



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 300 977**

51 Int. Cl.:
C07D 495/04 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **05702081 .0**
86 Fecha de presentación : **01.02.2005**
87 Número de publicación de la solicitud: **1716155**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **02.11.2006**

54 Título: **Tieno- y tiazolo[2,3-d]pirimidinas y (2,3-c)piridinas sustituidas como inhibidores de tie2.**

30 Prioridad: **05.02.2004 GB 0402518**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.06.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.06.2008

73 Titular/es: **AstraZeneca AB.**
151 85 Södertälje, SE

72 Inventor/es: **Jones, Clifford D.;**
Luke, Richard W. A. y
McCoull, William

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

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

DESCRIPCIÓN

Tieno- y tiazolo[2,3-d]pirimidinas y [2,3-c]piridinas sustituidas como inhibidores de tie2.

Esta invención se refiere a compuestos, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que poseen actividad antiangiogénica, y en consecuencia son útiles en métodos de tratamiento de estados mórbidos asociados con angiogénesis en el cuerpo humano o animal. La invención también se refiere a procedimientos para la preparación de los compuestos, a composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos como ingrediente activo, y a métodos para el uso de los compuestos en la fabricación de medicamentos para uso en la producción de efectos antiangiogénicos en animales de sangre caliente, tales como los seres humanos.

La tirosina quinasa receptora Tie2 (también conocida como TEK) es expresada predominantemente en células endoteliales y hematopoyéticas, y es esencial para la formación y mantenimiento de vasos (Jones, N. *et al.*, Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2001: 2, 257-67).

La angiogénesis es un proceso fundamental definido como la generación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasculatura existente. Es un proceso biológico vital pero complejo, requerido para la formación y funciones fisiológicas de casi todos los órganos. Normalmente es de naturaleza transitoria, y está controlado por el equilibrio local de factores angiogénicos y angiostáticos en un proceso de múltiples etapas que implican el nacimiento de vasos, la ramificación y la formación de túbulos por células endoteliales (implicando procesos tales como la activación de las células endoteliales (EC), la desestabilización de los vasos, la síntesis y liberación de enzimas degradantes, la migración de EC, la proliferación de EC, la organización de las EC, y la diferenciación y la maduración de los vasos).

La angiogénesis normal desempeña un papel importante en una variedad de procesos, y está bajo estricto control. En el adulto, la angiogénesis fisiológica está ampliamente confinada a la sanación de heridas y a varios componentes de la función reproductora femenina y el desarrollo embrionario. En la angiogénesis indeseable o patológica, el equilibrio local entre los factores angiogénicos y angiostáticos está mal regulado, conduciendo a la formación inapropiada y/o estructuralmente anormal de vasos sanguíneos. La angiogénesis patológica se ha asociado con estados mórbidos que incluyen retinopatía diabética, psoriasis, cáncer, artritis reumatoide, ateroma, sarcoma de Kaposi y hemangioma (Fan *et al.*, 1995, Trends Pharmacology. Science. 16: 57-66; Folkman, 1995, Nature Medicine 1: 27-31). En el cáncer, el crecimiento de tumores primarios y secundarios más allá de 1-2 mm³ requiere de angiogénesis (Folkman, J. New England Journal of Medicine 1995; 33, 1757-1763).

En enfermedades tales como cáncer, en las cuales la progresión depende de la angiogénesis aberrante, el bloqueo del proceso puede llevar a la prevención del avance de La enfermedad (Folkman, J. 1995, Nature Medicine. 1:27-31). En la bibliografía científica se describen muchos factores que se cree que desempeñan papeles críticos importantes en la regulación de la angiogénesis. Dos clases principales de factores angiogénicos son el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y las angiopoyetinas. Estos restos polipeptídicos interactúan con sus receptores respectivos (tirosina quinasas transmembránicas, las cuales son predominantemente específicas para células endoteliales), e inducen respuestas celulares por medio de la transducción de señales mediadas por ligandos. Se ha especulado que VEGF y las angiopoyetinas cooperan para regular diversos aspectos del proceso angiogénico durante la angiogénesis tanto normal como patológica, por medio de la señalización a través de sus receptores respectivos.

Las tirosina quinasas receptoras (RTK) son importantes en la transmisión de señales bioquímicas a través de la membrana plasmática de las células. Estas moléculas transmembránicas consisten característicamente en un dominio extracelular de unión a ligando, conectado, a través de un segmento en la membrana plasmática, a un dominio intracelular de tirosina quinasa. La unión del ligando al receptor da como resultado la estimulación de la actividad de tirosina quinasa asociada al receptor, que lleva a la fosforilación de restos de tirosina tanto en el receptor como en otras moléculas intracelulares. Estos cambios en la fosforilación de la tirosina inician una cascada de señalización que lleva a una variedad de respuestas celulares. Hasta la fecha, al menos se han identificado diecinueve subfamilias distintas de RTK, definidas por la homología de las secuencias de aminoácidos. Una de estas subfamilias está comprendida actualmente por el receptor de tirosina quinasa de tipo fms, Flt o Flt1, el receptor que contiene un dominio de inserto de quinasa, KDR (también denominado como Flk-1), y otro receptor de tirosina quinasa de tipo fms, Flt4. Dos de estas RTK relacionadas, Flt y KDR, han mostrado que se unen a VEGF con afinidad elevada (De Vries *et al.*, 1992, Science 255:989-991; Terman *et al.*, 1992, Biochem. Biophys. Res. Comm. 1992, 187:1579-1586). La unión de VEGF a estos receptores expresados en células heterólogas se ha asociado con cambios en el estado de fosforilación de la tirosina de proteínas celulares y flujos de calcio.

Recientemente se ha identificado una segunda familia de receptores específicos de células predominantemente endoteliales, que regulan la desestabilización y maduración de los vasos. Los receptores Tie y sus ligandos, las angiopoyetinas, cooperan estrechamente con VEGF durante la angiogénesis tanto normal como patológica. Los receptores transmembránicos Tie1 y Tie2 constituyen una familia de receptores de tirosina quinasas específicos de células endoteliales, implicados en el mantenimiento de la integridad de los vasos sanguíneos, y que están implicados en el crecimiento angiogénico y la remodelación de los vasos. Estructuralmente, Tie1 y Tie2 comparten un número de características (por ejemplo, los dominios intracelulares de estos dos receptores contienen cada uno un dominio de tirosina quinasa interrumpido por una región de inserto de quinasa), y de este modo constituyen una subfamilia distinta de RTK. La identidad de secuencia global entre los receptores Tie1 y Tie2 al nivel de aminoácidos es de 44%, mientras que sus dominios intracelulares muestran 76% de homología. La ruptura dirigida del gen Tie1 da como resultado un

fenotipo letal caracterizado por extensa hemorragia y una deficiente integridad de los microvasos (Puri, M. *et al.* 1995 EMBO Journal: 14: 5884-5891). Ratones transgénicos deficientes en Tie2 presentan defectos en el brote y remodelación de los vasos, y presentan un fenotipo letal en la gestación media (E9.5-10.5) provocado por graves defectos en la vasculatura embrionaria (Sato, T. *et al.* 1995 Nature 370: 70-74).

Hasta la fecha no se han identificado ligandos para Tie1, y se conoce muy poco con respecto a sus capacidades de señalización. Sin embargo, se cree que Tie1 influye en la señalización de Tie2 vía la heterodimerización con el receptor de Tie2 (modulando potencialmente por tanto la capacidad de Tie2 para autofosforilarse (Marron, M. *et al.* 2000 Journal of Biological Chemistry: 275, 39741-39746), y estudios recientes del receptor quimérico de Tie1 han indicado que Tie1 puede inhibir la apoptosis por medio de la ruta de transducción de señales de PI3-quinasa/Akt (Kontos, C.D., *et al.*, 2002 Molecular and Cellular Biology: 22, 1704-1713). Por el contrario, se ha identificado para Tie2 un número de ligandos, denominados las angiopoyetinas, de los cuales la angiopoyetina 1 (Ang1) es el mejor caracterizado. La unión de Ang1 induce la fosforilación de tirosina del receptor de Tie2 por medio de la autofosforilación y la activación subsiguiente de sus rutas de señalización por medio de la transducción de señales. Se ha informado que Ang2 antagoniza estos efectos en células endoteliales (Maisonpierre, P. *et al.* 1997 Science: 277, 55-60). La manipulación con genes suprimidos y transgénica de Tie2 y sus ligandos sugiere que el control espacial y temporal restrictivo de la señalización de Tie2 es imperativo para el desarrollo correcto de nueva vasculatura. Existen también informes de al menos otros dos ligandos (Ang3 y Ang4), así como de la posibilidad de heterodimerización entre los ligandos de angiopoyetina, que tiene el potencial de modificar su actividad (agonista/antagonista) al asociarse con el receptor. La activación del receptor de Tie2 por Ang1 inhibe apoptosis (Papapetropoulos, A., *et al.*, 2000 Journal of Biological Chemistry: 275 9102-9105), promueve el brote en células endoteliales vasculares (Witzenbicher, B., *et al.*, 1998 Journal of Biological Chemistry: 273, 18514-18521), y promueve *in vivo* la maduración de los vasos sanguíneos durante la angiogénesis y reduce la permeabilidad y la fuga consiguiente de microvasos adultos (Thurston, G. *et al.*, 2000 Nature Medicine: 6, 460-463). Así, se informa que el receptor de Tie2 activado está implicado en la ramificación, brote y crecimiento de nuevos vasos, y en el reclutamiento e interacción de células de soporte periendoteliales, importantes para mantener la integridad de los vasos, y en general parece que es consistente con la promoción de la estabilidad de los microvasos. La ausencia de la activación de Tie2, o de la inhibición de la autofosforilación de Tie2, podría llevar a una pérdida de estructura vascular y de contactos matriz/célula (Brindle, N., en prensa, 2002), y a su vez puede desencadenar la muerte celular endotelial, especialmente en ausencia de estímulos de supervivencia o de crecimiento. En base a los efectos dados a conocer anteriormente debido a la actividad de Tie2 quinasa, la inhibición de Tie2 quinasa puede proporcionar un efecto antiangiogénico y, de esta manera, puede tener aplicación en la terapia de estados mórbidos asociados con angiogénesis patológica. Se ha demostrado que la expresión de Tie2 está aumentada en la neovascularización de una variedad de tumores (por ejemplo, Peters, K.G. *et al.*, (British Journal of Cancer 1998; 77, 51-56), sugiriendo que la inhibición de la actividad de Tie2 quinasa daría como resultado actividad antiangiogénica. En apoyo de esta hipótesis, los estudios con el receptor de Tie2 soluble (dominio extracelular) (Pengnian, L. *et al.*, 1997, Journal of Clinical Investigation 1997: 100, 2072-2078, y Pengnian, L. *et al.*, 1998, Proceedings of the National Academy of Sciences 1998: 95, 8829-8834) han mostrado actividad antitumoral en modelos de tumor *in vivo*. Además, estos experimentos también indican que la interrupción de las rutas de señalización de Tie2 en un individuo sano normal podría ser muy bien tolerada, ya que no se observaron toxicidades adversas en estos estudios.

