(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 309 207**

(51) Int. Cl.:
C07D 405/04 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
A61K 31/4409 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **02777001 .5**
(96) Fecha de presentación : **05.09.2002**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1423383**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **02.06.2004**

(54) Título: **Derivados furánicos sustituidos con piridina como inhibidores de quinasa Raf.**

(30) Prioridad: **05.09.2001 GB 0121493**
05.09.2002 GB 0121485

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.12.2008

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.12.2008

(73) Titular/es: **SMITHKLINE BEECHAM plc.**
980 Great West Road
Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB

(72) Inventor/es: **Takle, Andrew Kenneth;**
Wilson, David Matthew y
Dean, David Kenneth

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

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

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Derivados furánicos sustituidos con piridina como inhibidores de quinasa RAF.

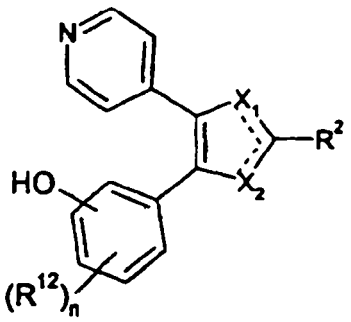
Esta invención se refiere a nuevos compuestos y a su uso como agentes farmacéuticos, particularmente como agentes inhibidores de quinasas Raf para el tratamiento de enfermedades neurotraumáticas, cáncer, neurodegeneración crónica, dolor, migraña e hipertrofia cardiaca.

Las proteínas quinasas Raf son componentes clave de rutas de transducción de señales por medio de las cuales ciertos estímulos extracelulares específicos inducen respuestas celulares precisas en células de mamíferos. Algunos receptores de la superficie celular activados activan proteínas ras/rap en el aspecto interno de la membrana plasmática que, a su vez, reclutan y activan proteínas Raf. Las proteínas Raf activadas fosforilan y activan las proteínas quinasas MEK1 y MEK2 intracelulares. A su vez, las MEK activadas catalizan la fosforilación y activación de la proteína quinasa activada por el mitógeno (MAPK) p42/p44. Se conocen diversos sustratos citoplasmáticos y nucleares de la MAPK activada que contribuyen directa o indirectamente a la respuesta celular a un cambio medioambiental. Se han identificado en mamíferos tres genes distintos que codifican proteínas Raf; A-Raf, B-Raf y C-Raf (también conocido como Raf-1) y se conocen variantes isofórmicas que resultan del ajuste diferencial del mRNA.

Se han sugerido inhibidores de las quinasas Raf para uso en la interrupción del crecimiento de células cancerosas y, por lo tanto, en el tratamiento de cánceres, por ejemplo, linfoma histiocítico, adenocarcinoma de pulmón, cáncer microcítico de pulmón y carcinoma pancreático y de mama; también en el tratamiento y/o profilaxis de trastornos asociados con la degeneración neuronal debida a sucesos isquémicos, incluyendo la isquemia cerebral después de un paro cardiaco, la apoplejía y la demencia multi-infarto, y también de trastornos que aparecen después de sucesos isquémicos cerebrales tales como los debidos a una lesión craneal, una operación quirúrgica y/o que se producen durante el parto; también en el tratamiento de la neurodegeneración crónica tal como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson; y también en el tratamiento del dolor, migraña e hipertrofia cardiaca. Por el documento WO 01/38324 se conocen agentes inhibidores de quinasas Raf.

Ahora se ha descubierto un grupo de nuevos compuestos que son agentes inhibidores de quinasas Raf, en particular agentes inhibidores de la quinasa B-Raf. Los presentes inventores también han encontrado un grupo de compuestos que tienen actividad frente a la quinasa B-Raf.

Los compuestos de la invención son de fórmula (II);



(II)

en la que:

uno de X_1 y X_2 se selecciona de un átomo de O, y el otro es un grupo CH;

cada R^{12} se selecciona independientemente de un resto halo, un grupo hidroxi, un grupo alquilo de C_{1-6}, un grupo alcoxi de C_{1-6};

n es 0, 1 ó 2; y

R^2 es un grupo alquilo de C_{1-6} opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados del grupo que consiste en un grupo arilo, un grupo heteroarilo, un grupo heterociclilo, un grupo alcoxi de C_{1-6}, un grupo alquilo de C_{1-6}-tio, un grupo arilo-alcoxi de C_{1-6}, un grupo aril-alquilo de C_{1-6}-tio, un grupo amino, un grupo mono o dialquilo de C_{1-6}-amino, un grupo cicloalquilo, un grupo cicloalquenilo, un grupo carboxi y sus ésteres, un grupo amida, un grupo sulfonamido, un grupo ureido, un grupo guanidino, un grupo alquilo de C_{1-6}-guanidino, un grupo amidino, un grupo alquilo de C_{1-6}-amidino, un grupo aciloxi de C_{1-6}, un grupo azido, un grupo hidroxi, un grupo hidroxiimino y un átomo de halógeno; o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Preferiblemente, R^{12} es un resto halo, más preferiblemente un átomo de cloro.

Preferiblemente, n es 1.

Cuando se usa en la presente memoria, el doble enlace indicado por las líneas a trazos de la fórmula (II) representa las posibles formas regioisómeras del anillo de los compuestos que caen dentro del alcance de esta invención, estando el doble enlace entre los no heteroátomos.

Los grupos alquilo y alquenilo a los que se refiere la presente memoria, individualmente o como parte de grupos mayores, por ejemplo un grupo alcoxi, pueden ser grupos lineales o ramificados que contienen hasta seis átomos de carbono y están opcionalmente sustituidos por uno o más grupos seleccionados del grupo que consiste en un grupo arilo, un grupo heteroarilo, un grupo heterociclilo, un grupo alcoxi de C_{1-6}, un grupo alquilo de C_{1-6}-tio, un grupo aril-alcoxi de C_{1-6}, un grupo aril-alquilo de C_{1-6}-tio, un grupo amino, un grupo mono o dialquilo de C_{1-6}-amino, un grupo cicloalquilo, un grupo cicloalquenilo, un grupo carboxi y sus ésteres, un grupo amida, un grupo sulfonamido, un grupo ureido, un grupo guanidino, un grupo alquilo de C_{1-6}-guanidino, un grupo amidino, un grupo alquilo de C_{1-6}-amidino, un grupo aciloxi de C_{1-6}, un grupo azido, un grupo hidroxi, un grupo hidroxi-imino y un átomo de halógeno.

Los grupos cicloalquilo y cicloalquenilo referidos en la presente memoria incluyen grupos que tienen de tres a siete átomos de carbono del anillo y están opcionalmente sustituidos como se describe anteriormente en la presente memoria para los grupos alquilo y alquenilo.

Cuando se usa en la presente memoria, el término "arilo" incluye, a menos que se defina de otra manera, anillos únicos y condensados que convenientemente contienen de 4 a 7, preferiblemente 5 ó 6, átomos en el anillo en cada anillo, anillos que pueden estar sin sustituir o sustituidos por, por ejemplo, hasta tres sustituyentes.

Los grupos arilo adecuados incluyen fenilo y naftilo tales como 1-naftilo ó 2-naftilo.

Los sustituyentes opcionales para los grupos alquilo, alquenilo, cicloalquilo cicloalquenilo incluyen un grupo arilo, un grupo heteroarilo, un grupo heterociclilo, un grupo alcoxi de C_{1-6}, un grupo alquilo de C_{1-6}-tio, un grupo aril-alcoxi de C_{1-6}, un grupo aril-alquilo de C_{1-6}-tio, un grupo amino, un grupo mono o dialquilo de C_{1-6}-amino, un grupo aminosulfonilo, un grupo cicloalquilo, un grupo cicloalquenilo, un grupo carboxi y sus ésteres, un grupo amida, un grupo ureido, un grupo guanidino, un grupo alquilo de C_{1-6}-guanidino, un grupo amidino, un grupo alquilo de C_{1-6}-amidino, un grupo aciloxi de C_{1-6}, un grupo hidroxi, un grupo ciano y un átomo de halógeno o cualquiera de sus combinaciones. Preferiblemente, los sustituyentes son un grupo mono o dialquilo de C_{1-6}-amino, un grupo heterociclo-alquilo de C_{3-6}-amino, o un grupo acilo de C_{2-6}-amino.

Cuando se usa en la presente memoria, el término "heterociclilo" incluye, a menos que se defina de otra manera, anillos no aromáticos, únicos o condensados, saturados o insaturados, que convenientemente contienen hasta cuatro heteroátomos en cada anillo, cada uno de los cuales se selecciona de un átomo de O, un átomo de N y un átomo de S, anillos que pueden estar sin sustituir o sustituidos con, por ejemplo, hasta tres sustituyentes. Cada anillo heterocíclico tiene convenientemente de 4 a 7, preferiblemente 5 ó 6, átomos en el anillo. Un sistema de anillos heterocíclicos condensados puede incluir anillos carbocíclicos y necesita incluir sólo un anillo heterocíclico. Ejemplos de grupos heterociclilo incluyen pirrolidina, piperidina, piperazina, morfolina, tiomorfolina, imidazolidina y pirazolidina, en los que uno cualquiera de los grupos piperidina, piperazina, morfolina y tiomorfolina pueden tener al menos un doble enlace.

