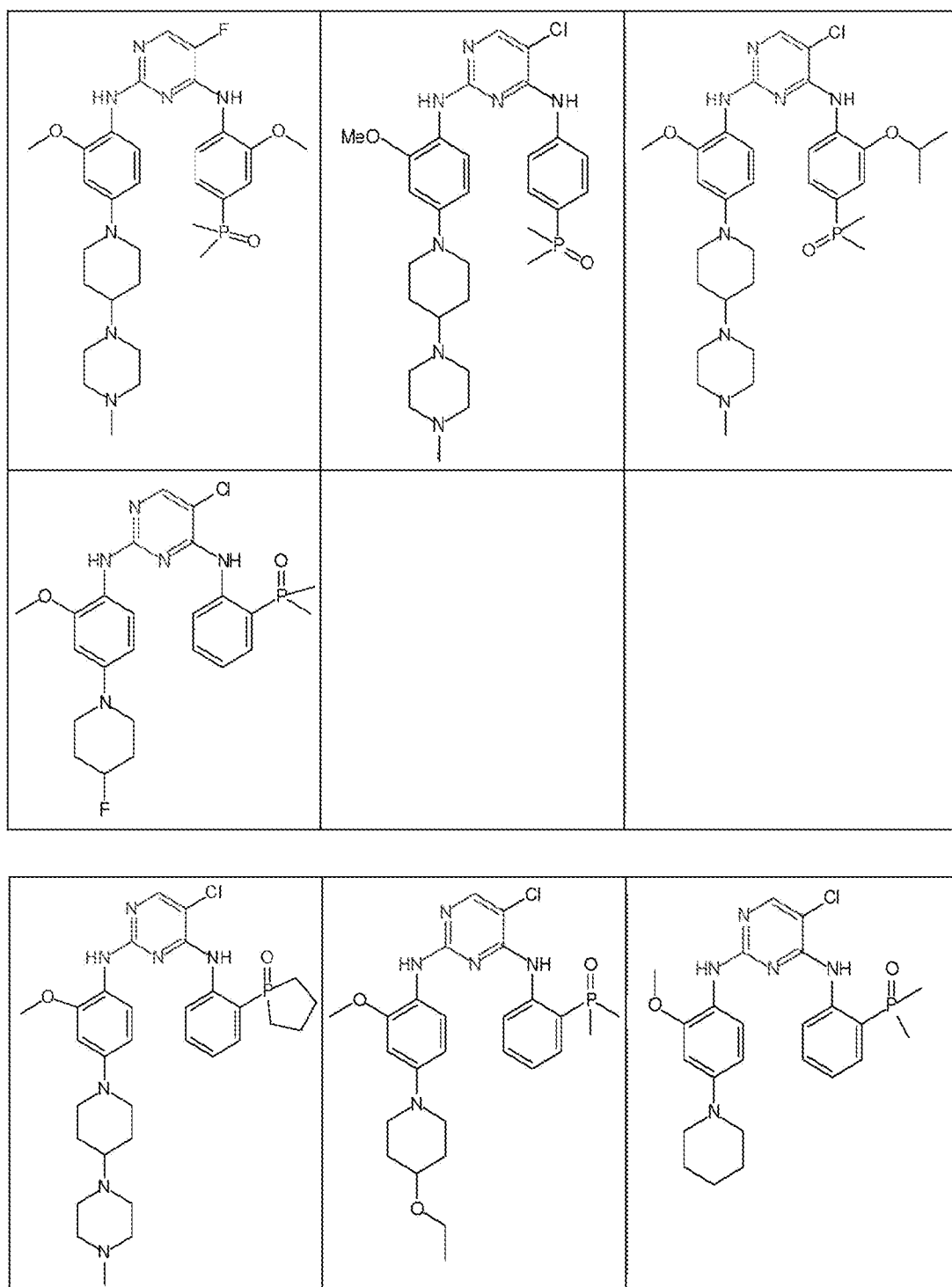


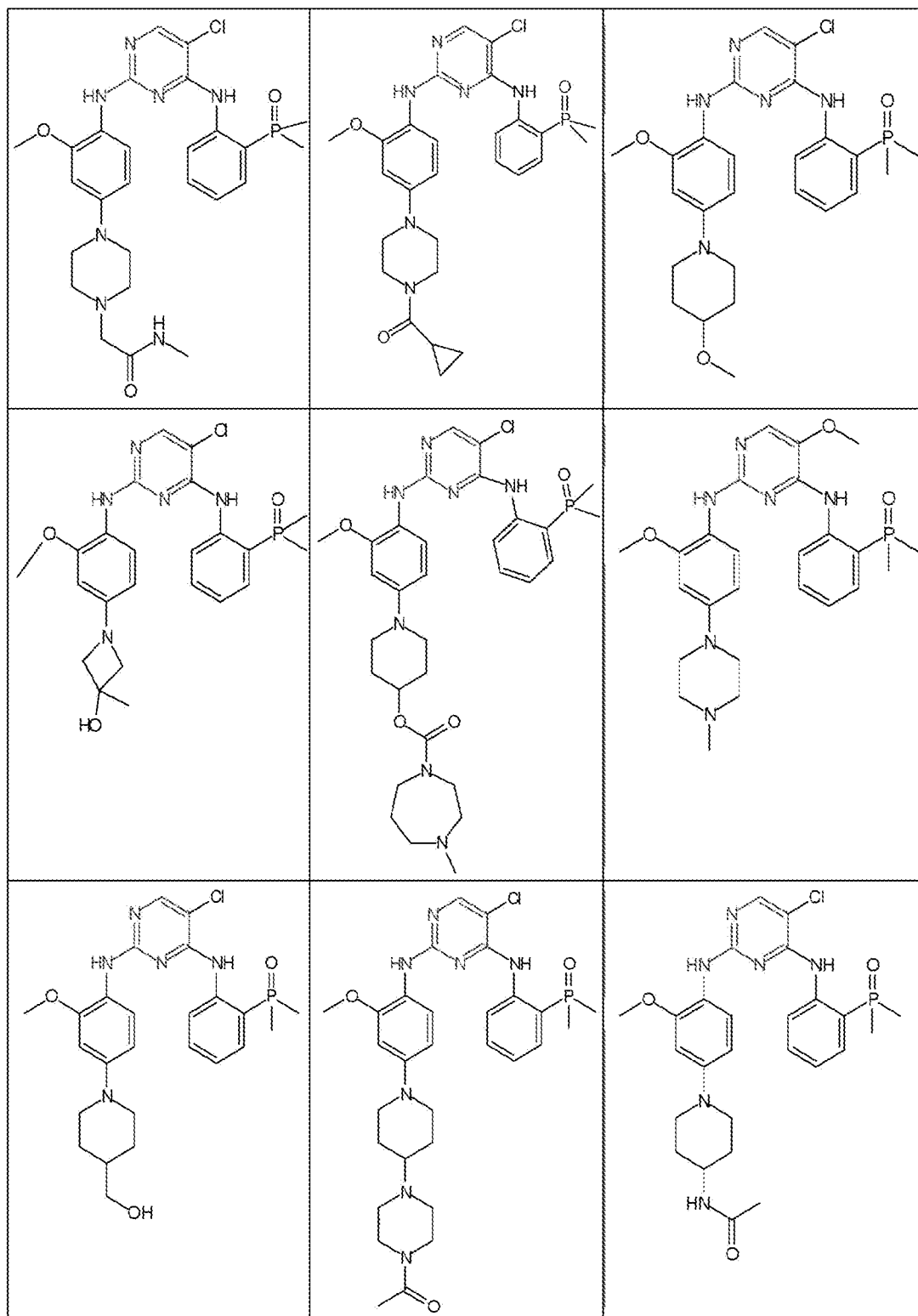


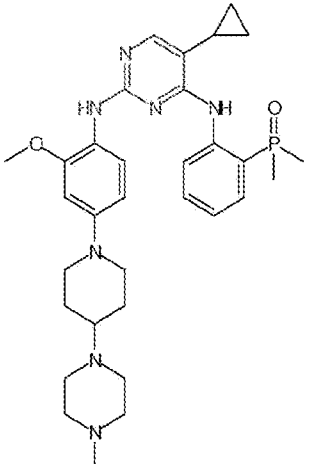