El examen de muestras de cáncer de mama primario humano, y de estirpes de células cancerosas de mama humanas y murinas (Stratmann, A., *et al.*, 2001, International Journal of Cancer: 91,273-282), indica que las rutas dependientes de Tie2 de angiogénesis tumoral pueden existir junto con rutas dependientes de KDR, y, de hecho, pueden operar tanto independientemente (Siemeister G., *et al.*, 1999 Cancer Research: 59, 3185-3191) como en conjunto unas con otras (por ejemplo, se da a conocer que VEGF A y Ang1 colaboran para inducir angiogénesis y producir vasos maduros no derramantes; Thurston, G. *et al.*, 1999 Science: 286, 2511-2514). Incluso es bastante posible que exista una mezcla de tales procesos angiogénicos dentro de un único tumor.

También se ha mostrado que Tie2 desempeña un papel en la anomalía vascular denominada malformación venosa (VM) (Mulliken, J. B. y Young, A.E. 1998, Vascular Birthmarks: W. B. Saunders, Philadelphia). Tales defectos pueden ser heredados, o se pueden originar esporádicamente. Las VM se encuentran habitualmente en la piel o membranas de las mucosas, pero pueden afectar a cualquier órgano. Típicamente aparecen lesiones tales como masas vasculares esponjosas, azuladas a púrpuras, compuestas de numerosos canales vasculares dilatados delineados por células endoteliales. Entre las formas heredadas de esta enfermedad, el defecto más común parece ser una mutación de la Tie2 quinasa C2545T en la secuencia codificante de Tie2 (Calvert, J.T., *et al.*, 1999 Human Molecular Genetics: 8, 1279-1289), lo cual produce una sustitución de aminoácido R849W en el dominio de quinasa. El análisis de este mutante de Tie2 indica que es activado constitutivamente, incluso en ausencia del ligando (Vikkula, M., *et al.*, 1996 Cell: 87,1181-1190).

El aumento de la expresión de Tie2 también se ha encontrado dentro del paño sinovial vascular de articulaciones artríticas en seres humanos, lo cual es consistente con el papel de una neovascularización inapropiada.

Tales ejemplos proporcionan indicaciones adicionales de que la inhibición de la fosforilación de Tie2, y la transducción subsiguiente de señales, serían útiles para tratar trastornos y otras enfermedades de neovascularización inapropiada. Hasta la fecha sólo se conocen en la técnica unos pocos inhibidores de Tie2.

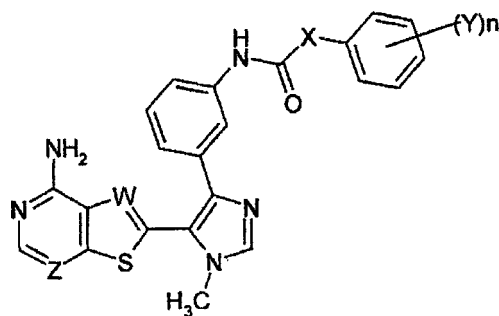
Los inhibidores de Tie2 son conocidos, por ejemplo, a partir de los documentos US2004/0014756 o WO03/022852. Otros inhibidores de proteína quinasas son conocidos a partir de los documentos WO02/062804 y de WO2004/013141.

ES 2 300 977 T3

Existe de este modo la necesidad de identificar inhibidores adicionales de Tie2 que pudieran explotar el potencial terapéutico completo de la inhibición/modulación de las rutas de señalización de Tie2.

Se ha encontrado que ciertos compuestos poseen actividad inhibidora para la tirosina quinasa receptora de Tie2, y en consecuencia son valiosos en el tratamiento de estados mórbidos asociados con angiogénesis patológica, tales como cáncer, artritis reumatoide y otras enfermedades en las que la angiogénesis activa es indeseable.

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de la fórmula I:



Formula I

en la que:

Z se selecciona de N y CH;

W se selecciona de N y CH;

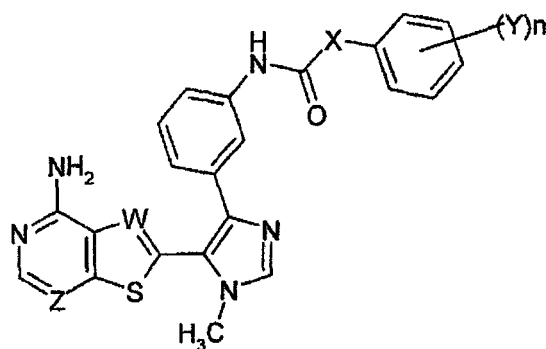
X se selecciona de NH y CH₂;

Y se selecciona de F, Cl, Br y I; y

n es 1, 2 ó 3;

y sales o solvatos del mismo (particularmente sales farmacéuticamente aceptables del mismo).

Según un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de la fórmula I:



Formula I

en la que:

Z es N;

W se selecciona de N y CH;

X se selecciona de NH y CH₂;

Y se selecciona de F, Cl, Br y I; y

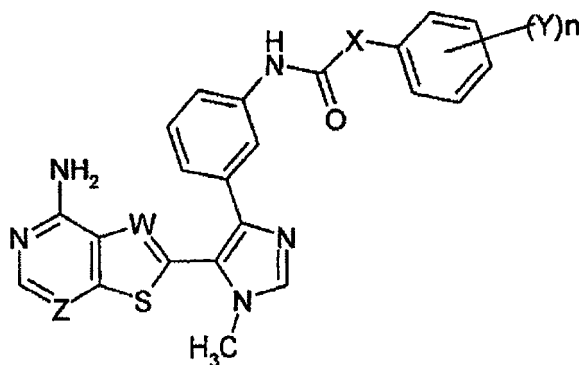
n es 1, 2 ó 3;

y sales o solvatos del mismo (particularmente sales farmacéuticamente aceptables del mismo).

ES 2 300 977 T3

Los compuestos particulares de la presente invención incluyen, por ejemplo, los compuestos de la fórmula I, o sales o solvatos de los mismos (particularmente sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), en la que Z es N, W es N, y X, Y y n son como se definen aquí anteriormente. Los compuestos particulares adicionales de la presente invención incluyen, por ejemplo, compuestos de la fórmula I, o sales o solvatos de los mismos (particularmente sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), en la que Z es N, W es CH, y X, Y y n son como se definen aquí anteriormente.

Según un tercer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula I:



Formula I

en la que:

Z se selecciona de N y CH;

W es N;

X se selecciona de NH y CH₂;

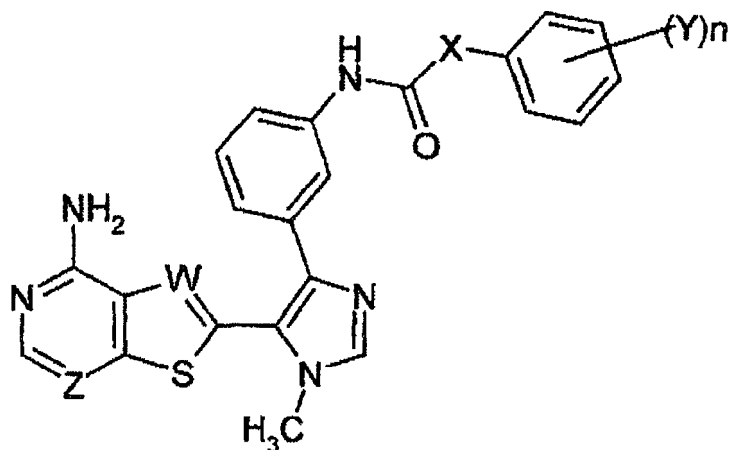
Y se selecciona de F, Cl, Br y I; y

n es 1, 2 ó 3;

y sales o solvatos del mismo (particularmente sales farmacéuticamente aceptables del mismo).

Los compuestos particulares de la presente invención incluyen, por ejemplo, compuestos de la fórmula I, o sales o solvatos de los mismos (particularmente sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), en la que Z es CH, W es N, y X, Y y n son como se definen aquí anteriormente.

Según un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de la fórmula I:



Formula I

en la que:

Z se selecciona de N y CH;

W es CH;

X se selecciona de NH y CH₂;

Y se selecciona de F, Cl, Br y I; y

n es 1, 2 ó 3;

y sales o solvatos del mismo (particularmente sales farmacéuticamente aceptables del mismo).

Los compuestos particulares de la presente invención incluyen, por ejemplo, compuestos de la fórmula I, o sales o solvatos de los mismos (particularmente sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), en la que Z es CH, W es CH, y X, Y y n son como se definen aquí anteriormente.

Como se establece más arriba, en los compuestos de la presente invención, Y se selecciona de fluoro, cloro, bromo e yodo, y se selecciona particularmente de fluoro y cloro.

Se debe entender que cuando n es 2 ó 3, entonces Y puede ser el mismo o diferente.

Los compuestos específicos de la presente invención son uno o más de los siguientes:

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N*-(3-fluorofenil)urea

N-13-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N*-(2-fluorofenil)urea

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N*-(3-clorofenil)urea

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N*-(2-clorofenil)urea

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(3-fluorofenil)acetamida

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(2-fluorofenil)acetamida

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(3-clorofenil)acetamida

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2'-(2-clorofenil)acetamida

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N'*-(3-fluorofenil)urea

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N*-(2-fluorofenil)urea

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N*-(3-clorofenil)urea

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N'*-(2-clorofenil)urea

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(3-fluorofenil)acetamida

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(2-fluorofenil)acetamida

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(3-clorofenil)acetamida

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(2-clorofenil)acetamida

y sales o solvatos de los mismos (particularmente sales farmacéuticamente aceptables de los mismos).

Una sal farmacéuticamente aceptable adecuada de un compuesto de la fórmula I es, por ejemplo, una sal de adición de ácidos de un compuesto de la fórmula I, por ejemplo una sal de adición de ácidos con un ácido inorgánico u orgánico, tal como ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, trifluoroacético, cítrico o maleico; o, por ejemplo, una sal de un compuesto de la fórmula I que sea suficientemente ácida, por ejemplo una sal de metal alcalino o alcalino-térreo, tal como una sal de calcio o de magnesio, o una sal de amonio, o una sal con una base orgánica tal como metilamina, dimetilamina, trimetilamina, piperidina, morfolina o tris(2-hidroxiethyl)amina.