Cuando se usa en la presente memoria, el término "heteroarilo" incluye, a menos que se defina de otra manera, sistemas de anillos heteroaromáticos mono y bicíclicos que comprenden hasta cuatro, preferiblemente, 1 ó 2, heteroátomos cada uno seleccionado de un átomo de O, un átomo de N y un átomo de S. Cada anillo puede tener de 4 a 7, preferiblemente 5 ó 6, átomos en el anillo. Un sistema de anillos heteroaromáticos bicíclicos puede incluir un anillo carbocíclico. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen los grupos pirrol, quinolina, isoquinolina, piridina, pirimidina, oxazol, tiazol, tiadiazol, triazol, imidazol y bencimidazol.

Los grupos arilo, heterociclilo y heteroarilo, pueden estar opcionalmente sustituidos con preferiblemente hasta tres sustituyentes. Los sustituyentes adecuados incluyen un átomo de halógeno, un grupo hidroxi, un grupo alquilo de C_{1-6}, un grupo arilo, un grupo aril-alquilo de C_{1-6}, un grupo alcoxi de C_{1-6}, un grupo alcoxi de C_{1-6} alquilo de C_{1-6}, un grupo halo-alquilo de C_{1-6}, un grupo aril-alcoxi de C_{1-6}, un grupo hidroxi, un grupo nitro, un grupo ciano, un grupo azido, un grupo amino, un grupo mono y di-*N*-alquilo de C_{1-6}-amino, un grupo acilamino, un grupo arilcarbonilamino, un grupo aciloxi, un grupo carboxi, sales del grupo carboxi, carboxiésteres, un grupo carbamoilo, un grupo mono y di-*N*-alquilo de C_{1-6}-carbamoilo, un grupo alcoxi de C_{1-6}-carbonilo, un grupo ariloxicarbonilo, un grupo ureido, un grupo guanidino, un grupo alquilo de C_{1-6}-guanidino, un grupo amidino, un grupo alquilo de C_{1-6}-amidino, un grupo sulfonilamino, a un grupo aminosulfonilo, un grupo alquilo de C_{1-6}-tio, un grupo alquilo de C_{1-6}-sulfinilo, un grupo alquilo de C_{1-6}-sulfonilo, un grupo heterociclilo, un grupo heteroarilo, un grupo heterociclilo-alquilo de C_{1-6}, un grupo hidroxi-imino-alquilo de C_{1-6} y un grupo heteroaril-alquilo de C_{1-6}, y sus combinaciones.

Preferiblemente, el sustituyente opcional contiene un grupo solubilizante en agua; los restos solubilizantes adecuados serán evidentes para los expertos en la técnica e incluyen grupos hidroxi y amino. Incluso más preferiblemente, el sustituyente opcional incluye un grupo amino, un grupo mono o dialquilo de C_{1-6}-amino, un grupo heterociclilo que contiene un grupo o grupo hidroxi o cualquiera de sus combinaciones.

Cuando se usa en la presente memoria, el término halo representa fluoro, cloro, bromo o yodo.

Los compuestos de fórmula (II) tienen preferiblemente un peso molecular de menos que 800.

Se apreciará que para usar en medicina las sales de los compuestos de fórmula (II) deben ser farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas serán evidentes para los expertos en la técnica e incluyen las descritas en J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19, tales como las sales de adición de ácidos formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico o ácido fosfórico; y ácidos orgánicos, por ejemplo ácido succínico, ácido maleico, ácido acético, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido benzoico, ácidop-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido naftalensulfónico. Pueden usarse otras sales, por ejemplo oxalatos, en, por ejemplo, el aislamiento de compuestos de fórmula (II) y están dentro del alcance de esta invención.

Los compuestos de esta invención pueden estar en forma cristalina o no cristalina y, si están en forma cristalina, pueden estar opcionalmente hidratados o solvatados. Esta invención incluye dentro de su alcance hidratos estequiométricos así como compuestos que contienen cantidades variables de agua.

La invención se extiende a todas las formas isómeras que incluyen los estereoisómeros y los isómeros geométricos de los compuestos de fórmula (II) incluyendo los enantiómeros y sus mezclas, por ejemplo racematos. Las diferentes formas isoméricas se pueden separar o resolver entre sí mediante métodos convencionales, o cualquier isómero dado se puede obtener mediante métodos sintéticos convencionales o mediante síntesis estereoespecífica o asimétrica.

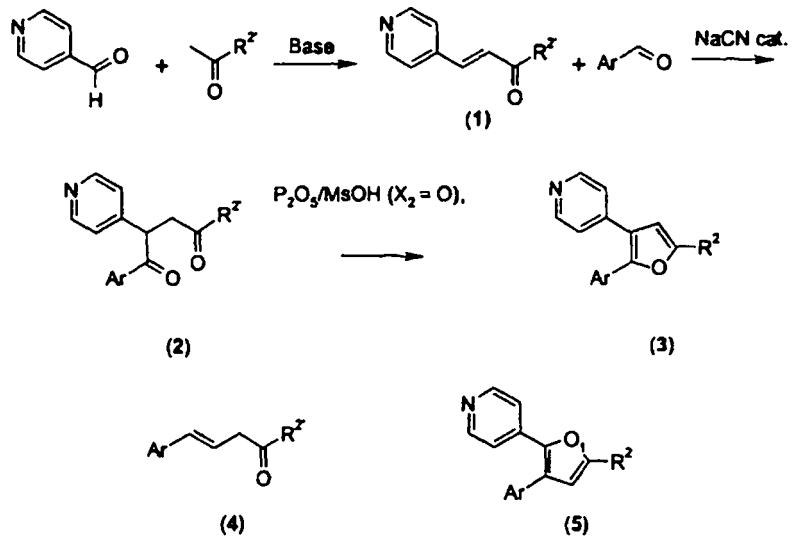
Puesto que se pretende que los compuestos de fórmula (II) se usen en composiciones farmacéuticas, se entenderá fácilmente que cada uno de ellos se proporcione preferiblemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo al menos 60% pura, más adecuadamente al menos 75% pura y preferiblemente, al menos 85%, especialmente al menos 98% pura (los % son en peso sobre una base en peso). Las preparaciones impuras de los compuestos se pueden utilizar para preparar las formas más puras usadas en las composiciones farmacéuticas.

Los compuestos de fórmula (II) son derivados de furano que pueden prepararse fácilmente usando procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica, a partir de materiales de partida que están comercialmente disponibles o que pueden prepararse a partir de tales por analogía con procedimientos bien conocidos. Por ejemplo, véase W. Friedrichsen (p351, furanos), R.J. Sundberg (p119, pirroles) y J. Nakayama (p607, tiofenos) in Comprehensive Heterocyclic Chemistry II, volume 2, series eds. A.R. Katritzky, C.W. Rees y E.F.V. Scriven.

Típicamente, los compuestos de esta invención pueden prepararse mediante una síntesis de Paal-Knorr a partir de un precursor 1,4-dicarbonilo, como se delinea en el Esquema 1. Por ejemplo, una condensación mediada por una base (por ejemplo dietilamina) de un derivado de una metilcetona con piridina-4-carboxaldehído da lugar a la formación de un derivado calcona (1, véase S.E. deLaszlo *et al* Bioorg. Med. Chem. Lett., 1999, 9, 641). La reacción subsiguiente de la calcona (1) con un compuesto aril carboxaldehído y cianuro de sodio en cantidad catalítica en condiciones de Stetter (H. Stetter y K. Kuhlmann, Org. React., 1991, 40, 407) genera el precursor 1,4-dicarbonilo (2) anteriormente mencionado. La ciclación en las condiciones apropiadas da lugar entonces a la formación de los sistemas de anillos deseados (3) furano (por ejemplo, pentóxido de fósforo-ácido metano sulfónico o ácido sulfúrico concentrado o HCl/acetona/dioxano), pirrol deseado (por ejemplo, acetato de amonio, ácido acético) o tiofeno (por ejemplo, reactivo de Lawessons). Seguidamente, el grupo $R^{2'}$ puede convertirse en otro grupo R^2 usando un grupo funcional convencional. Un experto en la técnica también se dará cuenta de que los componentes aldehído podrían utilizarse en orden inverso generando el derivado calcona (4) y subsiguientemente los heterociclos regioisómeros (5).