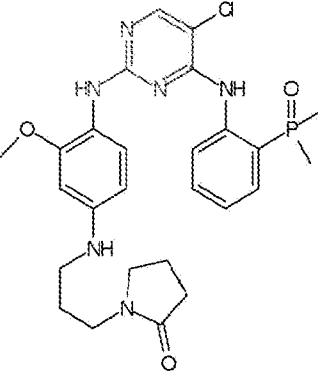
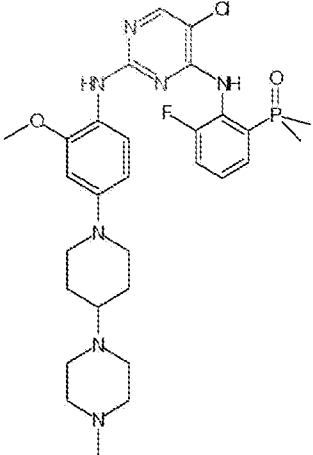
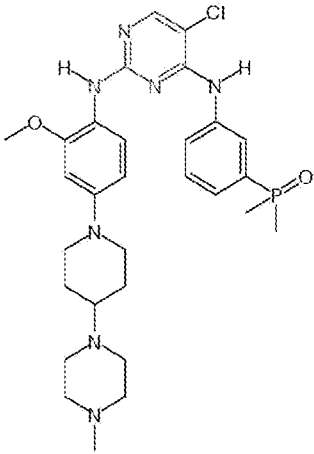
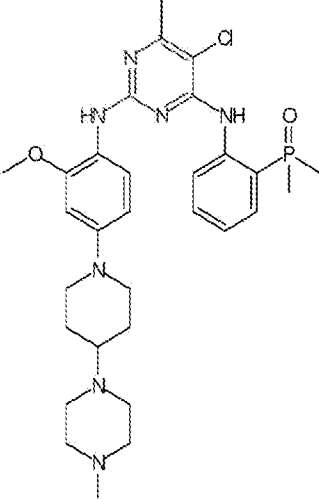