Se entenderá que, puesto que ciertos compuestos de la fórmula I definida anteriormente pueden existir en formas ópticamente activas o racémicas en virtud de uno o más átomos de carbono asimétricos, la invención incluye en su

definición cualquiera de tal forma ópticamente activa o racémica que posea la actividad anteriormente mencionada. La síntesis de formas ópticamente activas se puede llevar a cabo mediante técnicas estándares de química orgánica bien conocidas en la técnica, por ejemplo mediante síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos, o mediante resolución de una forma racémica. De forma similar, la actividad anteriormente mencionada se puede evaluar usando las técnicas de laboratorio estándares citadas en lo sucesivo.

Se entenderá que ciertos compuestos de la fórmula I pueden existir en formas solvatadas así como no solvatadas, tales como, por ejemplo, formas hidratadas. Se entenderá que la invención engloba todas las citadas formas solvatadas que muestren un efecto inhibitor sobre una tirosina quinasa receptora de Tie2.

También se entenderá que ciertos compuestos de la fórmula I pueden mostrar polimorfismo, y que la invención engloba tales formas que muestren un efecto inhibitor sobre una tirosina quinasa receptora de Tie2.

También se entenderá que la invención se refiere a todas las formas tautómeras de los compuestos de la fórmula I, formas las cuales muestran un efecto inhibitor sobre una tirosina quinasa receptora de Tie2.

Aunque se prefieren sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención, también pueden ser útiles otras sales farmacéuticamente no aceptables de los compuestos de la invención, por ejemplo en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención.

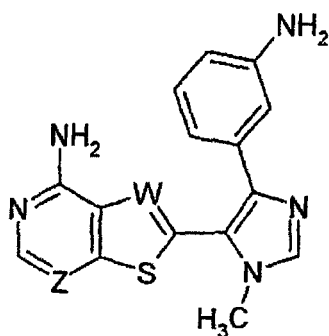
También se proporcionan, como un aspecto adicional de la invención, profármacos de compuestos de la invención como se definen aquí anteriormente o en lo sucesivo. Los compuestos de la invención se pueden administrar en forma de un profármaco que se rompe en el cuerpo humano o animal para dar un compuesto de la Fórmula (I). Los ejemplos de profármacos incluyen amidas hidrolizables *in vivo* de un compuesto de la Fórmula (I).

En la técnica se conocen diversas formas de profármacos. Para ejemplos de tales derivados de profármacos, véase:

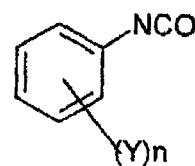
- a) Design of Prodrugs, editado por H. Bundgaard, (Elsevier, 1985) y Methods in Enzymology, Vol. 42 p. 309-396; editado por K. Widder, *et al.* (Academic Press, 1985);
- b) A Textbook of Drug Design y Development, editado por Krogsgaard-Larsen y H. Bundgaard, Capítulo 5 "Design and Application of Prodrugs", por H. Bundgaard p. 113-191 (1991);
- c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1-38 (1992);
- d) H. Bundgaard, *et al.*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988); y
- e) N. Kakeya, *et al.*, Chem Pharm Bull, 32 692 (1984).

Un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede preparar mediante cualquier procedimiento conocido aplicable a la preparación de compuestos químicamente relacionados. Tales procedimientos, cuando se usan para preparar un compuesto de fórmula I, se proporcionan como una característica adicional de la invención, y se ilustran mediante las siguientes variantes representativas del procedimiento. Los materiales de partida necesarios se pueden obtener mediante procedimientos estándares de química orgánica. La preparación de tales materiales de partida se describe en conjunción con las siguientes variantes representativas del procedimiento, y con los Ejemplos que se acompañan. Como alternativa, los materiales de partida necesarios se obtienen mediante procedimientos análogos a los ilustrados que son conocidos por el experto normal de la química orgánica.

Según un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que X es NH, y Z, W, Y y n son como se definen en la fórmula I, procedimiento el cual comprende hacer reaccionar una amina de la fórmula II con un isocianato de la fórmula III



Formula II



Formula III

y después, si es necesario:

- i) convertir un compuesto de la fórmula (I) en otro compuesto de la fórmula (I);
- 5 ii) formar una sal o solvato.

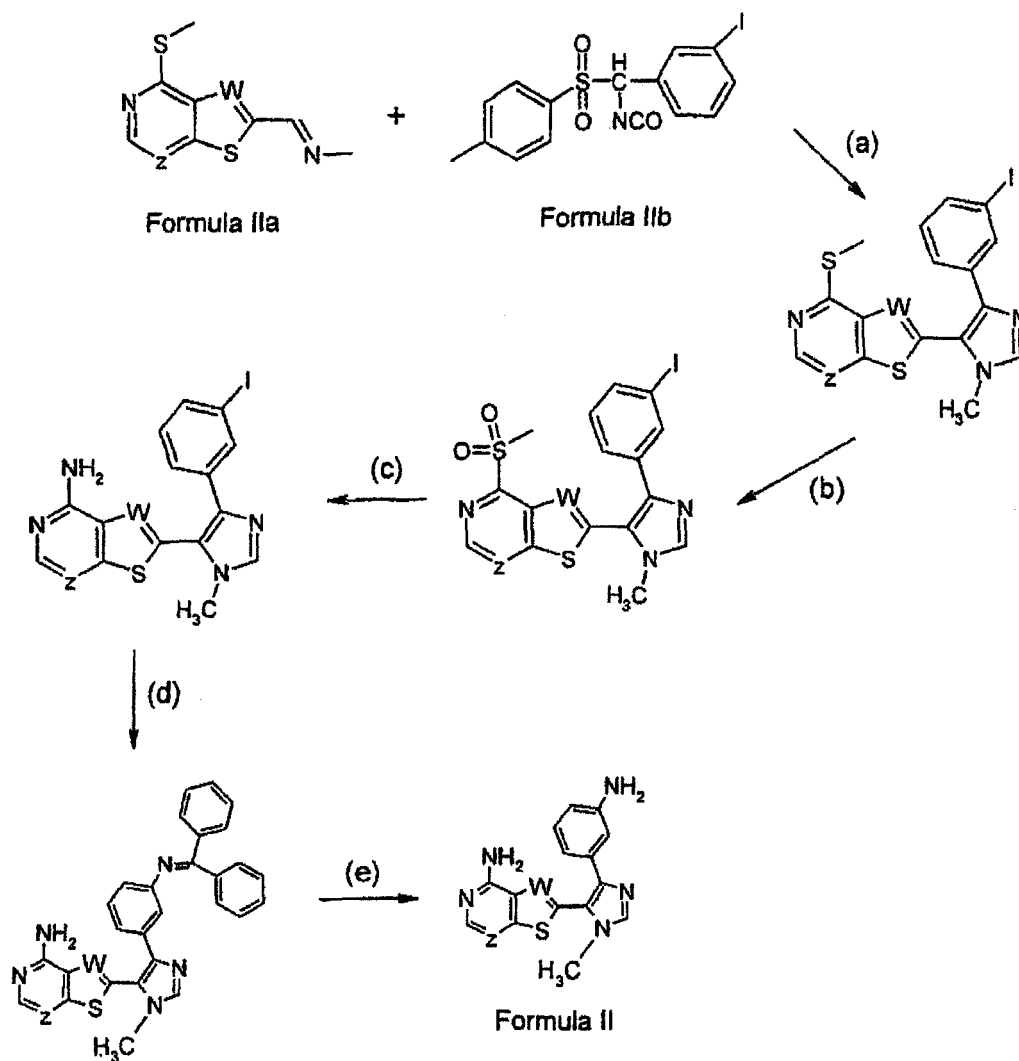
El procedimiento mencionado anteriormente se lleva a cabo convenientemente en un disolvente o diluyente inerte adecuado, tal como un éter, por ejemplo tetrahidrofurano, DMF, DCM, DMA, o piridina. El procedimiento se lleva a cabo preferiblemente a una temperatura menor que 50°C, por ejemplo 0 a 30°C, preferiblemente a temperatura ambiente.

La amina de la fórmula II se puede preparar mediante el esquema de reacción (i) a continuación:

Esquema (i)

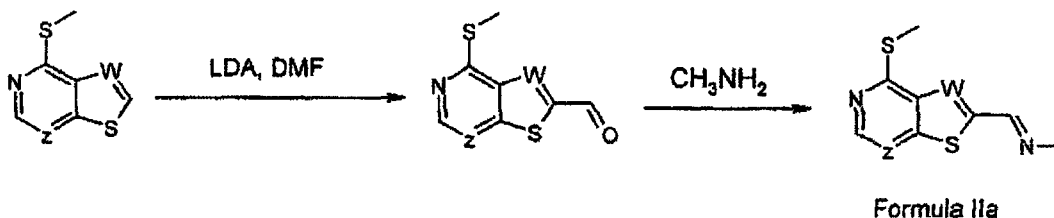
en el que:

- (a) Piperazina en THF
- 20 (b) *m*-CPBA en DCM
- (c) amoníaco acuoso concentrado, en 1,4-dioxano
- (d) Benzofenonimina, 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno, bis(bencilidenacetona)paladio y *tert*-butóxido de sodio en dioxano
- 25 (e) HCl en THF



El compuesto de la fórmula IIa se puede preparar mediante el esquema de reacción (ii) a continuación:

Esquema (ii)



La sulfona de la fórmula IIb se puede preparar mediante la reacción de cloruro de trimetilsililo, 3-yodobenzaldehído, formamida, y ácido toluenosulfónico, para producir {(3-yodofenil)[(4-metilfenil)sulfonyl]metil}-formamida, y después haciendo reaccionar la {(3-yodofenil)[(4-metilfenil)sulfonyl]metil}formamida con oxiclорuro de fósforo para producir la sulfona de la fórmula IIb.

Según otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que X es CH₂, y Z, W, Y y n son como se definen en la fórmula I, procedimiento el cual comprende hacer reaccionar una amina de la fórmula II con un cloruro de acilo o éster de acilo apropiado, según apreciará la persona experta.

Cuando se requiera una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la fórmula I, por ejemplo una sal de adición de ácidos, se puede obtener, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto de la fórmula I con un ácido adecuado, tal como ácido clorhídrico, usando un procedimiento convencional. Cuando se requiera la forma de base libre del compuesto de fórmula I, se puede tratar una sal de adición de ácidos, del compuesto de fórmula I, con una base adecuada, por ejemplo, una base de amina orgánica, tal como, por ejemplo, piridina, 2,6-lutidina, colidina, 4-dimetilaminopiridina, trietilamina, morfolina, N-metilmorfolina o diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno, o, por ejemplo, un carbonato o hidróxido de metal alcalino o alcalino-térreo, por ejemplo carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de calcio, hidróxido de sodio o hidróxido de potasio.