(Esquema pasa a página siguiente)

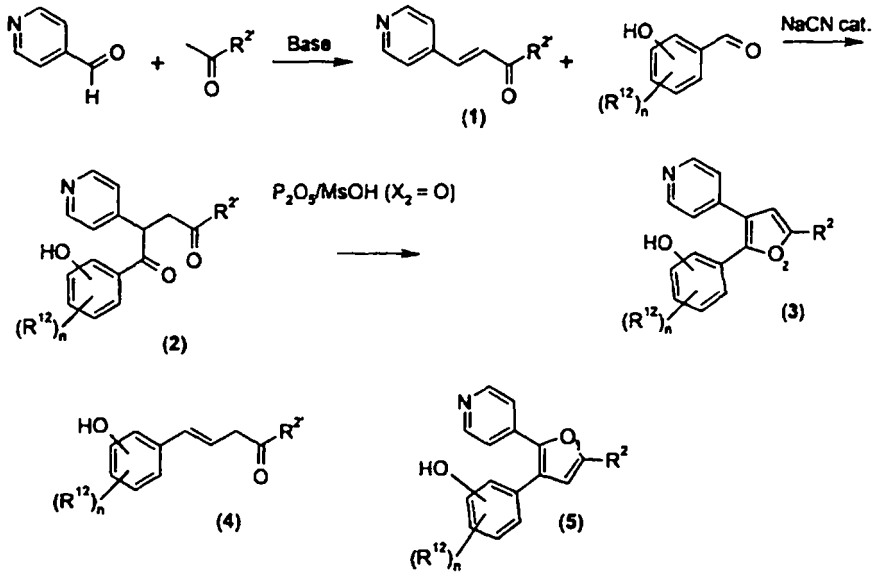
Esquema 1



en el que Ar y R^2 son como se definieron para los compuestos de fórmula (II).

Los compuestos de fórmula (II) también pueden prepararse como se propone en el Esquema 2.

Esquema 2



en el que R^{12}, n, X_1, X_2 y R^2 son como se definieron para los compuestos de fórmula (II).

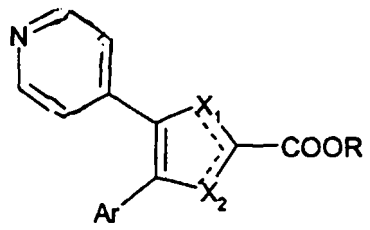
Durante la síntesis de los compuestos de fórmula (II), los grupos funcionales lábiles de los compuestos intermedios, por ejemplo los grupos hidroxi, carboxi y amino, pueden estar protegidos. Un análisis comprensivo de las vías mediante las que pueden protegerse los grupos funcionales lábiles y de los procedimientos para escindir los derivados protegidos resultantes se da por ejemplo en Protective Groups in Organic Chemistry, T. W. Greene y P. G. M. Wuts, (Wiley-Interscience, Nueva York, 2ª edición, 1991).

Los compuestos de fórmula (II) pueden prepararse solos o como bibliotecas de compuestos que al menos comprenden 2, por ejemplo 5 a 1.000 compuestos, y más preferiblemente 10 a 100 compuestos de fórmula (II). Las bibliotecas de compuestos de fórmula (II) pueden prepararse mediante un enfoque combinatorial de "división y mezcla" o mediante múltiples síntesis paralelas usando una química de fase en disolución o de fase sólida, mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica.

Así, según otro aspecto de la invención se proporciona una biblioteca de compuestos que al menos comprende 2 compuestos de fórmula (II), o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar convencionalmente mediante reacción con el ácido o derivado de ácido apropiado.

Los nuevos ésteres de ácidos carboxílicos y los correspondientes ácidos de fórmula (III) que se usan como compuestos intermedios en la síntesis de los compuestos de fórmula (II) también forman parte de la presente invención:



(III)

en la que Ar, X_1 y X_2 son como se definieron para los compuestos de fórmula (II) y R es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de C_{1-6} o un grupo aril-alquilo de C_{1-6}.

Como se indicó anteriormente, los compuestos de fórmula (II) y sus derivados farmacéuticamente aceptables son útiles para el tratamiento y/o profilaxis de trastornos en los que están implicados quinasas Raf, en particular la quinasa B-Raf.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (II) o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables como un agente inhibidor de la quinasa B-Raf.

Como se indicó anteriormente, los compuestos de fórmula (II) y sus derivados farmacéuticamente aceptables son útiles en el tratamiento y/o profilaxis de trastornos asociados con la degeneración neuronal que resulta de sucesos isquémicos, así como con la neurodegeneración crónica, el dolor, las migrañas y la hipertrofia cardiaca.

Como se indicó anteriormente, los compuestos de fórmula (II) y sus derivados farmacéuticamente aceptables son útiles en el tratamiento y/o profilaxis de trastornos asociados con la degeneración neuronal que resulta de sucesos isquémicos.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (II) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables en la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico o terapéutico de cualquier enfermedad en un ser humano, o en otro mamífero, que sea exacerbada o provocada por un suceso neurotraumático.

Las enfermedades/acontecimientos neurotraumáticos como se definen en la presente memoria incluyen tanto traumatismos craneales abiertos o penetrantes, tales como los producidos por operaciones quirúrgicas, como traumatismos craneales cerrados, tales como los producidos por una lesión en la región craneal. Dentro de esta definición también se incluye el ataque isquémico, particularmente en el área cerebral, ataques isquémicos transitorios después de una derivación coronaria y la disminución cognitiva que puede aparecer después de otros estados isquémicos transitorios.

El ataque isquémico puede definirse como un trastorno neurológico focal que se debe a un suministro de sangre insuficiente a un área del cerebro particular, usualmente como consecuencia de una embolia, trombo o cierre ateromatoso local del vaso sanguíneo. En este área han estado emergiendo los papeles para los estímulos de estrés (tales como la anorexia), lesión redox, estimulación excitatoria neuronal excesiva y citoquinas inflamatorias y la presente invención proporciona un medio para el tratamiento potencial de estas lesiones. Hasta ahora estaban disponibles relativamente pocos tratamientos para lesiones agudas tales como éstas.

Los compuestos de la invención también pueden usarse en el tratamiento o profilaxis de cánceres. Se sugiere que los compuestos son efectivos en tumores que tienen mutaciones B-Raf activantes (V599E) así como en tumores que son activados por una mutación Ras. Las mutaciones pueden ocurrir en los miembros de la familia Ras tales como Kras2 con mutación G13D. Además, los compuestos de la invención pueden usarse en el tratamiento o profilaxis del cáncer colorrectal y del melanoma

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método de tratamiento o profilaxis de un paciente que padece o es susceptible de padecer un cáncer que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula (II) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (II) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables en la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico o terapéutico del cáncer.

Los compuestos de fórmula (II) y sus derivados farmacéuticamente aceptables pueden emplearse solos o en combinación con otros agentes terapéuticos para el tratamiento de las enfermedades anteriormente mencionadas. En particular, en la terapia anti-cáncer, se prevé la combinación con otros agentes quimioterapéuticos, hormonales o anticuerpos así como en combinación con la terapia quirúrgica y la radioterapia. Las terapias de combinación según la presente invención comprenden así la administración de al menos un compuesto de fórmula (II) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables, y el uso de al menos otro método de tratamiento del cáncer. Preferiblemente, las terapias de combinación según la presente invención comprenden la administración de al menos un compuesto de fórmula (II) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables, y al menos otro agentes quimioterapéuticos farmacéuticamente activo. Éstos incluyen agentes quimioterapéuticos existentes y prospectivos. El(los) compuesto(s) de fórmula (II) y el o los otros agentes quimioterapéuticos farmacéuticamente activos pueden administrarse juntos en una composición farmacéutica unitaria o separadamente y, cuando se administran separadamente esto puede ocurrir simultánea o secuencialmente en cualquier orden. Tal administración secuencial puede ser cercana o lejana en el tiempo. Las cantidades del o de los compuestos de fórmula (II) y de los otros agentes quimioterapéuticos farmacéuticamente activos y los momentos relativos de administración se seleccionarán con el fin de conseguir el efecto terapéutico combinado deseado.