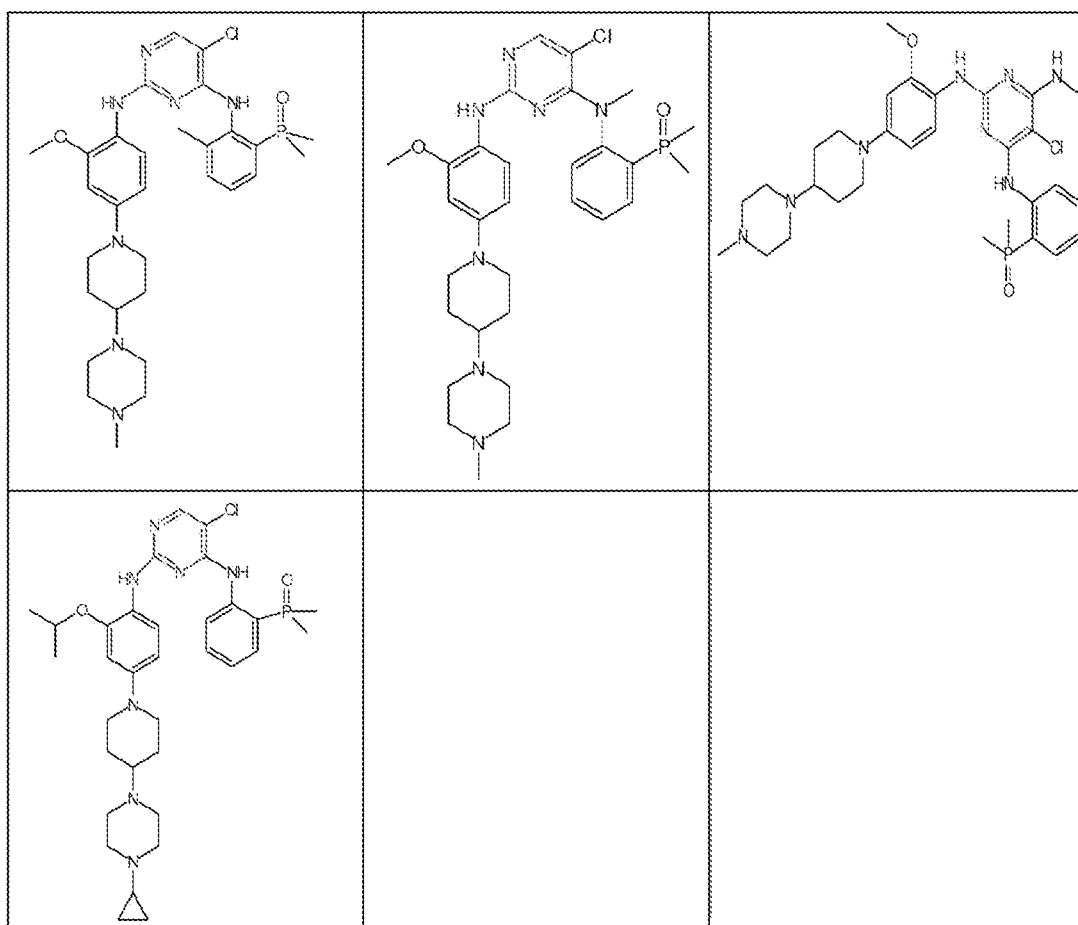










Inhibición de quinasa

- 5 Más específicamente, se determinó la actividad de inhibición de quinasa de los compuestos descritos en el presente documento de la siguiente manera. Las quinasas adecuadas para usar en el siguiente protocolo incluyen, pero no se limitan a: ALK, Jak2, b-Raf, c-Met, Tie-2, FLT3, Abl, Lck, Lyn, Src, Fyn, Syk, Zap-70, Itk, Tec, Btk, EGFR, ErbB2, Kdr, FLT1, Tek, InsR y AKT.
- 10 Las quinasas se expresan como dominios de quinasa o construcciones de longitud completa fusionadas a glutatión S-transferasa (GST) o proteínas de fusión marcadas con polihistidina en sistemas de expresión de *E. coli* o Baculovirus en High Five. Se purifican hasta casi homogeneidad por cromatografía de afinidad como se describió previamente (Lehr et al., 1996; Gish et al., 1995). En algunos casos, las quinasas se coexpresan o se mezclan con polipéptidos reguladores purificados o parcialmente purificados antes de medir la actividad.
- 15 La actividad e inhibición de quinasas se pueden medir mediante protocolos establecidos (véase, p. ej., Braunwalder et al., 1996). En dichos casos, la transferencia de $^{33}\text{PO}_4$ del ATP a los sustratos sintéticos poli(Glu, Tyr) 4:1 o poli(Arg, Ser) 3:1 unidos a la superficie bioactiva de las placas de microtitulación se toma como una medida de la actividad enzimática. Después de un período de incubación, se mide la cantidad de fosfato transferido lavando primero la placa con ácido fosfórico al 0,5%, añadiendo agente de centelleo líquido y luego contando en un detector de centelleo líquido. La IC_{50} se determina por la concentración de compuesto que produce una reducción de 50% en la cantidad de ^{33}P incorporado al sustrato unido a la placa.
- 20 También son útiles otros métodos que se basan en la transferencia de fosfato a un sustrato peptídico o polipeptídico que contiene tirosina, serina, treonina o histidina, solos, en combinación entre sí, o en combinación con otros aminoácidos, en solución o inmovilizados (es decir, en fase sólida).
- 25 Por ejemplo, la transferencia de fosfato a un péptido o polipéptido también se puede detectar utilizando centelleo por proximidad, polarización de fluorescencia y fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo.
- 30 Alternativamente, la actividad de quinasa se puede medir usando métodos basados en anticuerpos en los que se usa un anticuerpo o polipéptido como reactivo para detectar el polipéptido objetivo fosforilado.

Para obtener información básica adicional sobre dichas metodologías de ensayo, véase, p. ej., Braunwalder et

al., 1996, *Anal. Biochem.* 234(1):23; Cleaveland et al., 1990, *Anal. Biochem.* 190(2):249 Gish et al. (1995). *Protein Eng.* 8(6):609 Kolb et al. (1998). *Drug Discov. Toda V.* 3:333 Lehr et al. (1996). *Gene* 169(2):27527 - 87 Seethala et al. (1998). *Anal. Biochem.* 255(2):257 Wu et al. (2000).