Algunos compuestos de fórmula I son capaces de existir en formas estereoisómeras. Se entenderá que la invención engloba a todos los isómeros geométricos y ópticos de los compuestos de fórmula I, y sus mezclas, incluyendo los racematos. Los tautómeros y sus mezclas también forman un aspecto de la presente invención.

Los isómeros se pueden resolver o separar mediante técnicas convencionales, por ejemplo cromatografía o cristalización fraccionada. Los enantiómeros se pueden aislar mediante la separación de una mezcla racémica u otra mezcla de los compuestos usando técnicas convencionales (por ejemplo, cromatografía de líquidos de altas prestaciones (HPLC) quiral). Como alternativa, los isómeros ópticos deseados se pueden obtener haciendo reaccionar los materiales de partida ópticamente activos adecuados, en condiciones que no provocarán la racemización, o mediante derivación, por ejemplo con un ácido homóquiral, seguido de la separación de los derivados diastereoméricos por medios convencionales (por ejemplo, HPLC, cromatografía sobre sílice); o se pueden obtener con materiales de partida quirales y reactivos quirales. Todos los estereoisómeros están incluidos dentro del alcance de la invención.

Los compuestos de la invención se pueden aislar a partir de sus mezclas de reacción, usando técnicas convencionales.

Se apreciará que en algunas de las reacciones mencionadas aquí puede ser necesario/deseable proteger cualquiera de los grupos sensibles en los compuestos. Los casos en los que es necesaria o deseable la protección, y los métodos adecuados para la protección, son conocidos por los expertos en la técnica. Se pueden usar grupos protectores convencionales según la práctica estándar (para una ilustración véase T.W. Green, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, 1991). De este modo, si los agentes reaccionantes incluyen grupos tales como amino, carboxi o hidroxilo, puede ser deseable proteger el grupo en algunas de las reacciones mencionadas aquí. Los grupos protectores se pueden eliminar mediante cualquier método conveniente, como se describe en la bibliografía o es conocido por el químico experto como apropiado para la eliminación del grupo protector en cuestión, eligiéndose tales métodos para que efectúen la eliminación del grupo protector con la perturbación mínima de cualesquiera otros grupos en la molécula.

Más abajo se dan, en aras de la conveniencia, ejemplos específicos de grupos protectores, en los que "inferior", como en, por ejemplo, alquilo inferior, significa que el grupo al que se aplica tiene preferiblemente 1-4 átomos de carbono. Se entenderá que estos ejemplos no son exhaustivos. Cuando más abajo se den ejemplos específicos de métodos para la eliminación de grupos protectores, estos serán similarmente no exhaustivos. El uso de grupos protectores y métodos de desprotección no mencionados específicamente está, por supuesto, dentro del alcance de la invención.

Un grupo protector de carboxi puede ser el resto de un alcohol alifático o arilalifático formador de éster, o de un silanol formador de éster (conteniendo dicho alcohol o silanol preferiblemente 1-20 átomos de carbono). Ejemplos de grupos protectores de carboxi incluyen grupos alquilo (C1-12) de cadena lineal o ramificada (por ejemplo isopropilo, y terc-butilo); grupos alcoxi inferior-alquilo inferior (por ejemplo metoximetilo, etoximetilo e isobutoximetilo); grupos aciloxi inferior-alquilo inferior (por ejemplo acetoximetilo, propioniloximetilo, butiriloximetilo y pivaloiloximetilo); grupos alcocixarboniloxi inferior-alquilo inferior (por ejemplo -metoxicarboniloxietilo y 1-etoxicarboniloxietilo); grupos aril-alquilo inferior (por ejemplo bencilo, 4-metoxibencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrobencilo, benzhidrido y ftalidilo); grupos tri(alquilo inferior)sililo (por ejemplo trimetilsililo y terc-butildimetilsililo); grupos tri(alquilo inferior)silil-alquilo inferior (por ejemplo trimetilsililetilo); y grupos alquenoilo (C2-6) (por ejemplo alilo). Los métodos particularmente apropiados para la eliminación de grupos protectores de carboxilo incluyen, por ejemplo, la escisión catalizada por ácidos, bases, metales o enzimáticamente.

Ejemplos de grupos protectores de hidroxilo incluyen grupos alquilo inferior (por ejemplo terc-butilo), grupos alquenoilo inferior (por ejemplo alilo); grupos alcanoilo inferior (por ejemplo acetilo); grupos alcocixarbonilo inferior (por ejemplo terc-butoxicarbonilo); grupos alquenoiloxicarbonilo inferior (por ejemplo aliloxicarbonilo); grupos aril-alcocixarbonilo inferior (por ejemplo benciloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, 2-nitrobenciloxicarbonilo y 4-nitrobenciloxicarbonilo); grupos tri(alquilo inferior)sililo (por ejemplo trimetilsililo y terc-butildimetilsililo) y aril-alquilo inferior (por ejemplo bencilo).

Los ejemplos de grupos protectores de amino incluyen formilo, grupos aril-alquilo inferior (por ejemplo bencilo y bencilo sustituido, 4-metoxibencilo, 2-nitrobencilo y 2,4-dimetoxibencilo, y trifenilmetilo); grupos di-4-anisilmetilo y furilmetilo; alcocixarbonilo inferior (por ejemplo terc-butoxicarbonilo); alquenoiloxicarbonilo inferior (por ejemplo aliloxicarbonilo); grupos aril-alcocixarbonilo inferior (por ejemplo benciloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, 2-nitrobenciloxicarbonilo y 4-nitrobenciloxicarbonilo); trialkilsililo (por ejemplo trimetilsililo y terc-butildimetilsililo); alquilideno (por ejemplo metilideno) y bencilideno, y bencilideno sustituido.

Los métodos apropiados para la eliminación de grupos protectores de hidroxilo y de amino incluyen, por ejemplo, la hidrólisis catalizada por ácidos, bases, metales o enzimáticamente para grupos tales como 2-nitrobenciloxicarbonilo; la hidrogenación para grupos tales como bencilo; y fotolíticamente para grupos tales como 2-nitrobenciloxicarbonilo.

También se apreciará que algunos de los diversos sustituyentes del anillo en los compuestos de la presente invención se pueden introducir mediante reacciones estándar de sustitución aromática, o se pueden generar mediante modificaciones convencionales de grupos funcionales, bien antes o inmediatamente después de los procesos mencionados anteriormente, y como tales se incluyen en el aspecto de procedimiento de la invención. Tales reacciones y modificaciones incluyen, por ejemplo, la introducción de un sustituyente por medio de una reacción de sustitución aromática, la reducción de sustituyentes, la alquilación de sustituyentes y la oxidación de sustituyentes. Los reactivos y las condiciones de reacción para tales procedimientos son bien conocidos en la técnica química. Un ejemplo particular de una reacción de sustitución aromática incluye la introducción de un grupo halógeno.

40 **Ensayos biológicos**

Los siguientes ensayos se pueden usar para medir los efectos de los compuestos de la presente invención como inhibidores *in vitro* de Tie2, y como inhibidores de la autofosforilación de Tie2 en células completas.

45 a. *Ensayo de inhibición in vitro de tirosina quinasa receptora*

Para ensayar la inhibición de tirosina quinasa receptora de Tie2, los compuestos se evalúan en un ensayo de proteína quinasa no basado en células, mediante su capacidad para inhibir la fosforilación de la proteína quinasa enzimática de un sustrato polipeptídico que contiene tirosina, en un ensayo de placa de microtitulación a base de ELISA. En este caso particular, el ensayo se basó en la determinación de IC₅₀ para tres tirosina quinasas humanas recombinantes diferentes, Tie2, KDR y Flt.

Para facilitar la producción de las tirosina quinasas, se produjeron genes de receptores recombinantes usando técnicas estándar de clonación de biología molecular y mutagénesis. Estos fragmentos proteínicos recombinantes codificados dentro de estos genes consisten solamente en la porción C-terminal de la porción intracelular del receptor respectivo, en la cual se encuentra el dominio de quinasa. Los genes recombinantes que codifican los fragmentos que contienen el dominio de quinasa se clonaron y se expresaron en un sistema de baculovirus/Sf21 estándar (o en un equivalente alternativo).

Los lisados se prepararon a partir de las células de insecto hospedante, tras la expresión proteínica mediante tratamiento con tampón de lisis (20 mM de ácido N-2-hidroxietilpiperazin-N'-2-etanosulfónico (HEPES) pH 7,5, 150 mM de NaCl, glicerina al 10%, 1% de Triton X-100, 1,5 mM de MgCl₂, 1 mM de ácido etilenglicol-bis(β-aminoetiléter)-N',N',N',N'-tetraacético (EGTA)) enfriado con hielo, más inhibidores de proteasa, y después se aclaró mediante centrifugación. Los lisados de Tie2, KDR y Flt1 se almacenaron en alícuotas a -80°C.

La actividad de quinasa constitutiva de estas proteínas recombinantes se determinó mediante su capacidad para fosforilar un péptido sintético (formado por un copolímero al azar de ácido glutámico, alanina y tirosina, en la relación de 6:3:1). Específicamente, se revistieron inmunoplaacas de 96 pocillos Nunc Maxisorb™ con 100 microlitros de

ES 2 300 977 T3

péptido sintético Sigma P3899 (disolución madre de 1 mg/ml en PBS, diluida 1:500 en PBS antes del revestimiento de las placas), y se incubaron a 4°C toda la noche. Las placas se lavaron en 50 mM de HEPES pH 7,4, a temperatura ambiente, para eliminar cualquier exceso de péptido sintético no unido.

5 Las actividades de Tie2, KDR o Flt1 se evaluaron incubando los lisados apropiados, recientemente diluidos (1:200, 1:400 y 1:1000, respectivamente), en placas revestidas con péptidos, durante 60 minutos (Tie2) o 20 minutos para (KDR, Flt) a temperatura ambiente en 100 mM de HEPES pH 7,4, trifosfato de adenosina (ATP) a 5 micromolar (o concentración de Km para la enzima respectiva, 10 mM de MnCl₂, 0,1 mM de Na₃VO₄, 0,2 mM de DL-ditiotreitol (DTT), 0,1% de Triton X-100, junto con el compuesto o compuestos de ensayo disueltos en DMSO (concentración
10 final de 2,5%), oscilando las concentraciones finales de los compuestos desde 0,05 micromolar hasta 100 micromolar. Las reacciones se terminaron eliminando los componentes líquidos del ensayo, y lavando después las placas con PBS-T (disolución salina tamponada con fosfato, con 0,5% de Tween 20), o con un tampón de lavado equivalente alternativo.