Los agentes quimioterapéuticos farmacéuticamente activos que son útiles en combinación con un compuesto de fórmula (II) o con uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables, incluyen, pero no están restringidos a, los siguientes:

(1) los agentes antineoplásicos específicos del ciclo celular incluyen, pero no están limitados a, diterpenoides como paclitaxel y su análogo docetaxel; venenos de tubulina tales como taxol/taxano o alcaloides derivados de la vinca tales como vinblastina, vincristina, vindesina y vinorrelbina; epipodofilotoxinas como etopósido y tenipósido; fluoropirimidinas como 5-fluorouracil y fluorodesoxiuridina; antimetabolitos tales como allopurinol, fludarabina, metotrexato, cladrabina, citarabina, mercaptopurina, gemcitabina y tioguanina; y camptotecinas tales como 9-amino camptotecina, irinotecan, topotecan, y las diversas formas ópticas de 7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxi-20-camptotecina;

(2) agentes quimioterapéuticos citotóxicos que incluyen, pero no se limitan a, agentes alquilantes tales como melfalan, clorambucil, ciclofosfamida, mecloretamina, hexametilmelamina, busulfan, carmustina, lomustina, dacarbazina y nitrosoureas; antibióticos anti-tumorales tales como doxorrubicina, daunomicina, epirrubicina, idarrubicina, mitomicina-C, dactinomicina, bleomicina y mitramicina; y complejos de coordinación de platino como cisplatino, carboplatino y oxaliplatino; y

(3) otros agentes quimioterapéuticos que incluyen, pero no se limitan a, antiestrógenos como tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno y yodoxifeno; progestrógenos como acetato de megestrol; agentes inhibidores de aromatasa como anastrozol, letrazol, vorazol y exemestano; antiandrógenos como flutamida, nilutamida, bicalutamida y acetato de ciproterona; agonistas y antagonistas de LHRH como acetato de goserelina y leuprolida, agentes inhibidores de testosterona 5α-dihidrorreductasa como finasterida; agentes inhibidores de metaloproteinasa como marimastat; antiprogestrógenos; mitoxantrona, 1-asparaginasa, agentes inhibidores de la función del receptor del activador del plasminógeno tipo uroquinasa; agentes inhibidores o tirosina quinasas c-kit y bcr/abl (tales como Gleevec), inmunoterapia, inmunoconjugados, citoquinas (tales como IL-2, IFN alfa y beta), vacunas tumorales (incluyendo las vacunas de células dendríticas), talidomida, agentes inhibidores de COX-2, glucocorticoides (tales como prednisona y decadron), agentes sensibilizadores de las radiaciones (tales como temazolamida), agentes inhibidores de las funciones de los factores del crecimiento, tales como agentes inhibidores de las funciones del factor de crecimiento de los hepatocitos; erb-B2, erb-B4, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y receptores del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR); agentes inhibidores de la angiogénesis, tales como agentes inhibidores de la función de los receptores Efrin (tales como EfB4), receptores del factor del crecimiento endotelial vascular (VEGFR) y los receptores de las angiopoyetinas (Tie1 y Tie2); y otros agentes inhibidores de las quinasas tales como los agentes inhibidores de CDK2 y CDK4.

Los agentes antineoplásicos pueden inducir efectos antineoplásicos de manera específica en el ciclo celular, es decir, son específicos de una fase y actúan en una fase específica del ciclo celular, o se enlazan al DNA y actúan de una manera no específica en el ciclo celular, es decir, no son específicos del ciclo celular y operan por otros mecanismos.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (II) o de uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables en la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico o terapéutico de la neurodegeneración crónica, el dolor, las migrañas o la hipertrofia cardiaca.

Con el fin de usar los compuestos de fórmula (II) en terapia, normalmente se formularán en una composición farmacéutica según la práctica farmacéutica estándar. Según otro aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (II) o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de fórmula (II) pueden convenientemente administrarse por cualquiera de las rutas convencionalmente usadas para la administración de fármacos, por ejemplo, parenteralmente, oralmente, tópicamente o por inhalación. Los compuestos de fórmula (II) pueden administrarse en formas de dosificación convencionales preparadas combinándolos con vehículos farmacéuticos estándar según procedimientos convencionales. Los compuestos de fórmula (II) también pueden administrarse en dosificaciones convencionales en combinación con un segundo compuesto conocido terapéuticamente activo. Estos procedimientos pueden implicar mezcla, granulación y compresión o disolución de los ingredientes, según sea apropiado para la preparación deseada. Se apreciará que la forma y el carácter del vehículo farmacéuticamente aceptable son dictados por la cantidad de compuesto de fórmula (II) con el que se va a combinar, la ruta de administración y otras variables bien conocidas. El vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no ser perjudicial para el receptor de la misma.

El vehículo farmacéutico empleado puede ser, por ejemplo o un sólido o un líquido. Ejemplos de vehículos sólidos son lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio, ácido esteárico y similares. Ejemplos de vehículos líquidos son sirope, aceite de cacahuete, aceite de oliva, agua y similares. Igualmente, el vehículo o diluyente puede incluir material para efecto retardado bien conocido en la técnica, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

Se puede emplear una amplia variedad de formas farmacéuticas. Así, si se utiliza un vehículo sólido, la preparación se puede comprimir, poner en una cápsula de gelatina dura en forma de polvo o en forma de pelet o en forma de pastillas o comprimidos para chupar. La cantidad de vehículo sólido variará ampliamente, pero preferentemente será de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 1 g. Cuando se usa un vehículo líquido, la preparación estará en forma de un jarabe, emulsión, cápsula de gelatina blanda, líquido inyectable estéril tal como una ampolla o una suspensión líquida no acuosa.

Los compuestos de fórmula (II) se administran preferiblemente de manera parenteral, esto es mediante administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, sublingual, intranasal, intrarrectal, intravaginal o intraperitoneal. Generalmente se prefiere la forma intravenosa de administración parenteral. Los compuestos pueden administrarse como una inyección en embolada o como una infusión continua, por ejemplo, durante un periodo desde 6 horas hasta 3 días. Se pueden preparar formas farmacéuticas apropiadas para tal administración por técnicas convencionales.

Los compuestos de fórmula (II) también pueden administrarse oralmente. Se pueden preparar formas farmacéuticas apropiadas para tal administración por técnicas convencionales.

Los compuestos de fórmula (II) también pueden administrarse por inhalación, esto es mediante administración intranasal e inhalación oral. Pueden prepararse formas farmacéuticas apropiadas para tal administración, tales como formulaciones de aerosol, por técnicas convencionales.

Los compuestos de fórmula (II) también pueden administrarse tópicamente, esto es por administración no sistémica. Esto incluye la aplicación de los inhibidores externamente en la epidermis o la cavidad bucal y la instilación de dicho compuesto en el oído, ojo y nariz, de tal manera que el compuesto no entra significativamente en la corriente sanguínea.

Para todos los métodos de uso descritos en la presente memoria, el régimen de dosificación oral diario será preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 80 mg/kg de peso corporal total, preferiblemente de aproximadamente 0,2 a 30 mg/k g, más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a 15 mg/kg. El régimen de dosificación parenteral diario será de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 80 mg/kg de peso corporal total, preferiblemente de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 30 mg/k g, y más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a 15 mg/kg. El régimen de dosificación tópica diario preferentemente será de 0,1 mg a 150 mg, administrados de una a cuatro, preferentemente dos o tres veces al día. El régimen de dosificación de inhalación diario preferiblemente será de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 1 mg/kg al día. También reconocerá un especialista en la técnica que la cantidad óptima y la separación de las dosificaciones individuales de los agentes inhibidores se determinará por la naturaleza y grado de la afección a tratar, la forma, la vía y el sitio de administración, y el paciente particular a tratar, y que tales óptimos pueden determinarse por técnicas convencionales. Un especialista en la técnica también apreciará que el curso óptimo de tratamiento, es decir, el número de dosis de los inhibidores administradas al día durante un número definido de días, puede averiguarse por los especialistas en la técnica usando ensayos convencionales de determinación del curso de tratamiento. En el caso de sales farmacéuticamente aceptables, las cifras anteriores se calculan como el compuesto padre de fórmula (II).

Cuando un compuesto de fórmula (II) se administra en el intervalo de dosificaciones anterior no se indica/espera ningún efecto toxicológico.

Los Ejemplos siguientes ilustran la preparación de los compuestos farmacológicamente activos de la invención y las descripciones siguientes ilustran la preparación de los compuestos intermedios utilizados en la preparación de estos compuestos.

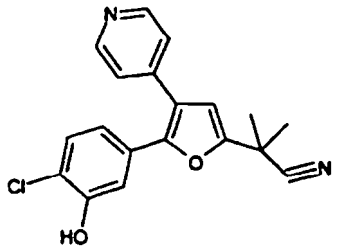
Las abreviaciones usadas en la presente memoria son como sigue;

THF significa tetrahidrofurano.

DMF significa N,N-dimetilformamida.

Ejemplo 1

2-[5-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropionitrilo



Etapa 1

2,2-Dimetil-3-oxo-5-piridin-4-ilpent-4-enonitrilo

Se añadió piridina-4-carboxaldehído (6,9 mL, 72 mmol) a piridina seca (16 mL) en atmósfera de argón. Se añadieron subsiguientemente 2,2-dimetil-3-oxo-butironitrilo {J.K. Rasmussen *et al*., Synthesis, 1973, 682} (8,0 g, 72 mmol) y dietilamina (7,3 mL, 71 mmol) y la disolución se calentó a reflujo durante 18 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se vertió en agua y acetato de etilo. La mezcla se separó y la fase acuosa se volvió a extraer con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron y se concentraron a vacío para dar un sólido el cual se trituró con éter dietílico para dar el compuesto del título (8,5 g, 59%); EM (ES+) m/e 201 $[M+H]^+$.