- 5 La inhibición de la actividad de la tirosina quinasa ALK se puede demostrar usando métodos conocidos. Por ejemplo, en un método, se puede ensayar la capacidad de los compuestos para inhibir la actividad de quinasa de ALK expresada por baculovirus usando una modificación del protocolo de ELISA descrito para trkA en Angeles, T.S. et al., *Anal. Biochem.* 1996, 236, 49-55, que se incorpora en el presente documento por referencia. La fosforilación del sustrato, fosfolipasa C-gamma (PLC- γ) generada como una proteína de fusión con glutatión-S-transferasa (GST) como se describe en rotin, D. et al., *EMBO J.* 1992, 11, 559-567, que se incorpora por referencia, se puede detectar con un anticuerpo anti-fosfotirosina marcado con europio y medir por fluorescencia resuelta en el tiempo (TRF). En este ensayo, una placa de 96 pocillos se recubre con 100 μ l/pocillo de sustrato 10 μ g/ml (fosfolipasa C- γ en solución salina tamponada con tris (TBS). Luego, se añade a la placa de ensayo la mezcla de ensayo (volumen total = 100 μ l/pocillo) que consiste en HEPES 20 mM (pH 7,2, ATP 1 μ M (nivel K_m), $MnCl_2$ 5 mM, BSA al 0,1%, DMSO al 2,5% y varias concentraciones del compuesto de ensayo. La reacción se inicia añadiendo la enzima (ALK 30 ng/ml) y se deja continuar a 37 grados C durante 15 minutos. La detección del producto fosforilado se puede realizar añadiendo 100 μ l/pocillo de anticuerpo PT66 marcado con Eu-N1 (Perkim Elmer n.º AD0041). Luego continúa la incubación a 37 grados C durante una hora, seguida de la adición de 100 ml de solución de mejora (por ejemplo, Wallac n.º 1244-105). Se agita suavemente la placa y, después de treinta minutos, se puede medir la fluorescencia de la solución resultante (por ejemplo, usando el lector Multilabel Plate EnVision 2100 (o 2102) de Perkin Elmer).

Luego se puede realizar el análisis de datos. Los valores de IC_{50} se pueden calcular representando gráficamente el porcentaje de inhibición frente al \log_{10} de la concentración del compuesto.

- 25 La inhibición de la actividad de la tirosina quinasa ALK también se puede medir usando el dominio de quinasa recombinante de la ALK en analogía con el ensayo de quinasa VEDG-R descrito en J. Wood et al., *Cancer Res* 2000, 60, 2178-2189. Los ensayos enzimáticos in vitro que usan la proteína tirosina quinasa GST-ALK se pueden realizar en una placa de 96 pocillos como un ensayo de unión al filtro en Tris.HCl 20 mM, pH 7,5, $MgCl_2$ 3 mM, $MnCl_2$ 10 mM, DTT 1 mM, [γ - ^{33}P]-ATP 0,1 μ Ci/ensayo (=30 μ l), ATP 2 μ M, poli (Glu, tyr 4:1) Poly-EY (sigma P-0275) 3 μ g/ml, DMSO al 1%, 25 ng de enzima ALK. Los ensayos pueden incubarse durante 10 min a temperatura ambiente. Las reacciones se pueden finalizar añadiendo 50 μ l de EDTA 125 mM, y la mezcla de reacción se puede transferir a una placa MAIP Multiscreen (Millipore, Bedford, MA) previamente humedecida con metanol y rehidratada durante 5 minutos con agua. Después del lavado (H_3PO_4 al 0,5%), las placas se pueden contar en un contador de centelleo líquido. Los valores de IC_{50} se calculan mediante análisis de regresión lineal del porcentaje de inhibición.

Ensayos basados en células

- 40 Ciertos compuestos descritos en el presente documento también han demostrado efectos citotóxicos o inhibidores del crecimiento sobre tumores y otras líneas celulares cancerosas y, por lo tanto, pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer y otras enfermedades proliferativas celulares. Se ensaya la actividad antitumoral de los compuestos usando ensayos in vivo e in vitro que son bien conocidos por los expertos en la técnica. En general, los cribados iniciales de compuestos para identificar fármacos anticancerosos candidatos se realizan en ensayos celulares. Los compuestos que se identifica que tienen actividad antiproliferativa en dichos ensayos basados en células luego se pueden ensayar posteriormente en organismos completos para determinar su actividad antitumoral y toxicidad. En términos generales, los cribados basados en células se pueden realizar de manera más rápida y rentable respecto a los ensayos que usan organismos completos. Para los fines de la invención, los términos actividad "antitumoral" y "anticancerosa" se utilizan indistintamente.

- 50 Los métodos basados en células para medir la actividad antiproliferativa son bien conocidos y pueden utilizarse para la caracterización comparativa de compuestos. En general, los ensayos de proliferación celular y viabilidad celular están diseñados para proporcionar una señal detectable cuando las células están metabólicamente activas. Se puede ensayar en los compuestos la actividad antiproliferativa midiendo cualquier disminución observada en la actividad metabólica de las células después de la exposición de las células al compuesto. Los métodos comúnmente usados incluyen, por ejemplo, la medición de la integridad de la membrana (como medida de la viabilidad celular) (p. ej., usando exclusión de azul tripán) o la medición de la síntesis de ADN (p. ej., midiendo la incorporación de BrdU o 3H-timidina).