15 El producto fosfopeptídico inmovilizado de la reacción se detectó mediante métodos inmunológicos. En primer lugar, las placas se incubaron durante 4 horas a temperatura ambiente con anticuerpos monoclonales murinos anti-fosfotirosina conjugada con HRP (peroxidasa de rábano picante) (4G10 de Upstate Biotechnology UBI 16-105). Tras el lavado intenso con PBS-T, la actividad de HRP en cada pocillo de la placa se midió colorimétricamente usando como sustrato cristales de la sal de diamonio de 2,2'-azino-di-[sulfonato (6) de 3-etilbenzotiazolina], ABTS (Sigma
20 P4922 - preparados según las instrucciones del fabricante), se incubó durante 30-40 minutos para permitir el desarrollo del color, antes de añadir 100 µl de 1M de H₂SO₄ para detener la reacción.

La cuantificación del desarrollo del color, y de este modo de la actividad enzimática, se logró midiendo la absorbancia a 405 nm en un lector de microplacas Thermomax de Molecular Devices. La inhibición de quinasa para un
25 compuesto dado se expresó como un valor de IC₅₀. Éste se determinó calculando la concentración de compuesto que se necesitó para dar una inhibición de 50% de la fosforilación en este ensayo. El intervalo de fosforilación se calculó a partir de los valores del control positivo (vehículo más ATP) y negativo (vehículo menos ATP).

b. Ensayo de autofosforilación de Tie2 celular

30 Este ensayo se basa en la medición de la capacidad de los compuestos para inhibir la autofosforilación del receptor de Tie2, lo que normalmente conduce a la producción de receptor "activado" que, a su vez, inicia las rutas de transducción de señal particulares asociadas con la función del receptor.

35 La autofosforilación se puede lograr mediante una variedad de medios. Se sabe que la expresión de dominios de quinasa recombinante, en sistemas baculovíricos, puede conducir a la producción de receptor fosforilado y activado. También se da a conocer que la sobreexpresión de receptores en estirpes celulares recombinantes puede conducir ella misma a la autofosforilación del receptor en ausencia del ligando (Heldin C-H. 1995 Cell: 80, 213-223; Blume-
40 J. P, Hunter T. 2001 Nature: 411, 355-65). Además, hay numerosos ejemplos de la bibliografía en los que se han construido receptores quiméricos. En estos casos, el dominio de la superficie celular externo, natural, del receptor se ha sustituido por el de un dominio que se sabe que se dimeriza fácilmente vía la adición del ligando apropiado (por ejemplo, el ligando TrkA-Tie2/NGF (Marron, M.B., *et al.*, 2000 Journal of Biological Chemistry: 275:39741-39746) o el ligando C-fms-Tie-1/CSF-1 (Kontos, C.D., *et al.*, 2002 Molecular and Cellular Biology: 22, 1704-1713). De este modo, cuando se añade el receptor quimérico expresado en un estirpe celular hospedante, y el ligando respectivo, esto
45 induce la autofosforilación del dominio de quinasa del receptor quimérico. Este enfoque tiene la ventaja de permitir a menudo que se use un ligando conocido (y que se obtiene fácilmente a menudo) en lugar de tener que identificar y aislar el ligando natural para cada receptor de interés.

Naturalmente, si el ligando está disponible, se pueden usar estirpes celulares naturales, o células primarias que se
50 sabe que expresan el receptor de elección, y se pueden estimular simplemente con el ligando para lograr la fosforilación inducida por el ligando. La capacidad de los compuestos para inhibir la autofosforilación del receptor de Tie2, que se expresa por ejemplo en células EA.hy926B3 (suministradas por J. McLean/ B. Tuchi, Univ. of N. Carolina en Chapel Hill, CB- 4100, 300 Bynum Hall, Chapel Hill, N.C. 27599-41000, USA) o HUVEC primarias (células endoteliales de la vena umbilical humana - disponibles de diversas fuentes comerciales), se puede medir mediante este ensayo.

55 El ligando Ang1 natural se puede aislar usando tecnología de purificación estándar, ya sea a partir de sobrenadantes de células tumorales, o bien, como alternativa, el gen de Ang1 se puede clonar y expresar recombinantemente usando técnicas de biología molecular y sistemas de expresión estándar. En este caso, se puede intentar producir el ligando en su estado natural, o como proteína recombinante, que por ejemplo se puede haber manipulado genéticamente mediante
60 ingeniería para que contenga marcadores de purificación adicionales (por ejemplo péptidos de polihistidina, dominios de Fc de anticuerpos), para facilitar el proceso.

Usando la estimulación con ligandos, ya sea del receptor de Tie2 celular de EA.hy926B3 o de HUVEC, como ejemplo, se puede construir un ensayo de fosforilación del receptor celular estimulado mediante el ligando Ang1,
65 ensayo el cual se puede usar para determinar el potencial de los compuestos para inhibir este proceso. Por ejemplo, las células EA.hy926/B3 se hicieron crecer en medio de cultivo de tejidos apropiado más 10% de suero fetal de ternero (FCS) durante dos días en placas de 6 pocillos, partiendo de una densidad de siembra inicial de 5x10⁵ células/pocillo. Al tercer día, las células son privadas de suero durante un total de dos horas, sustituyendo el medio previo con un

medio que sólo contiene 1% de FCS. Después de 1 hora y 40 minutos de privación del suero, el medio se elimina y se sustituye por 1 ml de diluciones del compuesto de ensayo (diluciones del compuesto obtenidas en medio privado de suero, pero manteniendo la concentración de DMSO por debajo de 0,8%). Después de 1,5 horas de privación del suero, se añadió ortovanadato hasta una concentración final de 0,1 mM durante los 10 últimos minutos de privación del suero.

Después de un total de 2 horas de privación del suero, se añadió el ligando más ortovanadato, para estimular la autofosforilación del receptor de Tie2 celular (el ligando se puede añadir ya sea como un material purificado diluido en medio de privación del suero, o bien como ligando que contiene sobrenadante celular no purificado, por ejemplo cuando células de mamífero expresadas recombinantemente).

Después de 10 minutos de incubación a 37°C con el ligando, las células se enfriaron en hielo, se lavaron con aproximadamente 5 ml con PBS frío que contiene 1 mM de ortovanadato, después de lo cual se añadió a las células 1 ml de tampón de lisis (20 mM de Tris pH 7,6, 150 mM de NaCl, 50 mM de NaF, 0,1% de SDS, 1% de NP40, 0,5% de DOC, 1 mM de ortovanadato, 1 mM de EDTA, 1 mM de PMSF, 30 µl/ml de aprotinina, 10 µg/ml de pepstatina, 10 µg/ml de leupeptina) enfriado en hielo, y se dejaron en hielo durante 10-20 minutos. El lisado se eliminó y se transfirió a un tubo Eppendorf de 1,5 ml, y se centrifugó durante 3 minutos a 13000 rpm a 4°C. Se transfirieron 800 µl de cada lisado a tubos Eppendorf de 2 ml recientes, para la inmunoprecipitación. Se añadieron a los lisados 3 mg = 15 µl de anticuerpo anti-fosfotirosina (Santa Cruz PY99 -sc-7020), y se dejó incubar durante 2 horas a 4°C. Se añadieron 600 µl de perlas MagnaBind lavadas (anti-IgG de ratón de cabra, Pierce 21354) a los lisados, y los tubos se dejaron girar toda la noche a 4°C.

Las muestras se trataron durante 1 minuto en el imán antes de eliminar cuidadosamente el sobrenadante de la lisis. Después se añadió 1 ml de tampón de lisis a las perlas, y esta etapa se repitió dos veces más. Las perlas se suspendieron en 25 µl de 2 X de tampón de carga de Laemmli caliente a 94°C más betamercaptoetanol, y se dejaron reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente.

Las perlas se eliminaron exponiendo los tubos durante un minuto en el imán, y el líquido total se separó de las perlas de cada inmunoprecipitado cargado en geles de proteína de poliacrilamida/SDS (geles de 12 pocillos premoldeados con 4-12% de BisTris NuPAGE/MOPS, de Novex). Los geles de proteína se ensayaron a 200 V, y después se transfirieron sobre una membrana de NC durante 1 hora y 30 minutos a 50V/250 mA. Todas las transferencias se trataron con 5% de Marvel en PBS-Tween durante 1 hora a temperatura ambiente, para reducir la unión no específica del anticuerpo de detección. Se añadió anti-Tie2 de conejo (Santa Cruz sc-324), en una dilución 1:500 en 0,5% de Marvel/PBS-Tween, y se dejó incubar toda la noche a 4°C. Las transferencias se lavaron rigurosamente con PBS-Tween antes de añadir el conjugado de anti-POD de conejo de cabra (Dako P0448), a una dilución 1:5000 en 0,5% de Marvel/PBS-Tween. El anticuerpo se dejó durante una hora a temperatura ambiente antes de lavar subsiguientemente las transferencias con PBS-Tween. Las transferencia Western de las diversas muestras inmunoprecipitadas se desarrollaron con LumiGLO (NEB 7003) y se transfirieron a un casete de radios X, y las películas se expusieron durante 15 segundos/30 segundos y 60 segundos. La potencia relativa de la banda de proteína que pertenece al receptor de Tie2 fosforilado se evaluó usando un sistema analizador de imágenes FluorS BioRad. Se determinó el porcentaje de fosforilación para cada serie de diluciones de compuesto de ensayo, porcentaje a partir del cual se calcularon los valores de IC₅₀ mediante métodos estándar usando como referencia las muestras de control apropiadas.

Aunque las propiedades farmacológicas de los compuestos de la fórmula I varían con el cambio estructural como era de esperar, en general la actividad que poseen los compuestos de la fórmula I se puede demostrar a las siguientes concentraciones o dosis, en uno o más de los ensayos (a) y (b):

Ensayo (a): IC₅₀ en el intervalo de, por ejemplo, < 100 µM;

Ensayo (b): IC₅₀ en el intervalo de, por ejemplo, < 50 µM;

Por ejemplo, el Ejemplo 1 tuvo una IC₅₀ de 16 µM en el Ensayo (a), y una IC₅₀ de 0,4 µM en el Ensayo (b).

Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones de la invención pueden estar en una forma adecuada para uso oral (por ejemplo como comprimidos, pastillas, cápsulas duras o blandas, suspensiones acuosas u oleosas, emulsiones, polvos dispersables o gránulos, jarabes o elixires), para uso tópico (por ejemplo como cremas, ungüentos, geles, o disoluciones o suspensiones acuosas u oleosas), para administración mediante inhalación (por ejemplo, como un polvo finamente dividido o un aerosol líquido), para la administración mediante insuflación (por ejemplo, como un polvo finamente dividido) o para administración parenteral (por ejemplo, como una disolución estéril acuosa u oleosa para dosificación intravenosa, subcutánea o intramuscular, o como un supositorio para dosificación rectal).

Las composiciones de la invención se pueden obtener mediante procedimientos convencionales usando excipientes farmacéuticos convencionales, bien conocidos en la técnica. De este modo, las composiciones destinadas a uso oral pueden contener, por ejemplo, uno o más agentes colorantes, edulcorantes, aromatizantes y/o conservantes.

La cantidad de ingrediente activo que se combina con uno o más excipientes para producir una forma de dosificación individual variará necesariamente dependiendo del hospedante tratado y de la vía particular de administración. Por ejemplo, una formulación destinada a la administración oral a seres humanos generalmente contendrá, por ejemplo, de 0,5 mg hasta 0,5 g de agente activo (más adecuadamente, de 0,5 hasta 100 mg, por ejemplo de 1 hasta 30 mg) en composición con una cantidad apropiada y conveniente de excipientes, que puede variar desde alrededor de 5 hasta alrededor de 98 por ciento en peso de la composición total.

El tamaño de la dosis para fines terapéuticos o profilácticos de un compuesto de la fórmula I variará naturalmente según la naturaleza y gravedad de las afecciones, según la edad y sexo del animal o paciente, y según la vía de administración, de acuerdo con principios bien conocidos de medicina.

Al usar un compuesto de la fórmula I con fines terapéuticos o profilácticos, generalmente se administrará de forma que se reciba una dosis diaria en el intervalo de, por ejemplo, 0,1 mg/kg hasta 75 mg/kg de peso corporal, dada, si se requiere, en dosis divididas. En general, cuando se emplee una vía parenteral, se administrarán dosis más bajas. De este modo, por ejemplo, para administración intravenosa, generalmente se usará una dosis en el intervalo de, por ejemplo, 0,1 mg/kg hasta 30 mg/kg de peso corporal. De forma similar, para la administración por inhalación, se usará una dosis en el intervalo de, por ejemplo, 0,05 mg/kg hasta 25 mg/kg de peso corporal. Sin embargo, se prefiere la administración oral, particularmente en forma de comprimido. Típicamente, las formas de dosificación unitaria contendrán alrededor de 0,5 mg hasta 0,5 g de un compuesto de esta invención.

Los compuestos según la presente invención, como se definen aquí, son de interés, entre otras razones, por su efecto antiangiogénico. Es de esperar que los compuestos de la invención sean útiles en la tratamiento o profilaxis de una amplia variedad de estados mórbidos asociados con la angiogénesis indeseable o patológica, incluyendo cáncer, diabetes, psoriasis, artritis reumatoide, sarcoma de Kaposi, hemangioma, linfedema, nefropatías agudas y crónicas, ateroma, restenosis arterial, enfermedades autoinmunitarias, inflamación aguda, formación excesiva de escamación y cicatrizaciones, endometriosis, metrorragia funcional, y enfermedades oculares con proliferación de vasos retinianos. El cáncer puede afectar a cualquier tejido, e incluye leucemia, mieloma múltiple y linfoma. En particular, es de esperar que tales compuestos de la invención ralenticen ventajosamente el crecimiento de tumores sólidos primarios y recurrentes de, por ejemplo, colon, mama, próstata, pulmones y piel.

Se cree que las propiedades antiangiogénicas de los compuestos según la presente invención surgen de sus propiedades inhibitorias de tirosinas quinasas receptoras de Tie2. En consecuencia, se espera que los compuestos de la presente invención sean útiles para producir un efecto inhibidor de Tie2 en un animal de sangre caliente que requiera de este tratamiento. De este modo, los compuestos de la presente invención se pueden usar para producir un efecto antiangiogénico mediado solo o en parte por la inhibición de tirosina quinasa receptora de Tie2.

Más particularmente, se espera que los compuestos de la invención inhiban cualquier forma de cáncer asociado con Tie2. Por ejemplo, el crecimiento de aquellos tumores sólidos primarios y recurrentes que estén asociados con Tie2, especialmente de aquellos tumores que dependan significativamente de la tirosina quinasa receptora de Tie2 para su crecimiento y expansión.

Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente, para uso como un medicamento.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente, en la fabricación de un medicamento para uso como un inhibidor de tirosina quinasa receptora de Tie2 en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente, en la fabricación de un medicamento para uso en la producción de un efecto antiangiogénico en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de cánceres en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de un cáncer seleccionado de leucemia, cáncer de mama, de pulmón, de colon, rectal, de estómago, de próstata, de vejiga, de páncreas, ovárico, de linfoma, testicular, de neuroblastoma, hepático, de conductos biliares, de células renales, uterino, de tiroides y de piel, en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para inhibir tirosina quinasa receptora de Tie2 en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que requiera de este tratamiento, que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para producir un efecto antiangiogénico en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que requiera de este tratamiento, que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se definió anteriormente.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para tratar cánceres en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que requiera de este tratamiento, que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un método para tratar un cáncer seleccionado de leucemia, cáncer de mama, de pulmón, de colon, rectal, de estómago, de próstata, de vejiga, de páncreas, ovárico, de linfoma, testicular, de neuroblastoma, hepático, de conductos biliares, de células renales, uterino, de tiroides o de piel, en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que requiera de este tratamiento, que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable, como se define aquí anteriormente.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula I, o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente, para uso en la inhibición de tirosina quinasa receptora de Tie2 en un animal de sangre caliente, tal como el hombre.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente, para uso en la producción de un efecto antiangiogénico en un animal de sangre caliente, tal como el hombre.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente, para uso en el tratamiento de cáncer.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define aquí anteriormente, para uso en el tratamiento de un cáncer seleccionado de leucemia, cáncer de mama, de pulmón, de colon, rectal, de estómago, de próstata, de vejiga, de páncreas, ovárico, de linfoma, testicular, de neuroblastoma, hepático, de conductos biliares, de células renales, uterino, de tiroides o de piel.

Como se mencionó aquí anteriormente, se espera además que un compuesto de la presente invención poseerá actividad frente a otras enfermedades mediadas por angiogénesis indeseable o patológica, incluyendo psoriasis, artritis reumatoide, sarcoma de Kaposi, hemangioma, linfodema, nefropatías agudas y crónicas, ateroma, restenosis arterial, enfermedades autoinmunitarias, inflamación aguda, formación excesiva de cicatrices y adhesiones, endometriosis, metrorragia funcional, y enfermedades oculares con proliferación de vasos retinianos.

La actividad antiangiogénica definida aquí se puede aplicar como una terapia única, o puede incluir, además de un compuesto de la invención, una o más sustancias y/o tratamientos. Tal tratamiento conjunto se puede lograr por medio de la administración simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales de tratamiento. En el campo de la oncología médica, es una práctica normal usar una combinación de formas diferentes de tratamiento para tratar a cada paciente con cáncer. En la oncología médica, el otro u otros componentes de este tratamiento conjunto, además del tratamiento inhibidor del ciclo celular definido aquí anteriormente, pueden ser: cirugía, radioterapia o quimioterapia. Tal quimioterapia puede incluir una o más de las siguientes categorías de agentes antitumorales:

- (i) agentes anti-invasión (por ejemplo, inhibidores de metaloproteinasas, como marimastat, e inhibidores de la función del receptor del activador de plasminógeno uroquinasa);
- (ii) fármacos antiproliferativos/antineoplásicos, y combinaciones de los mismos, como se usan en oncología médica, tales como agentes alquilantes (por ejemplo cis-platino, carboplatino, ciclofosfamida, mostaza nitrogenada, melfalán, clorambucilo, busulfán y nitrosoureas); antimetabolitos (por ejemplo, antifolatos tales como fluoropirimidinas como 5-fluorouracilo y tegafur, raltitrexed, metotrexato, arabinósido de citosina, e hidroxiurea; o, por ejemplo, uno de los antimetabolitos preferidos descritos en la Solicitud de Patente Europea n° 562734, tal como ácido (2S)-2-{[O-fluoro-p-[N-{2,7-dimetil-4-oxo-3,4-dihidroquinazolin-6-ilmetil)-N-(prop-2-inil)amino]benzamido)-4-(tetrazol-5-il)butírico); antibióticos antitumorales (por ejemplo, antraciclinas como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarrubicina, mitomicina C, dactinomicina y mitramicina); agentes antimetabólicos (por ejemplo, alcaloides de la vinca como vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina, y taxoides como taxol y taxotere); e inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo, epipodofilotoxinas como etopósido y tenipósido, amsacrina, topotecán y camptotecina);
- (iii) agentes citostáticos tales como antiestrógenos (por ejemplo tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno y yodoxifeno), antiandrógenos (por ejemplo bicalutamida, flutamida, nilutamida y acetato de ciproterona), antagonistas de LHRH o agonistas de LHRH (por ejemplo goserelina, leuprorelina y buserelina), progestágenos (por ejemplo acetato de megestrol), inhibidores de aromatasas (por ejemplo como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano), e inhibidores de 5 α -reductasa tales como finasterida;