Etapa 2

6-(4-Cloro-3-metoxifenil)-2,2-dimetil-3,6-dioxo-5-piridin-4-ilhexanonitrilo

Se añadió una disolución del producto del Ejemplo 1, Etapa 1, (4,0 g, 20,0 mmol) en DMF (7 mL) a una disolución de cianuro de sodio (300 mg, 6,12 mmol) en DMF (7 mL) en 15 minutos a temperatura ambiente. Después de agitar durante otros 15 minutos, se añadió gota a gota una disolución de 4-cloro-3-metoxibenzaldehído {F. Claudi *et al*., J.Med.Chem., 1992, 35, 4408} (640 mg, 3,75 mmol) en DMF (6 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y a continuación se diluyó con agua y el pH de la disolución se ajustó a 9 con una disolución acuosa de hidrógenocarbonato de sodio. La mezcla se extrajo con cloroformo y la fase orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó y se concentró a vacío. El residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice eluyendo con cloroformo/etanol/disolución de amoníaco 0,880 (90:9:1) para dar el compuesto del título (3,1 g, 42%); MS (ES+) m/e 371, 373 $[M+H]^+$.

Etapa 3

2-[5-(4-Cloro-3-metoxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropionitrilo (producto A) y 2-[5-(4-cloro-3-metoxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]isobutiramida (producto B)

Se añadió el producto del Ejemplo 1, Etapa 2 (3,1 g, 8,4 mmol) a una suspensión agitada de pentóxido de fósforo (35 g) en ácido metanosulfónico seco (35 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la mezcla de reacción se vertió con precaución sobre una disolución acuosa saturada agitada de hidrógenocarbonato de sodio. La mezcla se extrajo con acetato de etilo y la fase orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó y se concentró a vacío. El residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo para dar el producto A (1,15 g, 39%); MS (ES+) m/e 353, 355 $[M+H]^+$.

La elución posterior de la columna con acetato de etilo/metanol (9:1) dio el producto B (0,83 g, 27% de rendimiento); MS (ES+) m/e 371, 373 $[M+H]^+$.

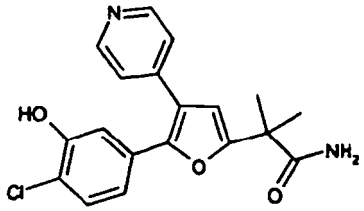
Etapa 4

2-[5-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropionitrilo

Una disolución de producto A del Ejemplo 1, Etapa 3 (100 mg, 0,28 mmol) en diclorometano (10 mL) se enfrió a 0ºC y se trató con tribromuro de boro (disolución 1 M en diclorometano, 0,3 mL, 0,3 mmol). La mezcla se agitó a 0ºC durante 15 minutos y a continuación a temperatura ambiente durante 3 horas. la reacción se paró rápidamente mediante la adición de una disolución acuosa saturada de hidrógenocarbonato de sodio, se agitó durante 15 minutos y a continuación el producto se extrajo en acetato de etilo (X 2). La fase orgánica se secó y se concentró al vacío. El residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice eluyendo con cloroformo/etanol/disolución de amoníaco 0,880 (90:9:1) para dar el compuesto del título (70 mg, 73%); MS (ES+) m/e 339, 341 $[M+H]^+$.

Ejemplo 2

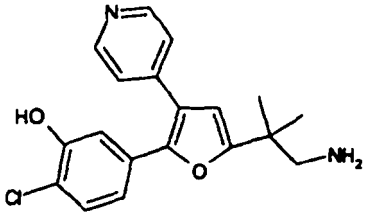
2-[5-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]isobutiramida



El compuesto del título se preparó a partir del producto B del Ejemplo 1 Etapa 3 como se describe en el Ejemplo 1 Etapa 4; MS (ES+) m/e 357, 359 $[M+H]^+$.

Ejemplo 3

5-[5-(2-Amino-1,1-dimetiletil)-3-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-clorofenol



Etapa 1

2-[5-(4-Cloro-3-metoxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropilamina

Se añadió borano-sulfuro de dimetilo (1 mL, 10,5 mmol) a una disolución de producto A del Ejemplo 1 Etapa 3 (875 mg, 2,49 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas, se enfrió, se trató con metanol (3 mL) y a continuación se calentó a reflujo durante otros 30 minutos. Después de concentrar a vacío, el residuo se disolvió en ácido clorhídrico 2 M (20 mL) y se calentó a reflujo durante 1 hora. La mezcla se basificó con una disolución acuosa de carbonato de sodio y el producto se extrajo con cloroformo (X 3), se secó y se concentró a vacío. El residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice eluyendo con cloroformo/etanol/disolución de amoníaco 0,880 (90:9:1) para dar el compuesto del título (620 mg, 70%); MS (ES+) m/e 357, 359 $[M+H]^+$.

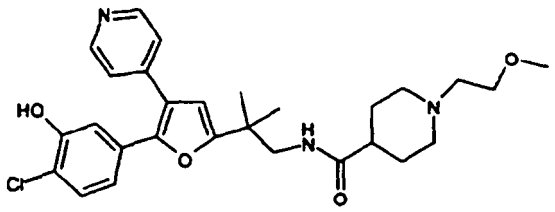
Etapa 2

5-[5-(2-Amino-1,1-dimetiletil)-3-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-clorofenol

El compuesto del título se preparó a partir del producto B del Ejemplo 3 Etapa 1 como se describe en el Ejemplo 1 Etapa 4; MS (ES+) m/e 343, 345 $[M+H]^+$.

Ejemplo 4

{2-[5-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}-amida del ácido 1-(2-metoxietil)piperidina-4-carboxílico



Etapa 1

Éster de etilo del ácido 1-(2-metoxietil)piperidina-4-carboxílico

Una disolución de isonipecotato de etilo (26 g, 166 mmol) en etanol (150 mL) se trató con carbonato de potasio (41 g, 297 mmol) y 2-bromoetil metil éter (25 g, 179 mmol). Después de calentar a reflujo durante 24 horas, la mezcla se filtró y el sólido se lavó con etanol. El filtrado se concentró a vacío para dar el compuesto del título (32,76 g, 92%); H RMN ($CDCl_3$) 4,12 (2H, q, J 7,1 Hz), 3,51 (2H, t, J 5,7 Hz), 3,33 (3H, s), 2,92 (2H, m), 2,56 (2H, t, J 5,7 Hz), 2,33-1,71 (7H, m) y 1,25 (3H, t, 17,1 Hz).

Etapa 2

Hidrocloruro del ácido 1-(2-metoxietil)piperidina-4-carboxílico

Se añadió ácido clorhídrico concentrado (200 mL) a una suspensión del producto del Ejemplo 4 Etapa 1 (20 g, 93 mmol) en agua (120 mL). La mezcla se calentó a 100ºC durante 60 horas, se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se concentró a vacío. El residuo se sometió a destilación azeotrópica con tolueno (x 5) y se secó sobre pentóxido de fósforo. El sólido resultante se trituró con éter dietílico y acetona para dar el compuesto del título (14,0 g, 81%); MS (ES^-) m/e 186 [M-H]-.

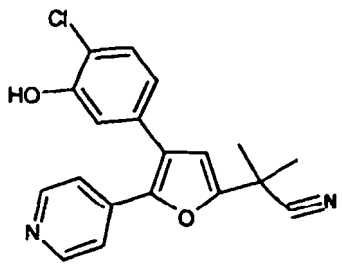
Etapa 3

{2-[5-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}amida del ácido 1-(2-metoxietil)piperidina-4-carboxílico

Se trató una disolución del producto del Ejemplo 4 Etapa 2 (265 mg, 1,18 mmol) en DMF (5 mL) con *N*-ciclohexilcarbodiimida, *N'*-metilpoliestireno (1,8 g) y 1-hidroxibenzotriazol hidrato (162 mg, 1,19 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y a continuación se trató con una disolución del producto del Ejemplo 3 Etapa 2 (407 mg, 1,9 mmol) en DMF (2 mL). Después de agitar durante otras 16 horas, la mezcla de reacción se aplicó a un cartucho Bond Elut SCX. El cartucho se eluyó con metanol y a continuación con una disolución de amoníaco 0,880/metanol (1:9) para eluir el producto. Después de concentrar a vacío, el producto se purificó adicionalmente por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con cloroformo/etanol/disolución de amoníaco 0,880 (90:9:1) para dar el compuesto del título (340 mg, 56%); MS (ES+) m/e 512, 514 $[M+H]^+$.

Ejemplo 5

2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropionitrilo



Etapa 1

5-(4-Cloro-3-metoxifenil)-2,2-dimetil-3-oxo-pent-4-enonitrilo

El compuesto del título se preparó a partir de 2,2-dimetil-3-oxo-butironitrilo {J.K. Rasmussen *et al*., Synthesis, 1973, 682} y 4-cloro-3-metoxibenzaldehído {F. Claudi *et al*., J.Med.Chem., 1992, 35, 4408} como se describe en el Ejemplo 1 Etapa 1; MS(ES-) m/e 263, 265 $[M-H]^-$.

Etapa 2

5-(4-Cloro-3-metoxifenil)-2,2-dimetil-3,6-dioxo-6-piridin-4-ilhexanonitrilo

El compuesto del título se preparó a partir del producto B del Ejemplo 5 Etapa 1 como se describe en el Ejemplo 1 Etapa 2; MS (ES+) m/e 371, 373 $[M+H]^+$.