- 60 Algunos métodos para ensayar la proliferación celular usan un reactivo que se convierte en un compuesto detectable durante la proliferación celular. Los compuestos particularmente preferidos son sales de tetrazolio e incluyen, sin limitación, MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfopenil)-2H-tetrazolio), XTT (2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfopenil)-2H-tetrazolio-5-carboxanilida), INT, NBT y NTV (Bernas et al. *Biochim Biophys Acta* 1451(1):73-81, 1999). Los ensayos más comúnmente usados que utilizan sales de tetrazolio detectan la proliferación celular al detectar el producto de la conversión enzimática de las sales de tetrazolio en derivados

de formazán azul, que se detectan fácilmente mediante métodos espectroscópicos (Mosman. *J. Immunol. Methods*. 65:55-63, 1983).

Otros métodos para ensayar la proliferación celular implican la incubación de células en un medio de crecimiento deseado con y sin los compuestos que se van a ensayar. Las condiciones de crecimiento de diversas células procariotas y eucariotas son bien conocidas por los expertos en la técnica (Ausubel et al. *Current Protocols in Molecular Biology*. Wiley and Sons. 1999; Bonifacino et al. *Current Protocols in Cell Biology*. Wiley and Sons. 1999, ambos incorporados en el presente documento por referencia). Para detectar la proliferación celular, se añaden las sales de tetrazolio a las células cultivadas incubadas para permitir la conversión enzimática al producto detectable por las células activas. Se procesan las células y se determina la densidad óptica de las células para medir la cantidad de derivados de formazán. Además, existen kits disponibles comercialmente, que incluyen reactivos y protocolos, de, por ejemplo, Promega Corporation (Madison, WI), Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) y Trevigen (Gaithersburg, MD).

Además, se puede utilizar una amplia variedad de tipos de células para cribar la actividad antiproliferativa de los compuestos, incluyendo las siguientes líneas celulares, entre otras: COLO 205 (cáncer de colon), DLD-1 (cáncer de colon), HCT-15 (cáncer de colon), HT29 (cáncer de colon), HEP G2 (hepatoma), K-562 (leucemia), A549 (pulmón), NCI-H249 (pulmón), MCF7 (mama), MDA-MB-231 (mama), SAOS-2 (osteosarcoma), OVCAR-3 (ovario), PANC-1 (páncreas), DU-145 (próstata), PC-3 (próstata), ACHN (renal), CAKI-1 (renal), MG-63 (sarcoma).

Aunque la línea celular es preferiblemente de mamífero, también se pueden usar células eucariotas de orden inferior, tales como levaduras, para cribar compuestos. Las líneas celulares de mamíferos preferidas se derivan de seres humanos, ratas, ratones, conejos, monos, hámsteres y cobayas, ya que las líneas celulares de estos organismos están bien estudiadas y caracterizadas. Sin embargo, también se pueden usar otras.

Las líneas celulares de mamíferos adecuadas a menudo se derivan de tumores. Por ejemplo, los siguientes tipos de células tumorales pueden ser fuentes de células para el cultivo celular: melanoma, leucemia mieloide, carcinomas de pulmón, mama, ovarios, colon, riñón, próstata, páncreas y testículos), cardiomiocitos, células endoteliales, células epiteliales, linfocitos (células T y células B), mastocitos, eosinófilos, células íntimas vasculares, hepatocitos, leucocitos incluyendo leucocitos mononucleares, células madre tales como células madre hematopoyéticas, neurales, de piel, de pulmón, de riñón, de hígado y de miocitos (para usar en el cribado de factores de diferenciación y desdiferenciación), osteoclastos, condrocitos y otras células del tejido conectivo, queratinocitos, melanocitos, células del hígado, células del riñón y adipocitos. Los ejemplos no limitantes de líneas de células de mamíferos que han sido ampliamente usadas por los investigadores incluyen HeLa, NIH/3T3, HT1080, CHO, COS-1, 293T, WI-38 y CV1/EBNA-1.

Se pueden usar otros ensayos celulares que se basan en un gen indicador para detectar células metabólicamente activas. Los ejemplos no limitantes de sistemas de expresión de genes indicadores incluyen la proteína verde fluorescente (GFP) y la luciferasa. Como un ejemplo del uso de GFP para el cribado de posibles fármacos antitumorales, Sandman et al. (*Chem Biol.* 6:541-51; incorporado en el presente documento por referencia) usaron células HeLa que contenían una variante inducible de GFP para detectar compuestos que inhibían la expresión de GFP y, por lo tanto, inhibían la proliferación celular.