- (iv) inhibidores de la función del factor de crecimiento, por ejemplo tales inhibidores incluyen anticuerpos del factor de crecimiento, anticuerpos del receptor del factor de crecimiento, inhibidores de farnesil transferasas, inhibidores de tirosina quinasas e inhibidores de serina/treonina quinasas, por ejemplo inhibidores de la familia del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, los inhibidores de tirosina quinasas de la familia de EGFR, tales como N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (ZD1839), N-(3-etinilfenil)-6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-amina (CP 358774) y 6-acrilamido-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (CI 1033)), por ejemplo inhibidores de la familia del factor del crecimiento derivado de plaquetas y, por ejemplo, inhibidores de la familia del factor de crecimiento de hepatocitos;
- (v) agentes antiangiogénicos que funcionan mediante mecanismos diferentes a los definidos aquí anteriormente, tales como aquellos que inhiben el factor de crecimiento endotelial vascular, tales como los compuestos descritos en las Solicitudes de Patentes Internacionales WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 y WO 98/13354, y aquellos que funcionan mediante otros mecanismos (por ejemplo linomida, inhibidores de la función $\alpha v \beta 3$ de integrina, y angiostatina);
- (vi) enfoques bioterapéuticos, por ejemplo aquellos que usen péptidos o proteínas (tales como anticuerpos o construcciones de dominios de receptor externos solubles), los cuales secuestran ligandos de receptores, bloqueen la unión del ligando al receptor, o reducen la señalización del receptor (por ejemplo debido a la degradación potenciada del receptor, o a niveles de expresión más bajos);
- (vii) terapias antisentido, por ejemplo las que van dirigidas contra las dianas enumeradas anteriormente, tales como ISIS 2503, un antisentido anti-ras;
- (viii) enfoques de terapia génica, incluyendo, por ejemplo, enfoques para sustituir genes aberrantes, tales como p53 aberrante o BRCA1 or BRCA2 aberrante, enfoques de GDEPT (terapia de profármaco y enzima dirigida por genes), tales como aquellos que usan citosina desaminasa, timidina quinasa o una enzima de nitrorreductasa bacteriana, y enfoques para incrementar la tolerancia del paciente a la quimioterapia o radioterapia, tales como la terapia génica de resistencia a múltiples fármacos; y
- (ix) enfoques inmunoterapéuticos, incluyendo, por ejemplo, enfoques *ex vivo* e *in vivo* para incrementar la inmunogenicidad de las células tumorales del paciente, tales como la transfección con citoquinas tales como interleuquina 2, interleuquina 4 o el factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos, enfoques para disminuir la anergia de las células T, enfoques que usan células inmunitarias transfectadas, tales como células dendríticas transfectadas con citoquinas, enfoques que usan estirpes celulares tumorales transfectadas con citoquinas, y enfoques que usan anticuerpos anti-idiotípicos.

Tal tratamiento conjunto se puede lograr mediante la dosificación simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento. Tales productos de combinación emplean los compuestos de esta invención dentro del intervalo de dosificación descrito aquí anteriormente, y los otros agentes farmacéuticamente activos dentro de su intervalo de dosificación aceptado.

Según este aspecto de la invención, se proporciona un producto farmacéutico que comprende un compuesto de la fórmula I como se define aquí anteriormente, y un agente antitumoral adicional como se define aquí anteriormente, para el tratamiento conjunto del cáncer.

Además de su uso en medicina terapéutica, los compuestos de fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables también son útiles como herramientas farmacológicas en el desarrollo y estandarización de sistemas de ensayo *in vitro* e *in vivo*, para la evaluación de los efectos de inhibidores de la actividad del ciclo celular en animales de laboratorio tales como gatos, perros, conejos, monos, ratas y ratones, como parte de la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos.

La invención se ilustrará ahora mediante los siguientes ejemplos no limitantes, en los que, excepto que se establezca de otro modo:

- (i) las temperaturas se dan en grados Celsius (°C); las operaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente, esto es, a una temperatura en el intervalo de 18-25°C;
- (ii) las disoluciones orgánicas se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro; la evaporación del disolvente se llevó a cabo usando un evaporador giratorio a presión reducida (600-4000 pascales; 4,5-30 mm Hg) con una temperatura del baño de hasta 60°C;
- (iii) cromatografía significa cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice; la cromatografía de capa fina (TLC) se llevó a cabo sobre placas de gel de sílice;
- (iv) en general, el transcurso de las reacciones fue seguido por TLC y/o LC-MS analítica, y los tiempos de reacción se dan sólo para ilustración;

ES 2 300 977 T3

- (v) los productos finales tuvieron datos de espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) protónica y/o de masas satisfactorios;
- (vi) los rendimientos se dan sólo para ilustración, y no son necesariamente los que se pueden obtener mediante un desarrollo diligente del procedimiento; las preparaciones se repitieron si se requirió más material;
- (vii) cuando se dan, los datos de RMN están en forma de valores de delta para los protones de diagnóstico principales, dados en partes por millón (ppm) con relación a tetrametilsilano (TMS) como patrón interno, determinados a 300 MHz usando perdeuteriodimetilsulfóxido (DMSO-d₆) como disolvente, excepto que se indique de otro modo; se han usado las siguientes abreviaturas: s, singlete; d, doblete; t, triplete; q, cuartete; m, multiplete; b, ancho;
- (viii) los símbolos químicos tienen sus significados habituales; se usan las unidades y símbolos del SI;
- (ix) las relaciones de disolventes se dan en términos de volumen:volumen (v/v); y
- (x) los espectros de masas (MS) se llevaron a cabo con una energía electrónica de 70 electrón-voltios en el modo de ionización química (CI), usando una sonda de exposición directa; cuando se indica, la ionización se efectuó mediante impacto electrónico (EI), bombardeo con átomos rápidos (FAB) o electropulverización (ESP); se dan los valores para m/z; generalmente, sólo se dan los iones que indican la masa progenitora; y, excepto que se establezca de otro modo, el ion másico dado es (MH)⁺;
- (xi) excepto que se establezca de otro modo, no se han resuelto los compuestos que contienen un átomo de carbono y/o de azufre asimétricamente sustituido;
- (xii) cuando una síntesis se describe como análoga a aquella descrita en un ejemplo previo, las cantidades usadas son las relaciones equivalentes milimolares a las usadas en el ejemplo previo;
- (xvi) se han usado las siguientes abreviaturas:

AcOH	ácido acético
AIBN	2,2'-azobisisobutironitrilo
DCM	diclorometano
DIPEA	diisopropiletilamina
DMA	N,N-dimetilacetamida
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DMTMM	cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolin-4-io
dppf	1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno
EtOAc	acetato de etilo
HATU	hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
ⁱ PrMgCl	cloruro de isopropilmagnesio
LDA	diisopropilamiduro de litio
LHMDS	bis(trimetilsilil)amiduro de litio
m-CPBA	ácido meta-cloroperbenzoico
MeOH	metanol
MeCN	acetonitrilo
MCX	resina de intercambio catiónico mixta
MTBE	metil-terc-butiléter

ES 2 300 977 T3

LCMS	cromatografía de líquidos - espectrometría de masas
NMP	1-metil-2-pirrolidinona
5 PhTosMIC	isocianuro de α -tosilbencilo
POCl ₃	oxicloruro de fósforo
RPHPLC	cromatografía de líquidos de alto rendimiento de fase inversa
10 TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano

(xvii) cuando una síntesis se describe como que lleva a una sal de adición de ácidos (por ejemplo, la sal de HCl), no se hace comentario acerca de la estequiometría de esta sal. A menos que se indique lo contrario, todos los datos de RMN se dan en base al material de la base libre, convirtiéndose las sales aisladas a la forma de base libre antes de la caracterización.

Ejemplo 1

N-{3-[5-(4-Aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N'*-(3-fluorofenil)urea

Se añadió 6-[4-(3-aminofenil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-il]tolueno[2,3-*d*]pirimidin-4-amina (64 mg) en tetrahidrofurano anhidro (10 ml) a isocianato de 3-fluorofenilo (41 mg), y se agitó en una atmósfera inerte a la temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se diluyó con DCM (5 ml), y después se purificó mediante cromatografía sobre sílice, eluyendo con un gradiente de 0-50% de EtOAc/DCM, y después 0-20% de MeOH/DCM, para dar el compuesto del título como un sólido (71 mg, 77%); RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 3,65 (s, 3H), 6,83 (m, 1H), 7,15 (m, 2H), 7,25 (m, 1H), 7,35 (m, 2H), 7,48 (m, 1H), 7,68 (s, br 2H), 7,72 (s, 1H), 7,80 (m, 1H), 7,99 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,89 (s, 1H);

MS m/e MH⁺ 460.

Ejemplo 2

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N'*-(2-fluorofenil)urea

Se añadió 6-[4-(3-aminofenil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-il]tieno[2,3-*d*]pirimidin-4-amina (64 mg) en tetrahidrofurano anhidro (10 ml) a isocianato de 2-fluorofenilo (34 mg), y se agitó en una atmósfera inerte a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se diluyó con DCM (5 ml), y después se purificó mediante cromatografía sobre sílice, eluyendo con un gradiente de 0-50% EtOAc/DCM, y después 0-50% de MeOH (que contiene 1% de amoníaco acuoso concentrado)/DCM, para dar el compuesto del título como un sólido (76 mg, 82%).

RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 3,58 (s, 3H), 7,00 (m, 1H), 7,20 (m, 5H), 7,58 (s, br 2H), 7,68 (s, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,91 (s, 1H), 8,04 (m, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 9,00 (s, 1H);

MS m/e MH⁺ 460.

El material de partida se preparó según lo siguiente:

Intermedio 1

{(3-yodofenil)[(4-metilfenil)sulfonyl]metil}formamida

Se añadió cloruro de trimetilsililo (9,1 ml) a una disolución agitada de 3-yodobenzaldehído (15,1 g) y formamida (6,5 ml) en MeCN (34 ml) y tolueno (34 ml) en una atmósfera inerte. La reacción se calentó después a 50°C durante 5 horas. Se añadió ácido toluenosulfínico (15,3 g), y la mezcla de reacción se calentó a 50°C durante otras 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, se añadió metil-t-butiléter (55 ml) y se agitó durante 5 minutos. Se añadió agua (275 ml), la reacción se enfrió hasta 0°C y se agitó durante 1 hora. El sólido se filtró, y el matraz de reacción se lavó con MTBE (2 x 35 ml) y se vertió sobre la torta del filtro. El sólido se secó en un horno de vacío a 60°C durante 10 horas, para proporcionar el compuesto del título impuro como un sólido (14 g, 51%), que se usó sin purificación adicional. Una pequeña muestra se cristalizó en EtOH;

RMN ¹H (DMSO-d₆) para el rotámero principal (6:1) δ ; 2,43 (s, 3H), 6,42 (d, 1H), 7,15-8,00 (m, 9H), 9,73 (d, 1H).

MS m/e MH⁺ 416.

ES 2 300 977 T3

Intermedio 2

(3-yodofenil)(isociano)metil-4-metilfenilsulfona

Se añadió POCl₃ (3,05 ml) a una disolución agitada de {(3-yodofenil)[(4-metilfenil)sulfonyl]metil}formamida (6,23 g) en THF seco (35 ml) a 25°C, y se agitó durante 5 minutos. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C, y se añadió Et₃N (13,7 ml), gota a gota, durante 45 minutos, manteniendo la temperatura interna por debajo de 10°C. La mezcla de reacción se dejó agitar a 5-10°C durante otros 45 minutos. Se añadió EtOAc (140 ml) y agua (140 ml), y después se agitó durante 5 minutos. La fase orgánica se lavó con agua (2 x 140 ml), con NaHCO₃ (sat. ac., 140 ml) y después con salmuera (140 ml). La fase orgánica se concentró *a vacío* para proporcionar una goma de color marrón oscuro. Ésta se hizo pasar entonces a través de una almohadilla de sílice, lavándola con DCM, y se concentró *a vacío* para proporcionar una goma de color marrón oscuro (aprox. 70% puro 3,5 g, 58%);

RMN ¹H (CDCl₃) δ 2,42 (s, 3H), 5,45 (s, 1H), 7,00-7,75 (m, 8H);

MS m/e (M-H)⁻ 396.