Etapa 3

2-[4-(4-Cloro-3-metoxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropionitrilo (producto A) y 2-[4-(4-cloro-3-metoxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]isobutiramida (producto B)

Los compuestos del título se prepararon a partir del producto del Ejemplo 5 Etapa 2 como se describe en el Ejemplo 1 Etapa 3 dando el producto A (34% de rendimiento); MS(ES+) m/e 353, 355 $[M+H]^+$ y el producto B (51% de rendimiento); MS (ES+) m/e371, 373 $[M+H]^+$.

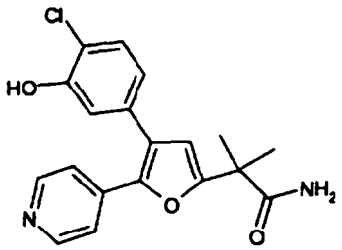
Etapa 4

2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropionitrilo

El compuesto del título se preparó a partir del producto A del Ejemplo 5 Etapa 3 como se describe en el Ejemplo 1 Etapa 4; MS (ES+) m/e 339, 341 $[M+H]^+$.

Ejemplo 6

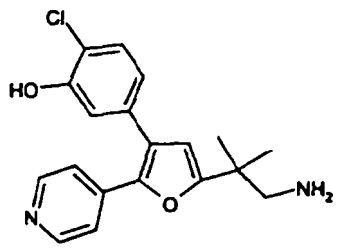
2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]isobutiramida



El compuesto del título se preparó a partir del producto B del Ejemplo 5 Etapa 3 como se describe en el Ejemplo 1 Etapa 4; MS (ES+) m/e 357, 359 $[M+H]^+$.

Ejemplo 7

2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropilamina



Etapa 1

2-[4-(4-Cloro-3-metoxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropilamina

El compuesto del título se preparó a partir del producto A del Ejemplo 5 Etapa 3 como se describe en el Ejemplo 3 Etapa 1; MS (ES+) m/e 357, 359 $[M+H]^+$.

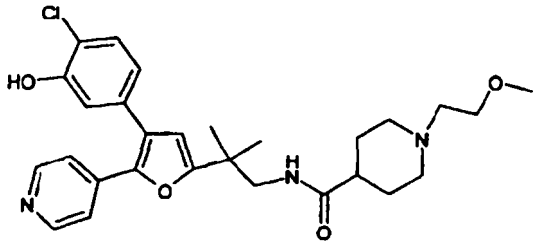
Etapa 2

2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropilamina

El compuesto del título se preparó a partir del producto del Ejemplo 7 Etapa 1 como se describe en el Ejemplo 1 Etapa 4; MS (ES+) m/e 343, 345 $[M+H]^+$.

Ejemplo 8

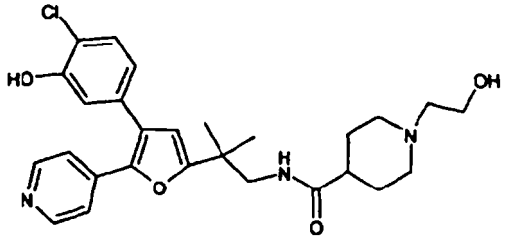
{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-il-furan-2-il]-2-metilpropil}-amida del ácido 1-(2-metoxietil)piperidina-4-carboxílico



El compuesto del título se preparó a partir de los productos del Ejemplo 7 Etapa 2 y del Ejemplo 4 Etapa 2 usando el método descrito en el Ejemplo 4 Etapa 3; MS (ES+) m/e 512, 514 $[M+H]^+$.

Ejemplo 9

{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}amida del ácido 1-(2-hidroxietil)-piperidina-4-carboxílico



Etapa 1

{2-[4-(4-Cloro-3-metoxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}amida del ácido 1-(2-hidroxietil)piperidina-4-carboxílico

El compuesto del título se preparó a partir de los productos del Ejemplo 7 Etapa 1 y del Ejemplo 4 Etapa 2 usando el método descrito en el Ejemplo 4 Etapa 3; MS (ES+) m/e 526, 528 $[M+H]^+$.

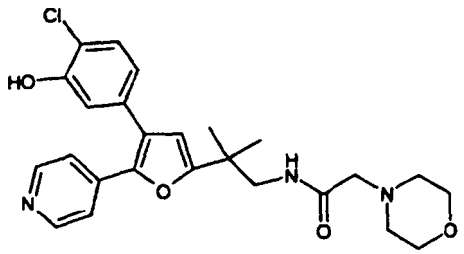
Etapa 2

{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}amida del ácido 1-(2-hidroxietil)piperidina-4-carboxílico

El compuesto del título se preparó a partir del producto del Ejemplo 9 Etapa 1 como se describe en el Ejemplo 1 Etapa 4; MS (ES+) m/e 498, 500 $[M+H]^+$.

Ejemplo 10

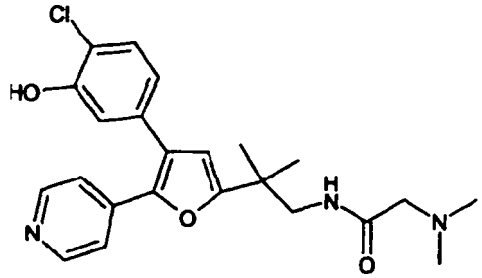
N-{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}-2-morfolin-4-ilacetamida



El compuesto del título se preparó a partir del producto del Ejemplo 7 Etapa 2 y del ácido morfolin-4-ilacético como se describe en el Ejemplo 4 Etapa 3; MS (ES+) m/e 470, 472 $[M+H]^+$.

Ejemplo 11

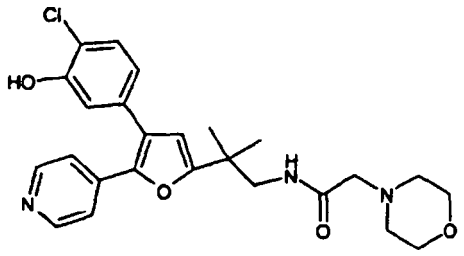
N-{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}-C-dimetilaminoacetamida



El compuesto del título se preparó a partir del producto del Ejemplo 7 Etapa 2 e hidrocloruro del ácido dimetilaminoacético como se describe en el Ejemplo 4 Etapa 3; MS (ES+) m/e 428, 430 $[M+H]^+$.

Ejemplo 12

{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}-amida del ácido piperidina-4-carboxílico



Etapa 1

Éster de terc-butilo del ácido 4-{2-[4-(4-cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropilcarbamoil}-piperidina-1-carboxílico

El compuesto del título se preparó a partir del producto del Ejemplo 7 Etapa 2 y *ácido N*-BOC-isonipecótico como se describe en el Ejemplo 4 Etapa 3; MS (ES+) m/e 554, 556 $[M+H]^+$.

Etapa 2

{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}amida del ácido piperidina-4-carboxílico

Se trató con ácido trifluoroacético (1 mL) una disolución del producto del Ejemplo 12 Etapa 1 (110 mg, 0,19 mmol) en diclorometano (5 mL). Después de agitar durante 2 h, la mezcla se concentró, se volvió a disolver en diclorometano

y se lavó con una disolución acuosa saturada de hidrógenocarbonato de sodio. La disolución orgánica se secó y se concentró a vacío para dar el compuesto del título (80 mg, 93%); MS (ES+) m/e 454, 456 $[M+H]^+$.

Se debe entender que la presente invención cubre todas las combinaciones de los subgrupos particulares y preferidos descritos más arriba en la presente memoria.

Ejemplos biológicos

La actividad de los compuestos de fórmula (II) como agentes inhibidores de B-Raf puede determinarse mediante el siguiente ensayo *in vitro*:

Ensayo de unión a quinasa de anisotropía de fluorescencia

Se incuban conjuntamente la enzima quinasa, el ligando fluorescente y una concentración variable de compuesto de ensayo para alcanzar un equilibrio termodinámico en condiciones tales que, en ausencia del compuesto de ensayo, el ligando fluorescente esté significativamente unido a la enzima (>50%) y en presencia de una concentración suficiente (>10x Ki) de un potente inhibidor, la anisotropía del ligando fluorescente no unido sea apreciablemente diferente del valor unido.

La concentración de la enzima quinasa debe ser preferentemente ≥1x K_f. La concentración de ligando fluorescente requerida dependerá de la instrumentación usada y de las propiedades fluorescentes y fisicoquímicas. La concentración usada debe ser menor que la concentración de enzima quinasa, y preferentemente menor que la mitad de la concentración de enzima quinasa. Un protocolo típico es:

Para el ensayo todos los compuestos se diluyen serialmente en DMSO, a continuación mediante una etapa de dilución en una disolución amortiguadora del pH de comparación, HEPES 50 mM, farmacéutica pH 7,5, CHAPS 1mM, $MgCL_2$ 10 mM.