A continuación se muestra un ejemplo de ensayo basado en células. Las líneas celulares que se pueden usar en el ensayo son Ba/F3, una línea de células pro-B murinas, que se ha transfectado de forma estable con un vector de expresión pCIneo™ (Promega Corp., Madison WI) que codifica NPM-ALK y la posterior selección de células resistentes a G418. Las células Ba/F3 no transfectadas dependen de IL-3 para su supervivencia celular. Por el contrario, las células Ba/F3 que expresan NPM-ALK (denominadas Ba/F3-NPM-ALK) pueden proliferar en ausencia de IL-3 porque obtienen la señal proliferativa a través de la quinasa NPM-ALK. Por lo tanto, los supuestos inhibidores de la quinasa NPM-ALK anulan la señal de crecimiento y dan como resultado la actividad antiproliferativa. Sin embargo, la actividad antiproliferativa de los inhibidores de la quinasa NPM-ALK se puede superar mediante la adición de IL-3, que proporciona señales de crecimiento a través de un mecanismo independiente de NPM-ALK. Para un sistema celular análogo que usa la quinasa FLT3, véase E. Weisberg et al. *Cancer cell*, 2002, 1, 433-443. La actividad inhibidora de los compuestos de fórmula I se puede determinar como sigue: las células BaF3-NPM-ALK (15.000/pocillo de placa de microtitulación) se pueden transferir a una placa de microtitulación de 96 pocillos. Luego se añade el compuesto de ensayo (disuelto en DMSO) en una serie de concentraciones (serie de dilución) de tal manera que la concentración final de DMSO no sea mayor de 1% (v/v). Después de la adición, las placas se pueden incubar durante dos días, durante los cuales los cultivos de control sin compuesto de ensayo pueden experimentar dos ciclos de división celular. El crecimiento de células BaF3-NPM-ALK se puede medir mediante tinción con Yopro™ (T Idziorek et al., *J. Immunol. Methods* 1995, 185, 249-258). Se añaden 25 µl de tampón de lisis que consiste en citrato de sodio 20 mM, pH 4,0, cloruro de sodio 26,8 mM, NP40 al 0,4%, EDTA 20 mM y 20 mM a cada pocillo. La lisis celular se completa en 60 minutos a temperatura ambiente y la cantidad total de Yopro unido al ADN se determina por medición usando, por ejemplo, un lector CytoFluor II de 96 pocillos (PerSeptive Biosystems). La IC₅₀ se puede determinar mediante un sistema asistido por ordenador usando la fórmula:

$$IC_{50} = [(ABS_{\text{ensayo}} - ABS_{\text{inicial}}) / (ABS_{\text{control}} - ABS_{\text{inicial}})] \times 100$$

5 en la que ABS es absorción. El valor de IC_{50} en un experimento de este tipo se da como la concentración del compuesto de ensayo en cuestión que da como resultado un recuento de células que es 50% inferior al obtenido usando el control sin inhibidor.

La acción antiproliferativa de los compuestos también se puede determinar en la línea celular de linfoma humano KARPAS-299 por medio de una inmunotransferencia como se describe en WG Dirks et al. *Int. J. Cancer* 2002, 100, 49-56., utilizando la metodología descrita anteriormente para la línea celular BaF3-NPM-ALK.

En otro ejemplo, la actividad antiproliferativa se puede determinar usando la línea celular de linfoma KARPAS-299 en el siguiente procedimiento: Los compuestos descritos en el presente documento se incubaron con las células durante 3 días y el número de células viables en cada pocillo se midió indirectamente usando un ensayo de tetrazolio MTS (Promega). Este ensayo es un método colorimétrico para determinar el número de células viables mediante la medición de su actividad metabólica. Por ejemplo, la detección del producto de la conversión enzimática de sales de tetrazolio en derivados de formazán azul se logra midiendo la absorbancia a 490 nm usando un lector de placas. Se añadieron 40 µl del reactivo MTS a todos los pocillos excepto a los pocillos del borde y luego las placas se devolvieron a la incubadora a 37°C durante 2 horas. Luego se midió la absorbancia en cada pocillo a 490 nm usando un lector de placas Wallac Victor²V. La IC_{50} se calculó determinando la concentración del compuesto necesaria para disminuir la señal de MTS en 50% en las curvas de mejor ajuste usando el software de Microsoft XLfit, comparándolo con el valor inicial, el control de DMSO, como 0% de inhibición.

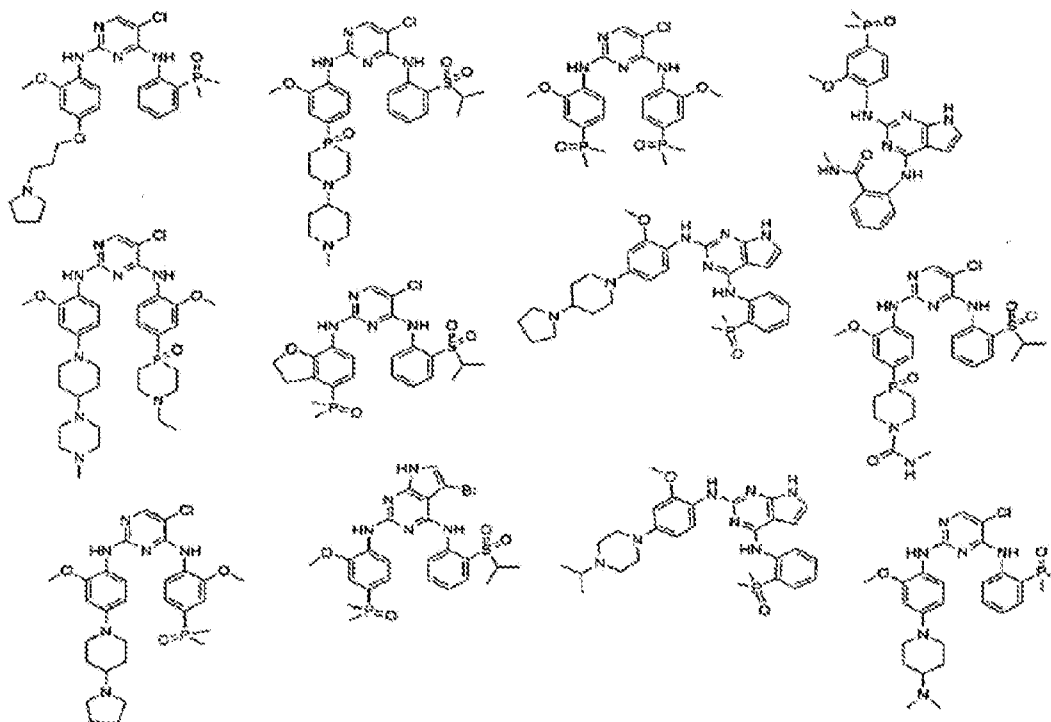
Los compuestos que se identifica mediante dichos ensayos celulares que tienen actividad de antiproliferación celular se ensayan luego para determinar su actividad antitumoral en organismos completos. Preferiblemente, los organismos son mamíferos. Los sistemas de mamíferos bien caracterizados para estudiar el cáncer incluyen roedores tales como ratas y ratones. Normalmente, se trasplanta un tumor de interés a un ratón que tiene una capacidad reducida para generar una respuesta inmunitaria contra el tumor para reducir la probabilidad de rechazo. Dichos ratones incluyen, por ejemplo, ratones sin sistema inmunitario (atímicos) y ratones SCID (inmunodeficiencia combinada grave). Se pueden usar en los presentes ensayos otros ratones transgénicos, tales como ratones que contienen oncogenes (véase, por ejemplo, documentos USP 4,736,866 y USP 5,175,383). Para una revisión y discusión sobre el uso de modelos de roedores para el ensayo de fármacos antitumorales, véase Kerbel (*Cancer Metastasis Rev.* 17:301-304, 1998-99).