Intermedio 3

4-(Metiltio)tieno[2,3-d]pirimidin-6-carbaldehído

Se añadió 4-(metiltio)tieno[2,3-d]pirimidina (J. Heterocycl. Chem. 1975, 12, 921 - 924) (1 g) en THF (5 ml) a una disolución previamente formada de LDA [BuLi (1,6 M en hexanos, 3,8 ml) y di-isopropilamina (0,85 ml)] en THF (20 ml) a -78°C. La mezcla de reacción se dejó agitar durante 1 hora a -78°C, y después se añadió DMF (1,1 ml). La mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 30 minutos, y después se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se agitó durante otras 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua, y el producto se extrajo con EtOAc (4 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (30 ml), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío*. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con DCM, proporcionó el compuesto del título como un sólido blanco (1,17 g, 51%);

RMN ¹H (CDCl₃) δ 2,76 (s, 3H), 8,03 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 10,10 (s, 1H);

MS m/e MH⁺ 211.

Intermedio 4

N-[4-(metiltio)tieno[2,3-d]pirimidin-6-ilmetiliden]metanamina

Se agitó 4-(metiltio)tieno[2,3-d]pirimidina-6-carbaldehído (13 g), metilamina (33% en EtOH, 20,6 ml) y MgSO₄ anhidro (20 g) en DCM (465 ml) durante 2 días a temperatura ambiente, en una atmósfera inerte. La mezcla de reacción se filtró y después se concentró *a vacío* para proporcionar el compuesto del título como un sólido marrón (13,8 g, 100%);

RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 2,70 (s, 3H), 3,45 (s, 3H), 7,82 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,89 (s, 1H).

Intermedio 5

6-[4-(3-yodofenil)-1-metil-1H-imidazol-5-il]-4-(metiltio)-tieno[2,3-d]pirimidina

Se agitó N-[4-(metiltio)tieno[2,3-d]pirimidin-6-ilmetiliden]metanamina (1,0 g), (3-yodofenil)(isociano)metil-4-metilfenilsulfona (3,4 g, 70% pura) y piperazina (0,77 g) en THF (80 ml) en una atmósfera inerte durante 4 días. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con agua, y se extrajo con EtOAc. El extracto se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró *a vacío*. La purificación mediante cromatografía sobre sílice, eluyendo con un gradiente de 0-100% de EtOAc/DCM, y después 0-5% de MeOH/DCM, seguido de cristalización en EtOH, dio el producto del título como un sólido (1,2 g, 57%).

RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 2,68 (s, 3H), 3,60 (s, 3H), 7,04 (t, 1H), 7,37 (d, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,94 (m, 2H), 8,89 (s, 1H);

MS m/e MH⁺ 465.

ES 2 300 977 T3

Intermedio 6

6-[4-(3-yodofenil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-il]-4-(metilsulfonyl)-tieno[2,3-*d*]pirimidina

Se añadió *m*-CPBA (70-75%, 399 mg) a una disolución de 6-[4-(3-yodofenil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-il]-4-(metiltio)-tieno[2,3-*d*]pirimidina (300 mg) en DCM (20 ml), y se agitó durante 24 horas. Se añadió metabisulfito de sodio acuoso, y la mezcla se extrajo con DCM. La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró *a vacío* para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (220 mg, 68%);

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 3,50 (s, 3H), 3,66 (s, 3H), 7,04 (t, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,59 (d, 1H), 8,00 (m, 3H), 9,34 (s, 1H);

MS m/e MH⁺ 497.

Intermedio 7

6-[4-(3-Yodofenil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-il]tieno[2,3-*d*]pirimidin-4-amina

Se agitó 6-[4-(3-yodofenil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-il]-4'-(metilsulfonyl)tieno[2,3-*d*]pirimidina (200 mg) y amoníaco acuoso concentrado (5 ml) en 1,4-dioxano (15 ml) durante 1,7 horas. El disolvente se evaporó, y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice, eluyendo con un gradiente de 0-50% de EtOAc/DCM, y después 0-20% de MeOH/DCM, para dar el compuesto del título como un sólido incoloro (136 mg, 78%);

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 3,58 (s, 3H), 7,06 (t, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,56 (d, 1H), 7,65 (m, 3H), 7,95 (m, 2H), 8,32 (s, 1H).

MS m/e MH⁺ 434.

Intermedio 8

6-(4-{3-[(Difenilmetilen)amino]fenil}-1-metil-1*H*-imidazol-5-il)tieno[2,3-*d*]pirimidin-4-amina

Se desgaseificó 6-[4-(3-yodofenil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-il]tieno[2,3-*d*]pirimidin-4-amina (860 mg), imina de la benzofenona (540 mg), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (120 mg), bis(bencilidenacetona)paladio (100 mg) y *tert*-butóxido de sodio (960 mg) en dioxano (40 ml), y después se calentó a 90°C en una atmósfera inerte. Después de 17 horas, la mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con agua (50 ml), se extrajo con EtOAc (2 x 30 ml), los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron, se filtraron y se concentraron *a vacío*. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice, eluyendo con DCM/MeOH (0-10%), dio el compuesto del título (0,48 g, 50%);

RMN ¹H (CDCl₃) δ 3,32 (s, 3H), 5,75 (bs, 2H), 6,40-6,45 (m, 1H), 6,85-6,94 (m, 4H), 6,83-7,15 (m, 5H), 7,28-7,32 (m, 2H), 7,35-7,40 (m, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,57-7,62 (m, 2H), 8,40 (s, 1H);

MS m/e MH⁺ 487.

Intermedio 9

6-[4-(3-Aminofenil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-il]tieno[2,3-*d*]pirimidin-4-amina

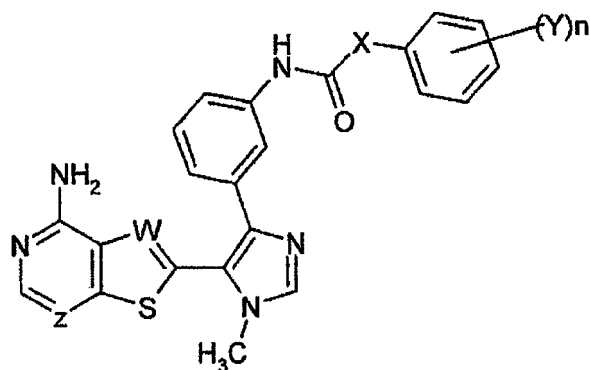
Se añadió HCl 2 M (0,75 ml) a una disolución de 6-(4-{3-[(difenilmetilen)amino]fenil}-1-metil-1*H*-imidazol-5-il)tieno[2,3-*d*]pirimidin-4-amina (0,45 g) en THF (15 ml), se agitó durante 10 minutos, y después se repartió entre agua y EtOAc. La capa acuosa se separó, se basificó hasta pH 9 con amoníaco acuoso concentrado, se extrajo con DCM (3 x 30 ml), los orgánicos combinados se secaron, se filtraron y se concentraron *a vacío* para dar el compuesto del título como un sólido incoloro (0,33 g, 100%);

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 3,54 (s, 3H), 4,96 (bs, 2H), 6,36-6,39 (m, 1H), 6,55-6,57 (m, 1H), 6,83-6,88 (m, 2H), 7,56 (bs, 2H), 7,59 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 8,28 (s, 1H);

MS m/e MH⁺ 323.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula I:



Formula I

en la que:

Z se selecciona de N y CH;

W se selecciona de N y CH;

X se selecciona de NH y CH₂;

Y se selecciona de F, Cl, Br y I; y

n es 1, 2 ó 3;

y sales o solvatos del mismo.

2. Un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1, en el que Z es N, y sales o solvatos del mismo.

3. Un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que Y se selecciona de F y/o Cl, y sales o solvatos del mismo.

4. Un compuesto de la fórmula I según la reivindicación 1, seleccionado de uno o más de los siguientes:

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N'*-(3-fluorofenil)urea;

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N*-(2-fluorofenil)urea;

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N'*-(3-clorofenil)urea;

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N*-(2-clorofenil)urea;

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(3-fluorofenil)acetamida;

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(2-fluorofenil)acetamida;

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(3-clorofenil)acetamida;

N-{3-[5-(4-aminotieno[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2'-(2-clorofenil)acetamida;

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N'*-(3-fluorofenil)urea;

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N*-(2-fluorofenil)urea;

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N*-(3-clorofenil)urea;

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-*N'*-(2-clorofenil)urea;

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(3-fluorofenil)acetamida;

N-(3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil)-2-(2-fluorofenil)acetamida;

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(3-clorofenil)acetamida;

N-{3-[5-(4-aminotiazolo[2,3-*d*]pirimidin-6-il)-1-metil-1*H*-imidazol-4-il]fenil}-2-(2-clorofenil)acetamida;

y sales o solvatos de los mismos.

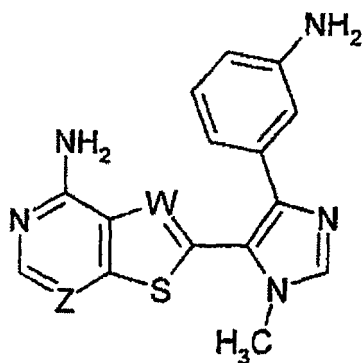
5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en asociación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

6. Un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para uso como un medicamento.

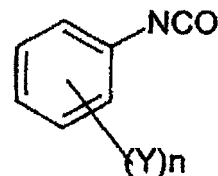
7. Uso de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la fabricación de un medicamento para uso como un inhibidor de tirosina quinasa receptora de Tie2 en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

8. Uso de un compuesto de la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la fabricación de un medicamento para uso en la producción de un efecto antiangiogénico en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

9. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que X es NH, y Z, W, Y y n son como se definen en la fórmula I, procedimiento el cual comprende hacer reaccionar una amina de la fórmula II con un isocianato de la fórmula III



Formula II



Formula III

y después, si es necesario:

i) convertir un compuesto de la fórmula (I) en otro compuesto de la fórmula (I);

ii) formar una sal o solvato.