Concentración de la Enzima B-Raf: 1 nM

Concentración del ligando fluorescente: 0,5 nM

Concentración del compuesto de ensayo: 0,5 nM - 100 μM

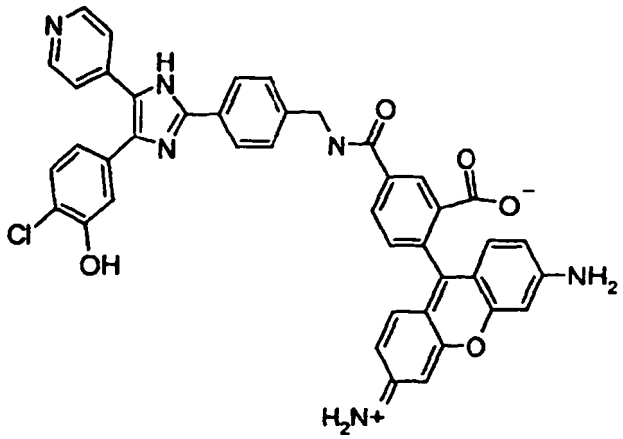
Componentes incubados en un volumen final de 10 μL en placas de microvaloración negras de tipo B LJL HE 384 hasta alcanzar el equilibrio (más de 3 h, hasta 30 h)

Anisotropía de fluorescencia leída en un lector de fluorescencia LJL Acquest.

Definiciones: Ki = constante de disociación del enlace al inhibidor

Kf = constante de disociación del enlace al ligando fluorescente

El ligando fluorescente es el siguiente compuesto:



que se deriva del 5-[2-(4-aminometilfenil)-5-piridin-4-il-1H-imidazol-4-il]-2-clorofenol y del verde de rodamina.

Los compuestos de la invención tienen un K_d de menos de 1 μM.

Ensayo de quinasas Raf

La actividad de la proteína B-Raf recombinante de ser humano se evaluó *in vitro* mediante el ensayo de la incorporación de fosfato radiomarcado a quinasa recombinante (MEK) de quinasa MAP, un conocido sustrato fisiológico de B-Raf. Se obtuvo proteína B-Raf recombinante de ser humano catalíticamente activa por purificación de células Sf9 de insecto infectadas con un vector de expresión recombinante de B-Raf de ser humano en baculovirus. Para asegurar que toda la fosforilación del sustrato se debía a la actividad de B-Raf, se utilizó una forma catalíticamente inactiva de MEK. Esta proteína se purificó a partir de células bacterianas que expresaban MEK inactiva mutante como una proteína de fusión con glutationa-S-transferasa (GST-kdMEK).

Método: Las condiciones estándar del ensayo de la actividad catalítica de B-Raf usaron 3 ug de GST-kdMEK, ATP 10 uM y 2uCi ^{de33}P-ATP, MOPS 50 mM, EDTA 0,1 mM, sacarosa 0,1 M, $MgCl_2$ 10 mM más 0,1% de dimetilsulfóxido (que contenía un compuesto cuando era apropiado) en un volumen de reacción total de 30 uL. Las reacciones se incubaron a 25ºC durante 90 minutos y las reacciones terminaron por adición de EDTA hasta una concentración final de 50 uM. 10 uL de volumen de reacción se concentraron en un punto en un papel de fosfocelulosa P81 y se secaron al aire. Después de cuatro lavados en ácido tricloroacético al 10% enfriado con hielo y ácido fosfórico al 0,5%, los papeles se secaron al aire antes de la adición de líquido de centelleo y de la medición de la radiactividad en un contador de centelleo.

Resultados: Se encontró que los compuestos de los ejemplos eran eficaces para inhibir la fosforilación mediada por B-Raf del sustrato GST-kdMEK, teniendo IC_{50}'s de < 3 μM. La actividad de los compuestos como inhibidores de Raf también puede determinarse por los ensayos descritos en el documento WO 99/10325; McDonald, O.B., Chen, W.J., Ellis, B., Hoffman, C., Overton, L., Rink, M., Smith, A., Marshall, C.J. y Wood, E.R. (1999) A scintillation proximity assay for the Raf/MEK/ERK kinase cascade: high throughput screening and identification of selective enzyme inhibitors, Anal. Biochem. 268: 318-329 y reunión de la AACR, New Orleans 1998 Póster 3793.

Las propiedades neuroprotectoras de los agentes inhibidores de B-Raf pueden determinarse mediante el ensayo *in vitro* siguiente:

Propiedades neuroprotectoras de agentes inhibidores de B-Raf en cultivos de cortes de hipocampo de rata

Los cultivos organotípicos proporcionan un intermedio entre cultivos de células neuronales disociadas y modelos *in-vivo* de privación de oxígeno y glucosa (OGD). En los cortes de hipocampo cultivados se mantienen la mayoría de interacciones gliales-neuronales y de los circuitos neuronales, facilitando de esta manera la investigación de los modelos de muerte entre tipos de células que difieren en un modelo que imita la situación *in vivo*. Estos cultivos permiten el estudio del daño celular retardado y de la muerte después de un periodo de 24 horas, o mayor, desde la agresión y permiten la evaluación de las consecuencias de las alteraciones a largo plazo en las condiciones de cultivo. Varios laboratorios han notificado la existencia de daño neuronal retardado en respuesta a OGD en cultivos organotípicos del hipocampo (Vornov *et al*., Stroke, 1994, 25, 57-465; Newell *et al*., Brain Res., 1995, 676, 38-44). Se ha mostrado que en este modelo varias clases de compuestos protegen, incluyendo agentes antagonistas de EAA (Strasser *et al*., Brain Res., 1995, 687, 167-174), agentes bloqueantes de canales de Na (Tasker *et al*., J. Neurosci., 1992, 12, 98-4308) y agentes bloqueantes de canales de Ca (Panillole *et al*., Stroke, 1996, 7, 2124-2130). Hasta la fecha, se conoce relativamente poco de los papeles de las rutas de señalización mediadas por quinasas intracelulares en la muerte de células neuronales en este modelo.

Método: Se prepararon cultivos de cortes de hipocampo usando el método de Stoppini *et al*., J. Neurosci. Methods, 1995, 37, 173-182. En resumen, se cultivan secciones de 400 micrómetros preparadas a partir de hipocampos de ratas Sprague Dawley con 7-8 días de edad en membranas semiporosas durante 9-12 días. Después se induce OGD por incubación en suero y medio sin glucosa en una cámara anaerobia durante 45 minutos. A continuación, los cultivos se vuelven al incubador con aire/CO_2 durante 23 horas antes del análisis. Como indicador de la muerte celular se usa yoduro de propidio (PI). El PI no es tóxico para las neuronas y se ha usado en muchos estudios para averiguar la viabilidad celular. En las neuronas dañadas, el PI entra y se enlaza a los ácidos nucleicos. El PI unido muestra una mayor emisión a 635 nm cuando se excita a 540 nm. Se toman una imagen de fluorescencia del PI y una imagen de luz blanca y se analiza la proporción de muerte celular. Se define el área de la región CA1 a partir de la imagen de luz blanca y la superposición sobre la imagen del PI. La señal del PI se toma como umbral y área de daño PI se expresa como porcentaje del área CA1. Se ha validado previamente la correlación entre la fluorescencia del PI y la muerte celular histológicamente confirmada mediante tinción de Nissl usando violeta rápido de cresilo (Newell *et al*., J. Neurosci., 1995, 15, 7702-7711).

Las propiedades anticancerígenas de los compuestos de la invención pueden determinarse mediante los siguientes ensayos *in vitro*:

Ensayo de inhibición del crecimiento del azul de metileno (ensayo 2)

Se cultivaron fibroblastos normales de células de foreskin de ser humano (HFF), melanoma de ser humano (A375P, SKMEL2, SKMEL3), carcinoma de colon (Colo 205) en los siguientes medios de crecimiento: A375P, Colo 205, Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 (Life Technologies 22400-089) que contenía 10% de suero fetal bovino (FBS); HFF, medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) (Life Technologies 12320-032) que contenía 10% de

FBS; SKMEL2 y SKMEL3, medio esencial mínimo (MEM, Life Technologies 11095-080) que contenía 1X de aminoácidos no esenciales (Life Technologies 11140-050) y 10% de FBS. Se cosecharon las células usando tripsina al 0,25%/EDTA 1 mM, se contaron usando un hemocitómetro y se extendieron en placas en 100 microlitros de los medios apropiados, a las siguientes densidades, en una placa de cultivos celulares de 96 pocillos (Falcon 3075): HFF y A375P, 5.000 células/pocillo; todas las otras líneas celulares, 10,000 células/pocillo. Al día siguiente, los compuestos se diluyeron en RPMI que contenía 100 microgramos/mL de gentamicina, el doble de la concentración final requerida, desde disoluciones madre de 10 mM en dimetilsulfóxido (DMSO). Se añadieron cien microlitros por pocillo de estas diluciones a los 100 microlitros de media ya sobre las placas de células. A los pocillos testigo se añadió RPMI que contenía DMSO al 0,6%. Se diluyeron los compuestos. La concentración final de DMSO en todos los pocillos fue 0,3%. Las células se incubaron a 37ºC, con 5% de CO_2 durante 3 días. Se separó el medio por aspiración. La biomasa celular se estimó tiñendo las células con 90 μL por pocillo de azul de metileno (Sigma M9140, 0,5% en etanol:agua 50:50) e incubación a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos. Se eliminó la tinción, las placas se lavaron por inmersión en agua desionizada y se secaron al aire. Para liberar la tintura de las células se añadieron 100 μL de disolución de solubilización (N-lauroil sarcosina, sal de sodio, al 1%, Sigma L5125, en disolución salina tamponada con fosfatos (PBS)), y las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se midió la densidad óptica a 620 nM en un lector de microplacas. Se calculó la inhibición porcentual de crecimiento celular respecto de los pocillos de control tratados con el vehículo. La concentración de compuesto que inhibe el 50% del crecimiento celular (CI_{50}) se interpoló empleando regresión no lineal (Levenberg-Marquardt) y la ecuación

$$y = V_{max}*(1-(x/K+x))) + Y2$$

en la que "K" era igual a la CI_{50}.