En general, los tumores de interés se implantan en un organismo de ensayo preferiblemente por vía subcutánea. El organismo que contiene el tumor se trata con dosis de compuestos antitumorales candidatos. Se mide periódicamente el tamaño del tumor para determinar los efectos del compuesto de ensayo en el tumor. Algunos tipos de tumores se implantan en sitios distintos a los subcutáneos (p. ej., sitios intraperitoneales) y la supervivencia se mide como punto final. Los parámetros que deben evaluarse con los cribados rutinarios incluyen diferentes modelos de tumores, diversas rutas de tumores y fármacos, y cantidades y pautas de dosis. Para una revisión del uso de ratones en la detección de compuestos antitumorales, véase Corbett et al. (*Invest New Drugs.* 15:207-218, 1997; incorporado en el presente documento por referencia).

45 Resultados

Se descubrió que una amplia variedad de compuestos descritos en el presente documento inhiben de forma potente una serie de objetivos quinasas importantes. Muchos presentaban IC_{50} por debajo de 100 nM, y en muchos casos por debajo de 10 nM y en algunos casos por debajo de 1 nM cuando se ensayaron como inhibidores de la quinasa, ALK, por ejemplo. Estos incluyen compuestos que contienen el resto de óxido de fosfina como sustituyente R^a o R^e . Algunos compuestos eran inhibidores nanomolares de un solo dígito de un panel de quinasas que incluían quinasas como ALK, FER, FLT3, FES/FPS, FAK/PTK2, BRK y otras. Se descubrió que los compuestos descritos en el presente documento de diversas estructuras presentan preferencias para inhibir algunas quinasas frente a otras, así como variaciones en los perfiles farmacocinéticos, lo que confirma que esta clase de compuestos es de gran interés como fuente de potenciales agentes farmacéuticos.

Para ilustrar lo anterior, se ensayó un grupo variado de compuestos (mostrados a continuación, no reivindicados) y se encontró que tenían valores de IC_{50} inferiores a 1 nM cuando se ensayaron contra la quinasa ALK.



Ejemplo 4: Composiciones farmacéuticas

- 5 Se proporcionan formas farmacéuticas representativas del compuesto de la invención (el principio activo se denomina "Compuesto"), para uso terapéutico o profiláctico en seres humanos:

(a) Comprimido I	mg/comprimido
Compuesto	100
Lactosa Ph.Eur	182,75
Croscarmelosa sódica	12,0
Pasta de almidón de maíz (5% p/v de pasta)	2,25
Estearato de magnesio	3,0

(b) Comprimido II	mg/comprimido
Compuesto	50
Lactosa Ph.Eur	223,75
Croscarmelosa sódica	6,0
Almidón de maíz	15,0
Polivinilpirrolidona (5% p/v de pasta)	2,25
Estearato de magnesio	3,0

(c) Comprimido III	mg/comprimido
Compuesto	1,0
Lactosa Ph.Eur	93,25
Croscarmelosa sódica	4,0
Pasta de almidón de maíz (5% p/v de pasta)	0,75
Estearato de magnesio	1,0 - 76

(d) Cápsula	mg/cápsula
Compuesto	10
Lactosa Ph.Eur	488,5
Magnesio	1,5

(e) Inyección I	(50 mg/ml)
Compuesto	5,0% p/v
Solución de hidróxido de sodio 1 M	15,0% v/v
Ácido clorhídrico 0,1 M (para ajustar el pH a 7,6)	
Polietilenglicol 400	4,5% p/v
Agua para inyección hasta 100%	

(f) Inyección II	(10 mg/ml)
Compuesto	1,0% p/v
Fosfato de sodio BP	3,6% p/v
Solución de hidróxido de sodio 0,1 M	15,0% v/v
Agua para inyección hasta 100%	