Protocolo XTT de inhibición del crecimiento a las 72 h para células de mamíferos cultivadas (ensayo 3)

Se hicieron crecer fibroblastos de foreskin diploides de ser humano (HFF) o células de carcinoma de colon de ser humano (Colo 201) en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (Invitrogen/Life Technologies) que contenía 10% de suero fetal bovino (FBS) y los antibióticos penicilina (100 Unidades/mL) y estreotomicina (100 microgramos/mL) (Invitrogen/Life Technologies). El crecimiento fue a 37ºC en incubadores humificados con CO2 al 5% en matraces de plástico de 75 cm^2. Las células se cosecharon usando tripsina al 0,25%/ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) 1 mM, se resuspendieron en medio de crecimiento y se contaron usando un hemocitómetro. Se sembraron placas de 96 pocillos con el fondo plano con 2 x 10^3 células/pocillo en un volumen de 200 uL a partir de cultivos de crecimiento exponencialmente tripsinizados. Se añadió medio de crecimiento sin ninguna adición a pocillos "blanco". Las células se incubaron durante toda la noche para permitir la unión.

Al día siguiente, el medio de los pocillos que contenían células se reemplazó con 180 microlitros de medio nuevo. Se añadieron diluciones apropiadas de los compuestos de ensayo a los pocillos desde las disoluciones madre de compuesto disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO); La concentración final de DMSO en todos los pocillos fue 0,2%. Las células más el compuesto se incubaron durante 72 h adicionales a 37ºC en condiciones normales de crecimiento. A continuación, las células se ensayaron respecto a la viabilidad de usar XTT/PMS* estándar. Se añadió a cada pocillo cincuenta microlitros de disolución XTT/PMS y las placas se incubaron durante 90 minutos a 37ºC. A continuación, se determinó la absorbancia a 450 nM usando un lector UV de placas de 96 pocillos (Molecular Devices). En estas condiciones, la absorbancia de las células testigo sin tratar a 450 nm fue al menos 1,0 unidad de densidad óptica/mL. El porcentaje de viabilidad de las células en cada pocillo se calculó a partir de estos datos (que se habían corregido respecto a la absorbancia del fondo). Fue igual a

100 x (A450 pocillo ensayado/A450 pocillo testigo sin tratar)

siendo las A450s el promedio de determinaciones por triplicado. La IC50 fue la concentración de compuesto que redujo la viabilidad celular a 50% de la viabilidad del testigo (sin tratar), que se determinó a partir de representaciones gráficas de la concentración vs el porcentaje de viabilidad.

*Preparación de la disolución XTT/PMS (inmediatamente antes del ensayo):

- Para cada placa de 96 pocillos, se disolvieron 8 mg de XTT (2,3-bis[2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil]-2H-tetrazolio-5-carboxianilida) (Sigma Chemical Co.) por placa en 100 uL de DMSO. Se añadieron 3,9 mL de H_2O para disolver el XTT y 20 uL de disolución madre (30 mg/mL) de PMS (metosulfato de fenazina, Sigma Chemical Co.) desde una madre congelada dividida en partes alícuotas (10 mg de PMS en 3,3 mL de disolución salina tamponada (Invitrogen/Life Technologies). (Estas disoluciones madre se congelan rutinariamente a -20ºC hasta su uso).

Los fibroblastos de foreskin normales de ser humano (HFF) son la línea celular testigo normal que no debe ser inhibida o al menos ser mucho menos sensible.

		Línea celular	HFF	Colo201	Colo205	A375P	SKMEL3	SKMEL2
		Patología	Normal	Cáncer colorrectal	Cáncer colorrectal	Melanoma	Melanoma	Melanoma
		Status B-Raf	Wt	ND	V599E	V599E	V599E	wt
	B-Raf, Kd nM	Status Ras	Wt	ND	wt	wt	wt	[Q61R]N-Ras
Ejemplo nº	Ensayo 1		Ensayo 3	Ensayo 3	Ensayo 2	Ensayo 2	Ensayo 2	Ensayo 2
3	5,5		22*	8,5*	7,9*	$1,8^{\Delta}$	$1,4^{\Delta}$	4,9*
* indica IC50 > 3 μM Δ indica IC 50 0,3-3 μM † indica IC50 < 0,3 μM								

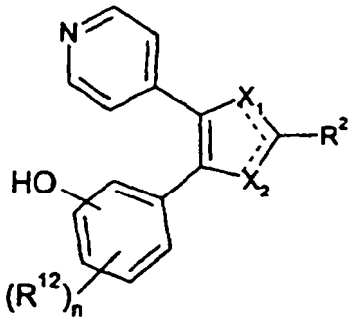
En la bibliografía se informa que A375, Colo205 y SKMEL son de tipo salvaje (wt) para status Ras.

V599E indica que las líneas celulares tienen una mutación BRaf activante (V599E); ND representa no determinado.

A lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones que aparecen a continuación, a menos que el contexto indique lo contrario, la palabra “comprenden”, y las variaciones como tales como “comprende” y “que comprende(n)”, implican la inclusión de una entidad completa mencionada, o etapa o grupo de entidades completas, sin la exclusión de cualquier otra entidad completa, o etapa o grupo de entidades completas o etapas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (II):



(II)

en la que:

uno de X_1 y X_2 se selecciona de un átomo de O, y el otro es un grupo CH;

cada R^{12} se selecciona independientemente de un resto halo, un grupo hidroxi, un grupo alquilo de C_{1-6}, un grupo alcoxi de C_{1-6};

n es 0, 1 ó 2; y

R^2 es un grupo alquilo de C_{1-6} opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados del grupo que consiste en un grupo arilo, un grupo heteroarilo, un grupo heterociclilo, un grupo alcoxi de C_{1-6}, un grupo alquilo de C_{1-6}-tio, un grupo aril-alcoxi de C_{1-6}, un grupo aril-alquilo de C_{1-6}-tio, un grupo amino, un grupo mono o dialquilo de C_{1-6}-amino, un grupo cicloalquilo, un grupo cicloalquenilo, un grupo carboxi y sus ésteres, un grupo amida, un grupo sulfonamido, un grupo ureido, un grupo guanidino, un grupo alquilo de C_{1-6}-guanidino, un grupo amidino, un grupo alquilo de C_{1-6}-amidino, un grupo aciloxi de C_{1-6}, un grupo azido, un grupo hidroxi, un grupo hidroxiimino y un átomo de halógeno; o sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R^{12} es un resto halo.

3. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que R^{12} es un átomo de cloro.

4. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que n es 1.

5. Un compuesto de fórmula (II) según la reivindicación 1, el cual es:

2-[5-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropionitrilo;

2-[5-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]isobutiramida;

5-[5-(2-Amino-1,1-dimetiletil)-3-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-clorofenol;

{2-[5-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-4-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}amida del ácido 1-(2-metoxietil)piperidina-4-carboxílico;

2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropionitrilo;

2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]isobutiramida;

2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropilamina;

{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-4-piridin-5-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}amida del ácido 1-(2-metoxietil)piperidina-4-carboxílico;

{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-4-piridin-5-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}amida del ácido 1-(2-hidroxietil)-piperidina-4-carboxílico;

N-{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}-2-morfolin-4-ilacetamida;

N-{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}-*C*-dimetilaminoacetamida;

{2-[4-(4-Cloro-3-hidroxifenil)-5-piridin-4-ilfuran-2-il]-2-metilpropil}amida del ácido piperidina-4-carboxílico;

o sus sales farmacéuticamente aceptables.

6. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

7. El uso de un compuesto de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico o terapéutico de cualquier enfermedad en un ser humano, o en otro mamífero, que sea exacerbada o provocada por un suceso neurotraumático.

8. El uso de un compuesto de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico o terapéutico del cáncer.

9. El uso según la reivindicación 8, en el que el cáncer es cáncer colorrectal o melanoma.

10. El uso de un compuesto de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico o terapéutico de la neurodegeneración crónica, el dolor, la migraña o la hipertrofia cardiaca.