(g) Inyección III	(1 mg/ml, tamponado a pH 6)
Compuesto	0,1% p/v
Fosfato de sodio BP	2,26% p/v
Ácido cítrico	0,38% p/v
Polietilenglicol 400	3,5% p/v
Agua para inyección hasta 100%	

(h) Pulverizador I	mg/ml
Compuesto	10,0
Trioleato de sorbitán	13,5
Triclorofluorometano	910,0
Diclorodifluorometano	490,0

(i) Pulverizador II	mg/ml
Compuesto	0,2
Trioleato de sorbitán	0,27
Triclorofluorometano	70,0
Diclorodifluorometano	280,0
Diclorotetrafluoroetano	1094,0

(j) Pulverizador III	mg/ml
Compuesto	2,5
Trioleato de sorbitán	3,38
Triclorofluorometano	67,5
Diclorodifluorometano	1086,0
Diclorotetrafluoroetano	191,6

(k) Pulverizador IV	mg/ml
Compuesto	2,5
Lecitina de soja	2,7
Triclorofluorometano	67,5
Diclorodifluorometano	1086,0
Diclorotetrafluoroetano	191,6

(1) Pomada	/ml
Compuesto	40 mg
Etanol	300 µl
Agua	300 µl
1-Dodecilazacicloheptanona	50 µl
Propilenglicol	hasta 1 ml

5

Estas formulaciones pueden prepararse utilizando procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica farmacéutica. Los comprimidos (a)-(c) pueden recubrirse entéricamente por medios convencionales, si se desea proporcionar un recubrimiento de acetato ftalato de celulosa, por ejemplo. Las formulaciones en pulverizador (h)-(k) se pueden usar junto con dispensadores de pulverización de dosis medidas estándar, y los agentes de suspensión trioleato de sorbitán y lecitina de soja se pueden reemplazar por un agente de suspensión alternativo tal como monooleato de sorbitán, sesquioleato de sorbitán, polisorbato 80, oleato de poliglicerol o ácido oleico.

15

Otras realizaciones

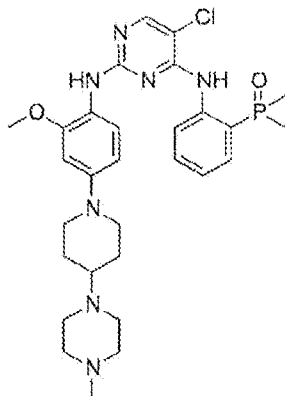
Aunque la invención se ha descrito en relación con realizaciones específicas de la misma, se entenderá que son posibles modificaciones adicionales y esta solicitud pretende cubrir cualquier variación, uso o adaptación de la invención siguiendo, en general, los principios de la invención e incluyendo dichas desviaciones de la presente descripción que se encuentren dentro de la práctica conocida o habitual dentro de la técnica a la que pertenece la invención y puedan aplicarse a las características esenciales establecidas anteriormente en el presente documento, y se ajusten al alcance de las reivindicaciones.

25

Otras realizaciones están dentro de las reivindicaciones.

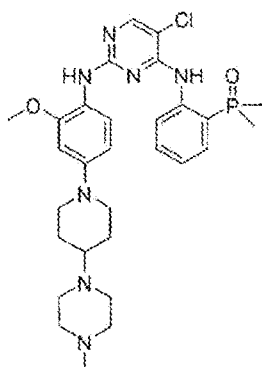
REIVINDICACIONES

- 5 1. Un compuesto de la fórmula:

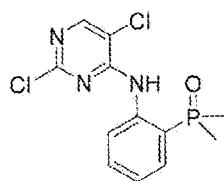


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

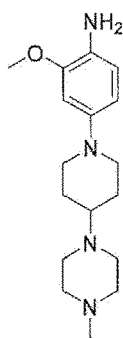
- 10 2. Una composición farmacéutica que contiene un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
3. Un compuesto de la reivindicación 1 o una composición farmacéutica de la reivindicación 2, para usar en el
- 15 tratamiento del cáncer.
4. Un compuesto de la reivindicación 1 o una composición farmacéutica de la reivindicación 2, para usar en el tratamiento del cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), tumores neurales, carcinomas esofágicos, cánceres de tejidos blandos, linfoma y/o leucemia.
- 20 5. Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 1.
6. Un método para preparar el compuesto



- 25 en donde el método comprende hacer reaccionar el compuesto

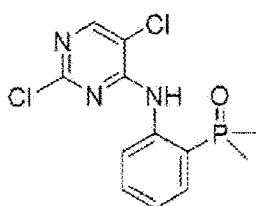


- 30 con el compuesto



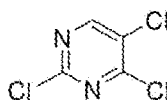
en presencia de HCl, etanol y $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$.

- 5 7. El método de la reivindicación 6, en donde el compuesto

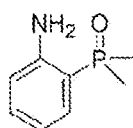


se forma por un método que comprende hacer reaccionar el compuesto

10



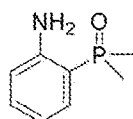
con el compuesto



15

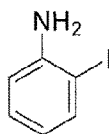
en presencia de K_2CO_3 .

- 20 8. El método de la reivindicación 7, en donde el compuesto



se forma por un método que comprende hacer reaccionar el compuesto

25



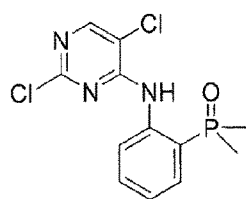
con el compuesto



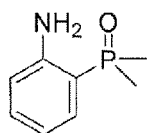
30

en presencia de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, xantphos y K_3PO_4 .

9. El compuesto



10. El compuesto



5